

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Roman Šolc
	Datum: 1.6.2019
Autor: Katrín Oroszová	
Název práce: Vyšetrenie chromozómových aberácií v mozaike roznymi metódami	
Cíle práce Cituji dle práce: „1) Zistiť detekčný limit pre záchyt mozaiky metódami ako sú FISH, array CGH. Výsledky budú navzájom medzi sebou porovnávané 2) Zistiť faktory, ktoré ovplyvňujú možnosť záchytu mozaiky 3) Optimalizácia metód na detekciu mozaicizmu a výber najvhodnejšej metódy pre záchyt mozaiky 4) Stanovenie vplyvu voľby referenčnej vzorky na detekčnú schopnosť metódy array CGH v prípade mozaik aneuploidie gonozómov“	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 117 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO, s výhradou Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO, s výhradou Autorka se v rámci literárnímu přehledu často zaobírá otázkou bodových polymorfismů a mozaicismem v jejich perspektivě – ne že by to k tématu nepatřilo, ale domnívám se, že je to na úkor perspektivy chromosomových aberací, které přitom mají představovat hlavní zájem autorky. V seznamu použité literatury jsou velmi drobné nejednotnosti.	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? 3 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO Na rozdíl od metod považuji za velmi problematické zpracování „materiálu“. Autorka píše o 45 pacientech s mozaicismem indikovaným k vyšetření na ÚBLG. Vymezení je ovšem (s ohledem na to, jaké činí autorka ve své práci závěry) problematické, neboť neuvádí, zda jde o všechny indikované pacienty, nebo jen o ty, u nichž byla mozaika zachycena, přičemž pacienti bez mozaiky (či s neodhalenou mozaikou) jsou vyřazeni. Dále se nabízí otázka, pakliže na těchto pacientech jsou testovány různé metody, jejichž validita má být hodnocena, zda je zde jakýsi „standard“, tedy spolehlivý údaj o tom, jak to s mozaicismem pacientů	

objektivně je, vůči čemuž by pak výsledky autorčiných šetření mohly být vztahovány. Z tohoto pohledu by se jako vhodnější mohly jevit arteficiální mozaiky, které autorka též používá, ovšem pojímá je spíše jen jako okrajovou část práce.

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? NE

Zde považuji za největší problémy, že jsou data „děravá“, získaná bez sjednocených podmínek a vyhodnocovaná bez statistického aparátu jen tak „od oka“.

- 1) Autorka chce porovnávat výsledky tří metod (karyotypizace, FISH, aCGH), přičemž ovšem zdaleka u všech pacientů nebyla provedena vyšetření všemi třemi metodami. U devíti pacientů porovnáva rozdíly výsledků analýz mezi třemi tkáněmi, přičemž ovšem ani od jednoho pacienta nemá vzorek ze všech tří tkání.
- 2) Získané údaje o mozaicismu pocházejí z obtížně srovnatelných vzorků různých pacientů – např. při karyotypizaci bylo použito různé množství mitóz (od 20 do 150). Při analýzách metodou FISH bylo použito od 101 do 1242 buněk. Dokonce ani u arteficiálních vzorků nebylo toto sjednoceno (karyotypizace na 21, resp. 25 buněk; pro FISH údaj chybí). To samo ještě nemusí být problém, problém je, že autorka tuto skutečnost nijak neřeší (viz dále).
- 3) Značná část autorčiny interpretace výsledků vychází z porovnání toho, zda byly u jednotlivých pacientů různými metodami zachyceny stejné linie buněk, resp. zda byly zachyceny ve stejném poměru. Ovšem to, zda se výsledek „shoduje“, či „liší“, autorka určuje zcela „od oka“, neprovádí ani statistické výpočty pro zjištění signifikance rozdílu, resp. míru chyby (viz výše počty hodnocených buněk – pokud se dva vzorky liší o 10 %, může to znamenat něco zcela jiného, pokud se jedná o vzorek dvaceti buněk, anebo dvou set buněk), ani neuvádí žádné arbitrární pravidlo (např. odvozené z literatury), jež uplatňuje. Autorka zkrátka napíše např. str.73: „V případě mozaiky gonozómů sa zistil približne rovnaký percentuálny záchyt mozaiky u 14 z 23 (60 %) pacientov.“, resp. str.74: Pri hodnotení mozaicismu autozómů bola zachytená mozaika v osmich z 12 (66 %) prípadov približne s rovnakým percentuálnym zastúpením medzi výsledami karyotypu a metódy FISH.“ Toto výrazně znejistňuje všechny její vývody činěné v diskusi a závěru práce.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? viz níže

