

**Abstrakt k posteru ze XVII. celostátní konference DNA diagnostiky**  
**Optimalizace postupů pro kvantifikaci prognostických a diagnostických miRNA**  
**u karcinomu pankreatu ze vzorků získaných metodou EUS-FNA**

**R. Čuperková**<sup>1</sup>, B. Belšánová<sup>1</sup>, L. Benešová<sup>1</sup>, B. Bunganič<sup>2</sup>, T. Dvořáková<sup>2</sup>, M. Zavoral<sup>2</sup>,  
M. Minárik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř molekulární genetiky a onkologie, Genomac výzkumný ústav, Praha

<sup>2</sup>Interní klinika, Ústřední vojenská nemocnice, Praha

Karcinom pankreatu (CP) je velmi závažné onemocnění s většinou infaustní prognózou (průměrné 5-leté přežití < 5%), vysokou mortalitou a zvyšující se incidencí v populaci. v současné době neexistuje žádný spolehlivý nástroj ani marker, který by s dostatečnou specifitou a citlivostí diagnostikoval toto onemocnění v jeho časných stádiích. Pacienti s CP v době diagnózy tak bývají často ve špatném zdravotním stavu a léčba nemívá výrazný účinek. Z těchto důvodů se klade stále větší důraz na nalezení vhodných molekulárních markerů, a to zejména pro zlepšení diagnózy a odhad prognózy. Jedním z takových markerů jsou mikroRNA, 21-23 nt dlouhé jednořetězcové nekódující RNA, potenciálně využitelné jak v diagnostice a ke stanovení prognózy, tak i ke sledování průběhu onemocnění, predikci odpovědi na léčbu nebo návrhu nových léčebných terapií. Vzhledem k tomu, že je jen málo pacientů indikováno k operaci, odběr vzorků pro následná vyšetření se provádí biopsií tenkou jehlou pod kontrolou endoskopické ultrasonografie (EUS-FNA) a to za účelem potvrzení CP nebo stanovení diagnózy chronická pankreatitida. Běžně jsou tyto vzorky zpracovávány pouze jako cytologické preparáty, ale složitější molekulárně-genetická vyšetření, jako je stanovení hladin miRNA, vyžadují větší množství tkáně. Odběr takového vzorku se v rutinní praxi neprovádí a vyžaduje kromě zručnosti a zkušenosti lékaře také volbu vhodné bioptické jehly a techniky odběru. Navíc úspěšnost molekulárních vyšetření pankreatické tkáně bývá nižší v porovnání s ostatními tkáněmi a tak správná volba postupu izolace nukleových kyselin (NK) a následných analýz včetně použitých kitů je klíčová.

Cílem této práce bylo zoptimalizovat celý postup od odběru vzorků, přes izolaci NK a syntézu cDNA až po analýzu mutací genu *KRAS* a hladin vybraných miRNA ze vzorků tkáně pankreatu získaných pomocí EUS-FNA za účelem nalezení prognostických a diagnostických miRNA. Výsledky molekulárně genetických analýz (výtěžky qPCR a PCR a zastoupení mutované DNA) u 65 vzorků nádorové či zánětlivé tkáně pankreatu byly korelovány s parametry odběru (typ jehly, technika, velikost vzorku, příměs krve, lokalizace a velikost nádoru) a způsobem extrakce NK a přípravou cDNA (různé komerční kity). Následně byl stanoven optimální postup a na podskupině deseti vzorků bylo provedeno stanovení hladin vybraných miRNA s potenciálně prognostickým a diagnostickým významem.