



UNIVERZITA KARLOVA

1. lékařská fakulta

Ústav BIOCEV

Průmyslová 595, 252 50 Vestec, Česká republika

Přednosta: Prof. Tomáš Stopka MD, Ph.D.

V rámci hodnocení disertační práce v doktorském studijním programu Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy Mgr. Andrey HRUŠTINCOVÉ jsem přečetl dílko o rozsahu 132 stran zahrnující abstrakt, úvod (32 stránek), cíle, metody (6 str.), výsledky (38 str.) a diskuse se závěry (11 str.). Práce shrnuje tři autorské publikace, z nichž v jednom je autorka 1. v pořadí (Cells, IF 2020-2021: 6.022) a zpracovala tento projekt zcela samostatně a na dalších dvou (Cancer Biomarkers IF 2020: 3.436, Neoplazma IF: 1.78) se podílela jako spoluautorka.

Výsledky jsou řazeny po publikacích, v první publikaci (Neoplazma) je představen projekt profilování mikroRNA pomocí mikrorejů, jež identifikoval desítky významných změn u ~2 stovek exprimovaných (z 2 tisíc) mikroRNA u 40 pacientů s MDS a 20 kontrol. MDS rozložení zahrnovalo dvě podobné skupiny pacientů nižšího (24) a vyššího (16) rizika pro transformaci do AML. Změny byly pozorovány jednak mezi MDS a normálními buňkami, jakož i mezi MDS pacienty s různým rizikem. Některé změny byly posuzovány/ověřeny i v plazmě pacientů. Některé miRNA, jež byly spíše exprimovány u LR-MDS predikovaly či souvisely s delší/m přežívání/m (miR-223-3p).

Ve druhé publikaci (Cells) se autorka zabývala vzorci exprese miRNA v plazmě a extracelulárních vesikul u 114 vzorků plazmy získaných z pacientů s MDS (31), MDS/AML (11) a 17 kontrol. Technologicky došlo k posunu z hybridizace na platformu NGS. Vedle miRNA byly detekovány další malé nekodující RNA. Práce zahrnovala také validační kohortu MDS (36), MDS/AML (7) a kontrol (12). Vyzkum vesikul byl proveden pomocí technologie NTA (nanoparticle tracking analysis). Trend větších vesikul byl zjištěn u HR-MDS, i když rozptýl byl vcelku velký. Obsah RNA, leč různorodý, vcelku odlišil vesikuly od vzorku plazmy. Zajímavá zjištění byla pozorována pro miR-223-3p, miR-21-3p, miR-34a-5p aj. Validace ukázala konkordanci výsledků. Diferenciální exprese miRNA vedla k odhalení potenciálně deregulovaných signálních drah, mj. TGF β . Některé vzorce miRNA asociovaly s výskytem variant, mj. v *DNMT3A* a *SF3B1*. Asociace exprese vybraných miRNA s přežíváním ukázala svoji využitelnost pro predikci přežívání pomocí modelu a to jednak z dat z plazmy tak i z vesikul. Některé mikroRNA (miR-423-5p, miR-126-3p, miR-151a-3p, miR-125a-5p a miR-199a-3p) asociovaly s odpovědí na hypometylační lék 5-azacytidin.

Třetí publikace (Cancer Biomarkers) se zabývala predikcemi odpovědi na 5-azacytidin u 19 HR-MDS a 8 MDS/AML pacientů. Byly analyzovány vzorky před a během terapie AZA s využitím mikrorejů. Konkrétně miR-17-3p, miR-100-5p a miR-133b se lišily mezi pacienty s a bez odpovědi na AZA.

Vzhledem k tomu, že publikace procházely peer-review mi zcela nepřísluší jejich hlubší kritika, snad bych jen vytkl celkové spíše observační ladění článků a určité zjednodušení problematiky do úrovně expresních vzorců bez toho, aby došlo k určité hlubší syntéze vedoucí k identifikaci konkrétních drah, jež by pomohly upřesnit, jak konkrétně jsou mikroRNA zapojeny v patogenezi a terapeutické rezistenci u MDS. Dále mohla být data obsírněji diskutována s řadou prací, které se tímto tématem zabývaly v minulosti, mj. bych více diskutoval konkrétní pionýrskou práci s českou stopou (Ref 195): Identification of a risk dependent microRNA expression signature in myelodysplastic syndromes. Sokol L, Caceres G, Volinia S, Alder H, Nuovo GJ, Liu CG, McGraw K, Clark JA, Sigua CA, Chen DT, Moscinski L, Croce CM, List AF. Br J Haematol. 2011. Na druhé straně jsou články zpracovány vcelku moderně s využitím kvalitních statistických přístupů.

Na základě předložené práce konstatuji, že uchazečka Mgr. Hruštinová prokázala schopnosti vědecké analýzy a interpretace a i vzhledem k publikování své práce v časopisech s IF doporučuji tuto dizertaci k obhajobě, po níž by na základě rozhodnutí odborné komise měl být jí udělen titul PhD.

Otázky k obhajobě mám dvě: a) jak konkrétně se data publikována v dizertaci nyní promítají do klinické práce u MDS pacientů a zda tento výzkum dále navazuje nějakým dalším výzkumem, b) jakým konkrétním mechanismem se vzorce mikroRNA mění během progresu do MDS a jakou v tomto hraje roli genová či chromozomová mutace ale též jejich značná heterogenita u MDS.

Prof. MUDr. Tomáš Stopka PhD.



www:
biocev.lf1.cuni.cz

E-mail:
biocev@lf1.cuni.cz

Tel:
0420 325 873 031