Abstrakt

Udržování stability genomu a buněčné homeostázy je v lidském organismu zajišťováno mnohaúrovňovými a mnohačetnými enzymatickými ději. Buňky se musí každodenně vypořádat s řadou událostí, při kterých dochází k poškození DNA, s cílem přežití a udržení integrity genetické informace (DNA). Nahromaděné chyby ve struktuře DNA a zlomy DNA jsou opravované pomocí dynamického aparátu, jako je například dráha opravy nesprávně přiřazených nukleotidů (MMR).

V předkládané diplomové práci byla studována MMR dráha a její podíl na malignizaci epiteliální rakoviny vaječníků (EOC). Pracovní hypotéza byla, že exprese hlavních genů MMR dráhy, jako jsou *MLH1* a *MSH2*, je v rakovinných buňkách utlumena. Tyto buňky jsou pak neschopny opravit nahromaděné chyby v DNA, což vede buď k apoptóze nebo s vyšší pravděpodobností k jejich nekontrolovanému pomnožení. Dále byl podroben testování předpoklad, že výše zmiňované geny jsou utlumeny u pacientek trpících EOC rakovinou na transkripční, translační nebo epigenetické úrovni.

Cílem práce bylo objasnit a prozkoumat význam MMR dráhy na utlumení exprese mRNA, nestabilitě proteinů a hypermetylaci promotorů skupiny hlavních genů MMR dráhy, a to konkrétně u *MLH1*, *MSH2*, *PMS1*, *MLH3*, *MSH6*, *MSH3* a *PMS2*.

V rámci studie bylo analyzováno 63 vzorků EOC a 12 zdravých vaječníků pomocí metod RT-qPCR, MS-HRM a Western blotu. Výsledky ukazují na útlum exprese u všech sledovaných genů MMR dráhy vyjma *MSH2*, kde exprese byla zvýšena ve srovnání se zdravou tkání. Pokud vztáhneme sledované změny na klinická data a porovnáme stádium I a II se stádii III a IV, exprese *MLH1* a *PMS1* byla významně zvýšena u stádií III a IV, (MLH1 $p \leq 0{,}017$; PMS1 $p \leq 0{,}042$) a exprese *MSH2* ve stádiu I a II ($p \leq 0{,}033$). Vzájemný vztah mezi metylací promotoru a poklesem hladiny mRNA nebyl pozorován. U žádně zesledovaných

pacientek nebyla naměřena zvýšená metylace v promotorových oblastech MMR genů.

In vitro studie vyjevily významný nárůst G_2 zástavy buněčného cyklu u buněk s chybějícím *MLH1* po podání neocarzinostatinu, jež vede ke vzniku DNA poškození.

Obdržené výsledky souhrně naznačují, že regulace MMR dráhy u nádorů vaječníků může souviset s nestabilitou mikrosatelitů (MSI), regulací miRNA, nebo s jinými stresovými dráhami vnějšího a/nebo vnitřního původu.