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO, ale v dosti omezené míře

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO, s výhradou

Autorka v rámci diskuse popisuje jednotlivá vyšetření a dosti obsáhle je rozebírá a diskutuje, avšak spíše jako sbírku kazuistik, nežli že by se pouštěla do obecnější diskuse. Řada jejích vývodů ovšem, jak se domnívám, je velmi polemických vzhledem k výše uvedeným metodologickým nedostatkům. Autorka se dopouští i tvrzení, která jsou i jinak problematická – např. že prahovou hodnotou, jakou frakci odlišných buněk je schopna spolehlivě zachytit metoda FISH, jsou 2 %, což vyvozuje z pouhého naměření této hodnoty u jednoho pacienta. Toto by však bylo možné hodnotit u arteficiálních vzorků, kde je zastoupení známé, a tudíž lze výstup metody ověřit. U pacienta, pokud není znám objektivně údaj o jeho mozaicismu, se může jednat o podhodnocený i o nadhodnocený výsledek.

Ohledně postoje k dalšímu řešení problematiky, pacientka činí závěry a doporučení, ovšem

často formou, která by spíše příslušela internímu pracovnímu materiálu pracoviště, nežli vědeckému textu.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? odpovídají práci, včetně výše popsaných výhrad

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Obrázky a tabulky jsou příhodně zvolené. Grafická úroveň práce je nadstandardně dobrá, s výraznou výhradou k tabulkám, které jsou často (ač poměrně malé) rozdělené na dvě stránky. Jazyková úroveň práce je dobrá, ovšem po pravopisné a stylistické stránce si slovenštinu příliš netroufám posuzovat. Výhradu mám pouze k abstraktu v češtině a k používání některých odborných pojmů. Abstrakt v češtině (na rozdíl od anglického) je nejhůře napsanou částí práce a kvalitativně kontrastuje se zbytkem textu – trochu působí jako otrocký překlad anglického abstraktu, po čemž ovšem zůstávají podivná spojení jako „selhání chromozomů během mitózy“ („chromosome malsegregation during mitosis“). Velmi velkou výhradu, hraničící s pochybnostmi o rozumění pojmům, mám vůči autorčinu používání pojmu „karyotyp“, neboť jej zcela běžně v celé práci používá také namísto pojmů „karyotipizace“, či „analýza karyotypu“, jako kdyby „karyotyp“ byl název metody. V souvislosti s metodou FISH takto zachází i s pojmy „jádro“ a „mitóza“ (např. str.86: „...jadrá sa viac zhodovali s karyotypom oproti mitozam.“; „...karyotyp túto bunkovú liniu nezachytil.“; „...karyotyp zachytil (...) trizomiu X a FISH ju nezachytila.“)

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Domnívám se, že práce trpí řadou závažných nedostatků, zejména absencí koncepčního vyrovnání se s problematickou povahou získaných dat. Pakliže se autorka nevyrovná s výše uvedenými námitkami přijatelným způsobem při obhajobě práce, doporučuji komisi, aby jí byla práce vrácena k dopracování s doporučením, aby byla doplněna a zohledněna chybějící data, a pokud již (např. z technických důvodů) není možné chybějící analýzy provést, aby byla tato skutečnost náležitě vzata v potaz při interpretaci a činění závěrů.

Otázky a připomínky oponenta:

- 1) Autorka v teoretické části opakovaně zdůraňuje a vyzdvihuje, že v principu při každé bodové somatické mutaci dochází v organismu ke vzniku mozaicismu. Jaké by, dle jejího názoru, takovéto pojetí mozaicismu mělo teoretické a praktické důsledky? Jak by se vyrovnala s argumentem, že takovéto pojetí by vedlo k funkčnímu vyprázdnění pojmu „mozaicismus“?
- 2) Proč autorka nepostavila svou práci „obráceně“, nezačala validací a porovnáváním různých metod na arteficiálních mozaikách, kde by měla definovanou skladbu buněčných linií, a teprve s takto získanými znalostmi nepřistoupila k vyšetření pacientů?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

