



Oponentský posudek dizertační práce

## **Expres a prognostický význam mikroRNA u pacientek s časným karcinomem prsu**

Autor: **MUDr. Marek Sochor**

Studium: Univerzita Karlova, 1. Lékařská fakulta, obor: Biochemie a patobiochemie

Oponent: prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D., Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova univerzita, Brno

V rámci svojí dizertační práce se autor zabýval studiem vybraných kandidátních mikroRNA (miR-19a, miR-24, miR-155 a miR-181b) a souvislosti jejich sérových hladin s prognózou pacientek s karcinomem prsu a jejich vztahem k dalším nezávislým prognostickým faktorům. Konkrétně potom porovnával sérové hladiny studovaných mikroRNA s jejich tkáňovými hladinami a také jejich dynamiku a změny v různých fázích léčby. Pro jednotlivé mikroRNA ověřoval jejich prognostickou funkci a vytvořil rovněž lineární model umožňující predikovat relaps u časného karcinomu prsu.

Práce o rozsahu 141 stran je členěná standardním způsobem, psána bez překlepů, čtivě a koncizně, je doplněna úctyhodnými 395 literárními odkazy, vesměs recentními. Publikační aktivitu související s tématem dizertace představují 2 původní práce in extenso v časopisech s impakt faktorem, BMC cancer (IF=3,2, autor je prvním autorem) a International Journal of Molecular Sciences (IF=3,68, autor je třetím spoluautorem práce). Kromě toho je Dr. Sochor autorem přehledové práce na příbuzné t v recenzovaném časopise. Kvalitu publikačních výstupů hodnotím jako velice dobrou.

„Teoretický úvod“ o rozsahu 43 stran je přehledný, vystihuje podstatu dizertační práce, je logicky členěn na klinický úvod do problematiky karcinomu prsu včetně přehledné klasifikace dostupných ale i experimentálně testovaných prognostických biomarkerů. Následuje teoretický úvod do problematiky mikroRNA zahrnující jejich biologii, a to včetně cirkulujících mikroRNA, technologické aspekty jejich stanovení, a dále také výzvy a limitace výzkumu mikroRNA a jejich aplikace do klinické praxe. Klíčovou část teoretického úvodu představuje rozsáhlá kapitola shrnující současný stav poznání

**Masarykova univerzita, CEITEC - Středoevropský technologický institut**

Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Česká republika  
T: +420 549 492 911, E: info@ceitec.muni.cz, www.ceitec.muni.cz  
Bankovní spojení: KB Brno-město, ČÚ: 85636621/0100, IČ: 00216224, DIČ: CZ00216224

v oblasti mikroRNA u karcinomu prsu. Tato část práce je zaměřena především na roli mikroRNA v patogenezi karcinomu prsu. Vzhledem k tematickému zaměření dizertace bych očekával, že bude větší pozornost věnována problematice mikroRNA jako prognostických a prediktivních biomarkerů u karcinomu prsu (řádově stovky prací již byly publikovány v této oblasti) včetně přehledných tabulek shrnujících nejdůležitější z nich a především kritického zhodnocení současného stavu s ohledem na jejich možnou klinickou aplikaci. Obecně teoretický úvod umožňuje komplexní pohled na studovanou problematiku a bezproblémové pochopení následujících kapitol.

Na teoretický úvod navazují východiska, hypotéza a jasně definované cíle navazující na vlastní hypotézu.

Následuje část zaměřená na popis metodik zahrnující detailní klinicko-patologický popis pacientek a kontrol a jejich rozdělení do kohort pro účely statistického hodnocení, metodiku sběru a zpracování krve, extrakce a kvantifikace mikroRNA a jejich statistického hodnocení. Kapitoly umožňují bezproblémové opakování všech prováděných analýz včetně jejich vyhodnocení.

„Výsledky“ jsou uvedeny zcela konkrétně, doplněny velkým množstvím přehledných boxových a sloupcových grafů, tabulek a statistických hodnocení. Autor zde velice detailně popsal pozorování, která učinil v souladu s plánovanými cíli, které byly všechny naplněny.

V „Diskuzi“ jsou postupně interpretovány a kriticky hodnoceny výsledky jednotlivých cílů dizertace v souvislosti s nejnovějšími poznatky v dané oblasti. Diskuze je velice detailní (celkem 13 stran) a poskytuje čtenáři možnost dobře zařadit výsledky práce do kontextu současného stupně poznání. Je diskutován jak metodický přístup, tak konkrétní výsledky. Kromě originálních poznatků, autor také potvrdil některá dřívější a obecně akceptovaná pozorování, což svědčí pro správnost používaných metodických přístupů. Z formálního hlediska jsem nenalezl žádné závažné nedostatky.

