UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Téma bakalářské práce	**Farmakogenetika warfarinu**
Jméno studenta, studentky	**Lucie Fischerová**
Jméno oponenta	**Doc. PharmDr. Martin Beránek, PhD.**

II. Posudek oponenta

Studentka Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové Lucie Fischerová vypracovala svou práci na aktuální téma týkající se vlivu polymorfních míst v lidském genomu na farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti antikoagulancia warfarinu. Práce je řazena obvyklým způsobem a má včetně použité literatury 45 stran. Teoretická část má včetně 3 rozsáhlých tabulek 7 stran a zabývá se farmakokinetikou warfarinu a genetickými vlivy, které ovlivňují rychlost jeho biotransformace i vlastní účinek daný inhibicí tvorby funkčního vitaminu K. Poskytuje přehled o polymorfních místech v genech P450 CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9 a VKORC1. Cílem ráce bylo určit frekvence genotypů a alel v populaci a na základě těchto dat odhadnout počet osob, kteří jsou v riziku podání neadekvátní dávky warfarinu. V praktické části autorka uvádí používané reagencie a přístrojovou techniku. Bohužel, nezmiňuje, v rámci kterého centra se experimentální část prováděla. Počet analyzovaných vzorků (celkem 1087) i způsob popisu použité analytické metody svědčí spíše o retrospektivní analýze dat než o provedeném experimentu. Výsledky jsou tvořeny půlstránkou textu a 3 tabulkami a grafy, které vyjadřují totéž, tedy rozložení genotypů ve vyšetřeném souboru osob. Diskuse i přes změnu řádkování na 2 tvoří pouze cca půl stránky, zbytek je popis dávkovacího schématu warfarinu dle Tomek a kol. 2009.

Práce má řadu analytických i formálních nedostatků a připojuji připomínky a dotazy na autorku:

1) Píšete, že warfarin je předepisován u širokého spektra onemocnění, bohužel ve vaší praktické části nejsou onemocnění probandů popsána ani naznačena. Kolik nemocných tvořil váš experimentální soubor a jakých diagnóz se týkal? Jaké bylo věkové a pohlavní rozložení souboru? Kolik bylo opravdu vzorků kontrolních, tedy pocházejících od zdravých lidí?
2) Odkud, tedy z jaké citace, pochází informace, že "1-10% pacientů se může v průběhu léčby warfarinem setkat s krvácením?"
3) Co znamená zkratka PIVKA, není uvedena do seznamu zkratek?
4) V cíli práce máte napsáno, že výsledky práce by měly podpořit smysluplnost farmakogenetického vyšetřování denní dávky warfarinu. Čím konkrétně jste tedy denní dávku vyšetřili?
5) V rámci BP soubor tvořilo 1087 pacientů včetně kontrol. Za jak dlouhé období byly vzorky DNA nasbírány?

6) U popisu extrakce DNA není specifikováno, jaké koncentrace a čistoty DNA bylo dosaženo. Preanalytická fáze nebyla kontrolována ani dokumentována?
7) V práci se objevují mnohokrát zkratky "CYP 2C9" a "CYP2C9", jak je to tedy správně?
8) Použila jste enzym Tsg, ve zkratkách není uvedena, co se pod zkratkou skrývá?
9) V metodické části nejsou uvedeny ani délky PCR produktů ani délky fragmentů po restrikci. Světlo nevnáší do této části ani obrázek na straně 28, kde není popsán ani typ velikostního markeru, ani délky jeho fragmentů. Samotný obrázek je spíše horší než uspokojivé kvality. Prosím prezentovat obrázek na dataprojektor a o rozbor vzorků 1-3 odleva označených tužkou CYP2C9 2*. Byla restrikce optimalizována? Vysvětlete přítomnost a původ slabších fragmentů a případných nespecifit. Jak se mohly fragmenty z kontroly dostat i do dráhy pro velikostní marker? (dráha 4 odleva)
10) Obrázek 4 obsahuje viditelné jen 4 nikoliv 6 křivek uvedených v popisku, vysvětlete! Podle mne jste omylem obrázek 6 zkopírovala i do místa obrázku 4, který v práci není.
11) Obrázek 7 - graf neudává frekvence alel, ale genotypů CYP2C9, ve výsledcích se objevuje věta "varianty a frekvence těchto variantních alel", což opět postrádá smysl v důsledku absence slova genotypy.
12) V teoretické části byly zmíněny frekvence z práce Sanderson a kol pro alelu CYP 2C9*1 79,9%, *2 12,2%, *3 7,9% a Buzková a kol. CYP2C9 81,9%, 12,2%, 5,9%. Vy jste vypočítali CYP2C9 frekvenci 82,7% pro *1, 9,5% pro *2, 7,8% pro *3. Mohou být rozdíly ovlivněny složením vašeho vyšetřovaného souboru? Uveďte příklady takového vlivu, pokud takový vliv existuje.

Navrhovaná klasifikace **dobře**

V Hradci Králové dne 13.5.2011

Podpis oponenta bakalářské práce