



## Oponentský posudek - DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Bc. Martina Protivová**

### **Studie molekulárních markerů korelujících s prognózou a výsledkem terapie kolorektálního karcinomu**

Přírodovědecká fakulta, Studijní program Biologie, Studijní obor Antropologie a genetika člověka, Katedra Antropologie a genetika člověka

Diplomová práce řeší aktuální téma, zabývá se patogenezi kolorektálního karcinomu a rovněž nastiňuje otázky predikce a stanovení prognózy, a to zejména ve vztahu k odpovědi na léčbu. Úvod je obsáhlý a pokrývá problematiku související s epidemiologií, diagnostikou a léčbou kolorektálního karcinomu včetně mechanismu působení a metabolizace 5-fluorouracilu. Počet citovaných prací je adekvátní.

#### **Přípomínky a otázky k diplomové práci:**

- **Abstrakt** v angličtině nereflektuje v některých bodech původní význam abstraktu (např. terapeutický cíl není objective ale target, genetická výbava jedince se nepřekládá jako individual's genetic makeup). Celkově by překlad vyžadoval korekturu a následně poměrně významné opravy.
- Práce obsahuje řadu překlepů, také názvy některých látek a jejich metabolitů či enzymů nejsou uvedeny ve správném českém ekvivalentu (viz. str. 27 - fluorodeoxyuridin monophosphat (FdUMP); str.29 - Alternativní cesta vzniku FdUMP vede přes přeměnu 5-FU na fluorodeoxyuridine, str. 34 - orotát-fosforybozyl transferáza).
- **Úvod:**
  1. Na str.15 jsou zmíněny testy vyšetřující stolici na přítomnost metylenované DNA (jedná se ale o epigenetický přístup, tudíž vyšetření metylace DNA asociované s kolorektálním karcinomem).
  2. Na str. 31 není specifikováno o jaký model lidských nádorových štěpů se jedná?
  3. Na str.34 se nachází 2 věty, které nedávají smysl:  
Katalyzuje přenos aminoskupiny glutaminu na fosforybozyl pyrofosfátu za vzniku fosforibosylaminu, pyrofosfátu a glutamátu. Tento enzym byl studován na modelu T-lymfocytů jako cíl metotrexát.

- **Metodika:**

1. Není zřejmé, jak byla tkáň pro studium genové exprese prezervována (chráněna před účinkem všudypřítomných lytických enzymů). Byl odběr tkáně přímo na sále proveden do RNAlateru nebo byla odebraná tkáň nejprve zaslána k histopatologickému vyhodnocení a poté teprve poskytnuta její část pro studium genové exprese ?? Jak byly vzorky před vlastním zpracováním v laboratoři chráněny před působením lytických enzymů? Jak velká tkáň byla použita pro izolaci RNA ?
2. Proč byly RNA vzorky kontaminované DNA vyřazeny rovnou ze studie ? Proč nebyl nejprve učiněn pokus odstranit kontaminující DNA inkubací s DNÁásou ? Proč nebyl vyzkoušen i jiný způsob izolace RNA z tkáně ?
3. Chybí celé názvy referenčních genů, jsou uvedeny pouze jejich zkratky.
4. Není popsán způsob hodnocení exprese genů vůči genům referenčním. Je zmíněno pouze, že byl sledován relativní poměr exprese kandidátních genů k expresi referenčních genů.  
Proč nebyla zvolena k hodnocení genové exprese standardně používaná komparativní Ct metoda s normalizačním faktorem podle MIQE doporučení ?  
Proč byla prováděna preamplifikace cDNA? PCR v reálném čase umožňuje studium genové exprese i na minimálním množství biologického materiálu včetně tělních tekutin.

- **Výsledky a závěr:**

Vzhledem k tomu, že práce byla provedena na velmi malém souboru pacientů (19 pacientů z paliativního souboru a 16 pacientů z adjuvantního souboru, z nichž 9 z paliativního souboru a 12 z adjuvantního souboru odpovídalo na léčbu), je třeba interpretovat nalezená data velmi opatrně a potvrdit následně na větším souboru pacientů (minimálně 50 pacientů z každé skupiny, v případě hodnocení odpovědi na léčbu minimálně 50 pacientů odpovídajících a 50 pacientů neodpovídajících na léčbu pro dosažení statisticky validních dat) . Vzhledem k malému souboru nemusí být statistické vyhodnocení validní a intepretace dat správná.

**Závěr:**

Metodická část sledování genové exprese ve tkáních bohužel neodpovídá současným doporučením (MIQE quidelines). I přes výše zmíněné nedostatky doporučuji diplomovou práci k obhajobě.

V Praze dne 17. května 2011

Univerzita Karlova v Praze  
3. lékařská fakulta  
Gynekologicko - porodnická klinika  
Oddělení molekulární biologie a patologie buňky  
100 00 Praha 10, Ruská 87  
IČO 00216208, DIČ: CZ00216208



Doc. RNDr. Ilona Hromadníková, PhD.  
Oddělení molekulární biologie a patologie buňky, 3.LF UK