### **Nové poznatky**

Autor dospěl k několika novým poznatkům rozšiřujícím poznání v dané oblasti:

- 1) sérové hladiny miR-19a, miR-24, miR-155 a miR-181b jsou signifikantně zvýšené u pacientek s časným stádiem karcinomu prsu oproti zdravým kontrolám,
- 2) sérové hladiny těchto mikroRNA pozitivně korelují s jejich hladinami v nádorové tkáni,
- 3) hladiny mikroRNA se odlišně normalizují v různých fázích léčby,
- 4) pacientky ve vysokém riziku relapsu měly iniciálně vyšší sérové hladiny studovaných mikroRNA a vykazovaly opožděný a méně hluboký pokles po protinádorové léčbě,
- 5) miR-24 a miR-155 jsou nezávislými prognostickými biomarkery rizika a společně s Ki-67 byly použity pro vytvoření modelu pro predikci rizika relapsu časného karcinomu prsu.

**Masarykova univerzita, Středoevropský technologický institut**

Kamenice 735/5, 625 00 Brno, Česká republika

T: +420 549 49 2911, 6639, E: [info@ceitec.muni.cz](mailto:info@ceitec.muni.cz), [www.ceitec.muni.cz](http://www.ceitec.muni.cz)

Bankovní spojení: KB Brno-město, ČÚ: 85636621/0100, IČ: 00216224, DIČ: CZ00216224

V odpovědi prosím uvádějte naše číslo jednací.



## **Význam pro společenskou praxi a další rozvoj vědy**

Výsledky práce byly publikovány v časopisech s IF – lze tedy očekávat citovanost. Práce přispívá k poznání v oblasti a stane se jistě cenným zdrojem informací pro výzkumníky v daném oboru. Studium mikroRNA jako biomarkerů zpřesňující klasifikaci solidních nádorů představuje velice progresivní a intenzivně studovanou oblast biomedicínského výzkumu.

## **Otázky do diskuze**

1) Pro účely Vaší práce jste zvolil studium onkogenních mikroRNA, miR-19a, miR-24, miR-155 a miR-181b. Tyto mikroRNA jsou zcela jistě zajímavými kandidátními mikroRNA s ohledem na cíle Vaší práce. Nicméně u karcinomu prsu byla popsána řada podobně i více významných onkogenních mikroRNA potenciálně využitelných jako prognostické biomarkery. Na základě jakých kritérií jste vybral právě tyto čtyři mikroRNA?

2) Hladiny cirkulujících mikroRNA jsou významně ovlivněny řadou pre-analytických faktorů. Krevní séra získaná od nenádorových dárců pocházejí ze stejného zdravotnického zařízení? Byly v případě pacientek i kontrol dodrženy identické protokoly odběru a zpracování krve?

3) Klíčovým faktorem umožňujícím kvantitativní analýzu cirkulujících mikroRNA, zvláště v případě jejich neměřitelné koncentrace RNA, je použití vhodného referenčního genu pro normalizaci. Pro účely Vaší studie jste použil let-7a, a uvádíte, že byla popsána jako vhodná endogenní kontrola na tkáňové úrovni. Jaké byly její hladiny (průměrné Ct hodnoty) u skupiny nemocných a kontrol?

4) V práci uvádíte, že plánujete validaci Vašich výsledků skrze zapojení dalších onkologických center v ČR. Jaký je aktuální stav této validační studie?

## **Závěr**

V závěru svého hodnocení konstatuji, že MUDr. Marek Sochor prokázal schopnost samostatné tvůrčí vědecké práce a jeho dizertační práce splňuje požadavky na ni kladené v daném oboru, má velmi dobrou úroveň po stránce obsahové i formální a předkládá nové originální vědecké poznatky v oblasti studia mikroRNA u karcinomu prsu. Dizertační práci MUDr. Marka Sochora proto bez výhrad doporučuji k obhajobě, a na základě úspěšné obhajoby, k udělení akademického titulu doktor ve zkratce Ph.D. za jménem dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Brně 30/11/2018

  
prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.

**Masarykova univerzita, Středoevropský technologický institut**

Kamenice 735/5, 625 00 Brno, Česká republika  
T: +420 549 49 2911, 6639, E: [info@ceitec.muni.cz](mailto:info@ceitec.muni.cz), [www.ceitec.muni.cz](http://www.ceitec.muni.cz)  
Bankovní spojení: KB Brno-město, ČÚ: 85636621/0100, IČ: 00216224, DIČ: CZ00216224  
V odpovědi prosím uvádějte naše číslo jednací.

