

Obsah

1 Úvod.....	6
1.1 Gliomy.....	6
1.1.1 Tradiční histopatologická klasifikace a grading gliomů.....	6
1.1.2 Molekulární taxonomie glioblastomů.....	8
1.1.3 Typické molekulárně-genetické aberace glioblastomů.....	9
1.1.4 Klíčové biologické procesy a signální dráhy v molekulární patologii gliomů.....	11
1.1.5 Možnosti molekulární diagnostiky u gliálních nádorů.....	11
1.2 MikroRNA.....	13
1.2.1 Kanonický model biogeneze a funkce mikroRNA.....	13
1.2.2 Studium expresních profilů mikroRNA u gliomů.....	16
1.2.3 MikroRNA ve vztahu k prognóze a predikci léčebné odpovědi u pacientů s glioblastomem.....	19
1.2.4 MikroRNA ovlivňují rezistenci glioblastomu.....	20
1.2.5 MikroRNA regulují důležité signální dráhy v patogenezi glioblastomu.....	21
2 Cíle projektu.....	24
3 Materiál a metody.....	25
3.1 Soubor pacientů.....	25
3.2 Použité buněčné linie a jejich kultivace.....	28
3.3 Izolace RNA bohaté na frakci krátkých RNA z FFPE tkáně.....	28
3.4 Izolace DNA z FFPE tkáně.....	29
3.5 Expresní profilování miRNA.....	29
3.6 qRT-PCR jednotlivých miRNA.....	30
3.7 Stanovení míry metylace promotoru genu pro MGMT pomocí metody bisulfitové konverze a HRM analýzy.....	31
3.8 Normalizace dat a statistická analýza.....	32
3.9 Transfekce.....	32
3.10 Radiace a temozolomid.....	32
3.11 MTT assay.....	33
3.12 Buněčný cyklus.....	33
3.13 Apoptóza.....	33
3.14 Western blot.....	34
4 Výsledky.....	36
4.1 Validace pilotních dat exprese vybraných miRNA a analýza promotoru pro MGMT gen.....	36
4.2 Globální expresní profilování miRNA u glioblastomu.....	44
4.3 Expresní analýza miRNA u primárně diagnostikovaných GBM a jejich párových recidiv a in vitro funkční validace vybraných miRNA.....	63
4.4 In silico predikce miRNA schopných posttranskripčně regulovat komponenty EGFR/TGFb/AKT signalizace spojené s chemoradiorezistencí u GBM.....	82
5 Diskuze.....	83
5.1 Validace pilotních dat exprese vybraných miRNA a analýza promotoru pro MGMT gen.....	83
5.2 Globální expresní profilování miRNA u glioblastomu.....	85
5.3 Expresní analýza miRNA u primárně diagnostikovaných GBM a jejich párových recidiv a in vitro funkční validace vybraných miRNA.....	88

6 Závěr	93
7 Použitá literatura	95
8 Formulace výsledků pro potřeby CEP	103
9 Ekonomická část zprávy	104
10 Seznam publikací souvisejících s řešeným projektem.....	106
Přílohy	108