

Posudek na diplomovou práci Bc. Martiny Benešové

**KVANTIFIKACE EXTRACELULÁRNÍCH NUKLEOVÝCH KYSELIN V MATEŘSKÉ CÍRKULACI U
PLACENTÁRNÍCH DYSFUNKCÍ**

Katedra antropologie a genetiky člověka, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze
Vedoucí práce: Doc. RNDr. Ilona Hromadníková, Ph.D.

Předkládaná práce, jež byla vypracována v Laboratoři molekulární biologie a patologie buňky při Gynekologicko-porodnické klinice 3. LF UK, studuje možnosti a moderní trendy prenatalní diagnostiky s důrazem na neinvazivní metody. Vzhledem k definovaným rizikům invazivních přístupů probíhá na poli neinvazivní prenatalní diagnostiky intenzivní pátrání po markerech, které by umožnily s vysokou citlivostí specificky kvantifikovat fetální i celkové extracelulární nukleové kyseliny (DNA i RNA) v periferní krvi matky.

Práce o rozsahu 90 stran je členěna do 8 hlavních kapitol včetně seznamu v textu použitých zkratk a citovaných literárních pramenů. Je zde prezentováno 11 obrázků (včetně grafů) a 8 tabulek.

V *Úvodu* autorka stručně shrnuje problematiku současné prenatalní diagnostiky a vyzdvihuje nutnost zdokonalování neinvazivních přístupů, hledání nových metod a jejich zavedení do běžné klinické praxe. Dále v rámci *Úvodu* autorka shrnuje hlavní cíle své práce:

- Studium interindividuální variability počtu kopií DYS-14 sekvence u zdravých mužů
- Kvantifikace extracelulární fetální a celkové DNA v plasmě gravidních žen
- Studium interindividuální variability počtu kopií DYS-14 sekvence u plodů mužského pohlaví

Obdobně stylizovanou kapitolu č. 3 pod názvem *Cíle* lze nalézt také na straně 46. Teoretický úvod v této kapitole nebývá obvyklý.

Členění kapitol v teoretickém přehledu, jenž následuje po *Úvodu*, je logické, obsah literárního shrnutí dostatečným způsobem pokrývá studovanou problematiku a dokládá dobrou orientaci autorky v zadané problematice. Drobnou námitku bych měla k pojmenování kapitoly 2.2.4.5.3. *Detekce jednonukleotidových polymorfismů*, které se mi nezdá příliš vhodné vzhledem k faktu, že autorka se mj. zabývá detekcí autozomálně děděných onemocnění způsobených jinými než jednonukleotidovými změnami (např. expanze trinukleotidových repetitivních sekvencí u Huntingtonovy choroby či myotonické dystrofie). Teoretický úvod má rozsah celkem 45 stran.

Následují již zmíněné *Cíle* a dále *Metodika*, kde autorka na 8 stranách referuje postupně o jednotlivých metodách použitých při vypracování každého ze tří vytyčených cílů. Zde mám výhradu k vzorci pro výpočet relativní kvantifikace pomocí komparativní metody (Livak & Smittgen, 2001) uvedenému na str. 49:

$$R = 2^{-((Ct_{DYS-14 \text{ vzorku}} - Ct_{SRY \text{ vzorku}}) - (Ct_{SRY \text{ reference}} - Ct_{DYS-14 \text{ reference}}))}$$

Správná podoba vzorce je


$$R = 2^{-((Ct_{DYS-14 \text{ vzorku}} - Ct_{SRY \text{ vzorku}}) - (Ct_{DYS-14 \text{ reference}} - Ct_{SRY \text{ reference}}))}.$$

Jedná se o pouhý překlep nebo byla data podle uvedeného vzorce zpracovávána? Dále, na str. 52 se pravděpodobně omylem píše o „počtu *DYS-14* kopií v extracelulární DNA izolované z periferní krve mužů“, neboť se jedná o kapitolu porovnávající množství fetální a celkové extracelulární DNA v plasmě gravidních žen. Obdobně na straně 54 je v kapitole 4.3.4. *Výpočty* uvedeno určení „počtu *DYS-14* kopií v extracelulární DNA izolované z mateřské plazmy“, ačkoliv jde o kapitolu pojednávající o variabilitě počtu kopií *DYS-14* ve fetální mužské DNA získané metodami invazivní prenatalní diagnostiky, tedy biopsií choriových klků a amniocentézou.

Vlastní výsledky jsou prezentovány na 13 stranách. Autorka adekvátním způsobem prezentuje získaná data, pro snazší orientaci používá tabulky a vhodně zvolené grafy, tzv. box ploty. Uvedené výsledky potvrzují některá zjištění publikovaná v některých imputovaných zahraničních periodících.

Kromě výše uvedených formálních nedostatků je práce napsána čtivě, s minimem překlepů či jiných chyb. Výše uvedené výhrady a drobné formální nedostatky dle mého názoru nijak nesnižují kvalitu této práce, která splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a doporučuji proto, aby byla přijata k obhajobě.

V Praze dne 29. 5. 2009



Mgr. Pavlína Čejková, Ph.D.