

Posudek oponenta disertační práce

Název disertační práce: Úloha mikroRNA v progresi kardiovaskulárních chorob

Student: PharmDr. Václava Černá

Oponent: doc. MUDr. Magdaléna Chottová Dvořáková, Ph.D.

Pracoviště oponenta: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav fyziologie

Předložená disertační práce se zaměřuje především na studium možností využití stanovení různých mikroRNA (miRNA) v humánní medicíně pro diagnostické a prognostické účely. V teoretickém úvodu autorka stručně a přehledně shrnula základní informace o jednotlivých kardiovaskulárních onemocněních zahrnutých do experimentálních prací, a to zejména prevalenci a incidenci těchto onemocnění v populaci, z čehož vyplývá i praktický význam objevení nových biomarkerů těchto onemocnění. Dále jsou v úvodu uvedeny základní informace o nukleových kyselinách včetně jejich typů a podrobnějšího popisu miRNA.

Cíle práce jsou jasně definované, směřují k identifikaci konkrétních miRNA, které by bylo možné využít jako diagnostické či prognostické biomarkery patologických stavů, a to konkrétně při diagnóze syndromu obstrukční spánkové apnoe, při stanovení prognózy u pacientů po akutním infarktu myokardu, u pacientů v chronickém stádiu po prodělané kardiovaskulární příhodě a dále u pacientů s abdominálním aneurysmatem aorty.

Použité experimentální přístupy odpovídají cílům práce. MiRNA lze stanovovat prostřednictvím metod založených na polymerázové řetězové reakci nebo za pomoci čipů (mikroarray). Oba tyto metodické přístupy byly v práci teoreticky popsány a prakticky využity.

Výsledky experimentů směřujících ke splnění jednotlivých cílů byly opublikovány ve čtyřech článcích v časopisech s impakt faktorem, kdy v jedné z nich je PharmDr. Václava Černá první autorkou. Tyto publikace tvoří přílohu I předložené disertační práce. Výsledky spolu s diskuzí tvoří jednu kapitolu disertační práce.

Předložená práce má celkem 100 stran textu zahrnující teoretický úvod, cíle práce, popis metodických přístupů použitých při řešení, výsledky a diskuzi. Dále jsou zařazeny dvě přílohy obsahující jednak články publikující výsledky, jež jsou součástí předložené práce, a v příloze II další články autorky publikované v časopisech s impakt faktorem (celkem 5). Z publikovaných článků vyplývá, že se podařilo naplnit cíle práce: byla identifikována miR-499 jako potenciální prognostický marker ke stanovení kardiovaskulárního rizika u pacientů po akutním infarktu myokardu; dále bylo zjištěno, že miR-19 by mohla sloužit jako nezávislý prediktor rizika úmrtí u pacientů s chronickým kardiovaskulárním onemocněním; markerem pro stanovení diagnózy syndromu obstrukční spánkové apnoe by mohla být

miR-499; výsledkem analýzy exprese panelu miRNA ve tkáních aneurysmatu aorty a zdravé aorty byly zjištěny signifikantní rozdíly v expresi několika miRNA.

Přípomínky

V teoretickém úvodu chybí vysvětlení nomenklatury používané pro označení jednotlivých miRNA, která je pak použita např. v tabulkách 5 či 7. V práci týkající se studia exprese miRNA ve stěně aneurysmatu aorty byla použita mikroarray. Stanovení exprese miRNA prostřednictvím této metody však má určitá úskalí, která zde nejsou zmíněna. Tyto informace by mohly/měly být součástí popisu metodiky, ale především by měly být zmíněny v diskuzi v souvislosti se získanými výsledky.

Otázky

1. Z jakého důvodu jste používali pro izolaci miRNA ze vzorku plazmu a ne sérum?
2. Stanovovali jste expresi 2549 miRNA ve tkáni z aortálního aneurysma a kontrolní tkáni za použití čipů. V souvislosti s analýzou exprese miRNA prostřednictvím čipů je známo, že sensitivita a specifická tohoto stanovení má své limity. V takovém případě by bylo dobré získané výsledky potvrdit pomocí kvantitativní PCR. Máte to v plánu?
3. Existují studie zabývající se stanovením korelace mezi úrovní exprese konkrétní miRNA ve zdrojové tkáni (např. v srdci) a koncentrací této miRNA v krvi?
4. Jak velké je riziko, že u polymorbidního pacienta získáme falešný prediktivní výsledek vývoje jeho kardiovaskulárního onemocnění z důvodu produkce konkrétní miRNA i jinou než kardiovaskulární tkání?

Závěr

Předložená práce obsahuje jasně stanovené cíle, které byly naplněny. Tato práce je přehledně členěná a vytváří homogenní celek. Výstupem provedených experimentů jsou nové informace v medicínsky důležité oblasti. PharmDr. Václava Černá prokázala schopnost samostatně vědecky pracovat, tedy získávat data a ty následně vyhodnotit a opublikovat. Práce splnila požadavky kladené na disertační práci a doporučuji ji tedy k obhajobě k získání akademického titulu Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Plzni dne 27. května 2022

Doc. MUDr. Magdaléna Chottová Dvořáková, Ph.D.
