

Oponentský posudek disertační práce doktorského studijního programu Doktorské studium biomedicíny

Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta

Jméno autora: Ing. Klára Prajzlerová

Název disertační práce: Využití cirkulujících miRNA jako biomarkerů v diagnostice a terapii revmatických onemocnění (Circulating miRNAs as biomarkers in the diagnosis and treatment of rheumatic diseases)

Tématem disertační práce je analýza exprese mikroRNA (miRNA) jako potenciálních biomarkerů stadia a aktivity u spondyloartritidy (SpA) a revmatoidní artritidy (RA) a možnost využití stanovených miRNA v predikci terapeutické odpovědi u těchto chorob.

Předložená disertační práce má rozsah 76 stran a je rozčleněna do 9 kapitol. V Úvodu autorka ve 3 podkapitolách podává rozsáhlý teoretický přehled současných znalostí na téma miRNA, dále se zabývá patogenezi dvou vybraných zánětlivých revmatických onemocnění, jichž se týká předkládaná práce a prezentuje aktuální evidence o roli cirkulujících miRNA u jednotlivých revmatických chorob. Následně jsou představeny Hypotézy a cíle práce, popsána Metodika a výsledky jednotlivých prací a Diskuze k danému tématu. Následuje Závěr, Seznam použitých zkratk, Použitá literatura čítající 232 zahraničních zdrojů a Seznam publikací autora. V poslední kapitole jsou přiloženy 4 publikace in extenso zařazené do disertační práce, které autorka publikovala jako hlavní autor či spoluautor v zahraničních impaktovaných odborných periodikách s faktorem impaktu IF v rozsahu 1,88 – 4,379, autor je uveden jako první autor ve třech z nich. Kapitolám předchází Prohlášení, Identifikační záznam, Poděkování, Abstrakta s klíčovými slovy v českém a anglickém jazyce a Obsah. Úvodní kapitola obsahuje 2 obrázky dokumentující biogenezi miRNA a přehled již popsaných cirkulujících miRNA se vztahem revmatickým chorobám. V kapitole Metodika a výsledky jsou pak jednotlivé práce doplněny četnými grafy s výsledky provedených hodnocení.

Zvolené téma je rozděleno do dvou částí dle studovaného onemocnění. V první části autorka předkládá výsledky práce hodnotící asociaci vytipovaných cirkulujících miRNA s tíží postižení osového skeletu u axSpA, včetně neradiografické formy onemocnění a prokazuje asociaci některých miRNA s aktivitou onemocnění. Další práce zkoumá změny sérových hladin cirkulující miRNA (konkrétně miR-145) v souvislosti s terapií inhibitory tumor nekrotizujícího faktoru α (TNFi) u pacientů s ankylozující spondylitidou a jejich význam v predikce další terapeutické odpovědi. Oproti zdravým kontrolám u pacientů s axSpA výsledky prokazují nižší hladiny 14ti cirkulujících miRNA jež mají asociaci se zánětlivým procesem a osteoblastogenezi, tedy procesy involvovanými do patogeneze axSpA. U několika těchto miRNA byla evidentní asociace poklesu hladin s nárůstem strukturálního poškození páteře. U jediné miRNA (MiR-625-3p) pak byla nižší exprese asociována i s neradiografickou formou onemocnění, což autoři vysvětlují možným vlivem miR-625-3p na zvýšení migrace a proliferace imunitních zánětlivých buněk v patogenezi již časných fází axSpA. U některých

miRNA byla evidentní i spojitost exprese s aktivitou onemocnění. Problematika hodnocení aktivity SpA je dána chyběním specifických markerů, kdy v současné době je v běžné klinické praxi používán jako nespecifický laboratorní marker aktivity nemoci pouze C reaktivní protein a sedimentace erytrocytů. Hledání dalších použitelných markerů aktivity SpA je tak jistě přínosné. Taktéž otázka hodnocení efektu biologické terapie TNFi v časně fázi léčby a predikce další terapeutické odpovědi je z pohledu klinické praxe žádoucí a nabývá zejména v současné době rozšiřujících se terapeutických možností na významu. Možnost časně predikovat efekt zvoleného biologika má konsekvence nejen z pohledu vývoje a progresu vlastního onemocnění, ale i důsledky ekonomické.

Druhá část práce je věnována možnosti využití hodnocení cirkulující i buněčné miRNA u revmatoidní artritidy. V první z dvou prací byla hladina miR-125b u pacientů s časnou RA nižší ve srovnání se zdravými kontrolami a po zahájení terapie konvenčními chorobu modifikujícími léky došlo k nárůstu hladin, přičemž po stratifikaci souboru dle terapeutické odpovědi byl evidentní nárůst hladin buněčné miR-125b jen u pacientů s dobrou terapeutickou odpovědí. Autoři tedy hypotetizují použití buněčné miR-125b jako biomarkeru predikujícího terapeutickou odpověď u časně RA.

Druhá z prací týkající se revmatoidní artritidy je zaměřena na preklinickou fázi onemocnění. Hodnoceným souborem byli pacienti s pozitivitou protilátek proti citrulinovaným proteinům a artralgiemi, tedy skupina subjektů s rizikem rozvoje RA. Při prokázané dysregulaci miR-451 v mononukleárních buňkách periferní krve u těchto pacientů byla hodnocena exprese chemokinu CXCL16, který je touto miRNA přímo regulován, a jehož role v patofyziologii RA je již známá. Zvýšená exprese miR-451 v periferních buňkách u pacientů s rizikem rozvoje RA snižovala proteinovou expresi CXCL16, což dle autorů může být jedním z regulačních mechanismů bránícím rozvoji artritidy.

Předkládané práce se týkají velmi aktuálních témat a přinášejí některé nové, dosud nepublikované vědecké poznatky, které mohou být přínosné i v klinické praxi a zcela jistě jsou podkladem pro další výzkumnou práci.

Zvolená metodika je adekvátní, co lze připomínkovat, jsou malé velikosti souborů pacientů, čehož si však je autorka vědoma a komentuje nutnost validace předkládaných výsledků na rozsáhlejších souborech.

Statistické zpracování je přehledné a srozumitelné, použité metody jsou adekvátní typu zpracovávaných dat.

Diskuze je věcná, rozebírá po jednotlivých kapitolách výsledky vlastních prací a srovnává je s poznatky dalších autorů.

Po pravopisné stránce je text v pořádku, zaznamenala jsem jen několik drobných stylistických chyb.

Na autorku mám tyto doplňující otázky:

- 1) Byla vazba poklesu konkrétních miRNA s tíží strukturálního postižení u axSpA nějakým způsobem asociována se zvýšenými hladinami konkrétních cytokinů podílejících se na patogenezi axSpA (TNF α , IL-17, IL-23)?
- 2) V souvislosti s rozdíly výskytu nr-axSpA a AS mezi pohlavími jsou známy odlišnosti v expresi miRNA u žen a mužů s SpA?
- 3) Je známa asociace miR-145 s mírou osteoporózy u axSpA?

Závěrem lze konstatovat, že disertační práce Ing. Kláry Prajzlerové zcela splnila požadavky standardně kladené na disertační práci v daném oboru a prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem, proto ji doporučuji k obhajobě podle §47 VŠ zákona 111/98 Sb.

V Brně, 12.11.2021

MUDr. Leona Procházková, Ph.D.
II. interní klinika
FN u sv. Anny v Brně a LF MU Brno
Pekařská 53
65691 Brno