

## ABSTRAKT

Duktální adenokarcinom (PDAC) je nejčastějším primárním nádorem pankreatu. Jeho nepříznivá prognóza je dána mimo jiné i tím, že je často diagnostikován až v inoperabilním pozdním stadiu a navíc vykazuje vysokou chemorezistenci. Pro možnost časnější diagnózy PDAC a tím zlepšení prognózy nemocných jsou hledány nové biomarkery, mezi které patří mimo jiné i microRNA (miRNA), krátké nekódující RNA molekuly, zapojené do post-transkripční regulace genové exprese.

Na rozdíl od jiných RNA jsou molekuly miRNA v biologických vzorcích stabilní. Jejich expresi je možné stanovit prostřednictvím více analytických metod, například kvantitativní real-time PCR (RT-qPCR). Pro normalizaci metod používaných pro zjištění hladiny miRNA je nutné použít vhodné endogenní kontroly. Variabilní exprese endogenních kontrol však může znamenat určitou nejistotu při kvantifikaci exprese miRNA. Cílem první práce byly analýza exprese šesti miRNA, izolovaných z parafínových bloků (FFPE) biopticky vyšetřených PDAC a určení optimální vnitřní kontroly. Při normalizaci výsledků RT-qPCR byly hodnoceny čtyři interní kontroly: arteficiální spike miR-39 od *C. elegans*, U6 snRNA, miR-16 a snoRNA U91. Hodnoty exprese všech sledovaných miRNA byly v nádorech signifikantně odlišné v závislosti na zvolené vnitřní kontrole. Mimo to vykazovala stabilita použitých vnitřních kontrol u jednotlivých nádorů signifikantní rozdíly. Jako nejstabilnější endogenní kontrola, kterou lze doporučit pro endogenní normalizaci exprese miRNA v tkáních PDAC pro normalizaci, se pomocí algoritmu NormFinder ukázala U91.

Možnost použití miRNA jako diagnostického nebo prognostického markeru maligních nádorů byla předmětem více publikací. Cílem druhé práce bylo stanovení exprese sedmi vybraných miRNA, izolovaných z formalinem fixovaných parafínových bloků (FFPE) od 54 pacientů s PDAC. Následně byl hodnocen vztah exprese těchto miRNA k histologickému uspořádání a pokročilosti nádoru, celkové délce přežití nemocných (OS) a délce přežití do progresu nemoci (PFS). Ve vyšetřených nádorech byla zjištěna zvýšená exprese miR-21, miR-155 a miR-210, v porovnání s nenádorovou tkání pankreatu. Naopak hladiny miR-96 a miR-217 byly u PDAC signifikantně sniženy. Patrná byla pozitivní korelace hladin miR-210 s věkem pacientů ( $\rho=0.35$ ). Exprese všech sledovaných miRNA nevykazovala korelaci se sledovanými parametry nádoru – stupněm diferenciací, rozsahu lokální progresu, ani s metastatickým postižením lymfatických uzlin, perineurální invazí, vaskulární invazí a délkou přežití pacientů. Zvýšené hladiny miR-148a a miR-217 vykazovaly signifikantní korelaci s tubulárním

uspořádáním nádoru; snížená exprese miR-148a souvisela s disociativním uspořádáním nádoru. Zvýšená exprese miR-155 měla vztah k vyšší mitotické aktivitě nádorových buněk.

V předložené práci je demonstrován význam správné volby vnitřní kontroly pro normalizaci výsledků RT-qPCR při stanovení exprese miRNA. Byla potvrzena odlišná exprese miRNA v PDAC v porovnání s nenádorovou tkání pankreatu. Byla prokázána signifikantní asociace histologického uspořádání nádoru a mitotické aktivity s expresí některých miRNA. Korelace mezi úrovní exprese sledovaných miRNA, progresí nádoru a délkou přežití nemocných nebyla prokázána.