

Abstrakt

Cytostatikum 5-fluorouracil (5-FU) se používá při léčbě řady nádorových onemocnění, zejména nádoru tlustého střeva a konečníku, pankreatu, prsu nebo vaječníků. 5-FU se v lidském organismu přeměňuje na aktivní metabolity, které poškozují cílové buňky a následně způsobují jejich apoptózu.

Hlavním cílem diplomové práce bylo stanovení hladin metylací v promotorových oblastech 14 kandidátních genů podílejících se na metabolismu 5-FU: *TK1*, *PPAT*, *RRM1*, *RRM2*, *UCK2*, *UCK1*, *UMPS*, *TYMP*, *UPP1*, *UPP2*, *SLC29A1*, *UPB1*, *DPYS* a *DPYD*. Předpokládáme, že metylace v promotorových oblastech reguluje mRNA transkripci uvedených genů. Byla provedena analýza uvedených parametrů u 128 pacientů, kterým byla odebrána nádorová tkáň společně s tkání nenádorovou. Práce zahrnuje izolaci DNA z nádorové i nenádorové tkáně, bisulfitickou přeměnu nemetylovaných cytosínů na uracily, metylačně specifickou analýzu křivek tání s vysokým rozlišením pro vlastní analýzu metylací a gelovou elektroforézu pro separaci PCR produktů.

U většiny studovaných genů, tj. *TK1*, *PPAT*, *RRM1*, *RRM2*, *UCK2*, *UCK1*, *UMPS*, *TYMP*, *UPP1*, *SLC29A1* a *DPYD* jsme nedetekovali žádnou metylaci promotorových oblastí. U studovaných genů *DPYS*, *UPB1* a *UPP2* jsme pak našli metylace v promotorových oblastech různých hodnot. Statisticky významný rozdíl mezi tumorem a přílehlou nenádorovou tkání ($P < 0,05$) byl však pozorován pouze u genů *UPB1* a *DPYS* v testovacím souboru a u genu *DPYS* ve validačním souboru I. Ve spolupráci se SZÚ se porovnávaly hladiny exprese vybraných genů, u kterých byla úroveň metylace vyšší než 0%, a bylo potvrzeno, že hypermetylace promotorových oblastí v genech zahrnutých do biotransformace 5-FU neměla vliv na úroveň jejich exprese.

Vedlejším cílem této studie bylo rámcové porovnávání stanovovaných parametrů uvedených genů ve vztahu k terapii 5-FU. Doba přežívání pacientů se významně nelišila mezi skupinami s hypometalcií a hypermetylací promotorových částí genů *DPYS*, *UPB1* a *UPP2*. Bylo však potvrzeno, že skupiny pacientů léčených 5-FU s hypometylovanými nebo hypermetylovanými promotory vykazují lepší prognózu oproti pacientům léčených jinými cytostatiky.

Klíčová slova: 5-fluorouracil, epigenetické mechanismy, DNA metylace, bisulfitická konverze, analýza křivek tání s vysokým rozlišením.