

Posudek oponenta na bakalářskou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: *Aleš Panczak*

Datum: 23. května 2011

Autor: **Milan Polák**

Název práce:

Molekulárně-cytogenetická detekce mozaik pomocí fluorescenční in-situ hybridizace

Cíle práce Uchazeč si v práci stanovil tyto cíle:

- 1) Podat literární přehled o chromosomovém mozaicismu, jeho nejčastějších formách a s nimi spojených fenotypových projevech, o možnostech jeho postnatální a prenatalní detekce a o aktuálních vyšetřovacích metodách užívaných k průkazu mozaicismu.
- 2) Ukázat postup při molekulárně cytogenetickém vyšetření s využitím metody FISH u několika konkrétních nemocných pacientů (vlastní praktickou analýzu).
- 3) Posoudit na vybraných konkrétních případech metodické aspekty a možná omezení molekulárně cytogenetického vyšetření, eventuálně optimalizovat vyšetřovací metodu a posoudit relevanci pravidel používaných při vyhodnocení hybridizačních signálů.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? *spíše ANO* *NE*

Rozsah práce (počet stran): 85 stran

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, *ANO* *NE*

Je uveden seznam zkratk? *ANO* *NE*

Literární přehled:

Odpovídá tématu? *Z větší části ANO* *NE* Výhrady viz odstavec Otázky a připomínky

Je napsán srozumitelně? *spíše ANO* *NE*

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? *ponejvíce ANO* *NE*

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? *ANO* *NE*

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? *spíše ANO* *NE* Autor prováděl experimenty / byl účasten vyšetření 11 pacientů metodou FISH (s grantovou podporou).

Kolik metod bylo použito?

1 metoda: FISH (doplněná o demonstraci tří vybraných kazuistik)

Jsou metody srozumitelně popsány? *ANO* *NE*

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? *ANO* *NE*

Je dokumentace výsledků dostačující? *spíše ANO* *NE* - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? *ANO* *NE*

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? *ANO* *spíše NE*

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? *ANO* *NE*

Jedná se o obsáhlé citace ze tří zdrojů (dva z r. 2002 a jeden z r. 2005)

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? *spíše ANO* *NE*
Diskuse se nepovedla, je stylisticky i odborně na nízké úrovni. Text diskuse prozrazuje buď nedostatek času, únavu autora, který se vyčerpal na teoretickém výkladu a metodologii, či opravdovou bezradnost. Vlastní výsledky diskutuje vlastně docela minimálně. Diskuse (zejména úsek 5.4) je v podstatě pokračováním teoretické části či metodického výkladu. Doporučuji část 5.4 výrazně redukovat a s ní Diskusi započít (část textu spolu s obrázky/mikrofotografiemi, jinak velmi dobrými, opravdu přesunout do Metodiky) a pak navázat spojenými částmi 5.1 a 5.2 a zakončit (stylisticky i obsahově) přepracovanou částí 5.3 doplněnou vhodnými citacemi (to platí o Diskusi jako celku).

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? *ANO* *spíše NE* Závěr není ani Souhrnem; stejně problematický jako Diskuse.

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

Dostatečná. Odpovídá hraničně průměru bakalářských prací, text je logicky členěn a číslování jednotlivých kapitol umožňuje dostatečnou orientaci. Přesto si myslím, že lze v číslování podkapitol být důslednější a jít až do 5. či 6. stupně (např. str. 22 až 26 a pak znovu na str. 33). Student si neohlídal jednotnou úpravu a řez písma pro jednotlivé stupně členění a číslování (srovnej např. str. 32, 34 a 35).

Tabulky jsou obsažné, dosti přehledné – přesto navrhuji v Tabulce 3 vypustit sloupec 2. a 4. (všude stejná hodnota, navíc popsáno v textu); získá se tím více místa pro sloupec 5. a 6. s obsažnějšími texty a tabulka by se pak nejspíše celá vešla na jednu stránku a bylo by možno data v ní seřadit vzestupně (nebo sestupně) buď podle stáří vyšetřovaných nebo podle klinické diagnózy či indikace k FISH. U Tabulky 4 bych doporučoval spíše řazení fluorochromů podle emisní vlnové délky, tedy posledního sloupce (seřazeny podle abecedy; navíc jedna z položek Cy5 je v textu uvedena jako Cy3, další je uvedena s překlepem, má být Bromid). V Tabulce 5 s výsledky doporučuji rozdělit 3. sloupec na dva samostatné (Výsledek FISH a např. Interpretace), kdy do nového sloupce by vždy byl převeden text dosud uvozený slovy „odpovídá nálezu:“. Dále navrhuji Tabulku 5. lehce přeformátovat a zvětšit na celou plochu stránky (ke zlepšení čitelnosti); navíc, na 7. řádku v posledním sloupci je chybně hodnota ANO namísto NE (srovnej s textem na str. 58 dole); kromě toho by se tento poslední sloupec mohl lépe jmenovat Mozaika přítomna (s odpověďmi jako dosud – ANO, NE). Také celková grafická podoba tabulek mohla být nápaditější – nicméně jak soubor nemocných, tak výsledky/nálezy vlastního vyšetření přinášejí obě kritizované Tabulky (Tabulka 3 a 5) dostatečně.

Obrazová dokumentace je na velmi dobré úrovni, zejména fotografie dokumentující metodiku FISH. Převzatým obrázkům v teoretické části bych vytknul (zejména to platí pro Obrázek 7), že po zmenšení a zalomení do textu jsou popisky v nich na hranici čitelnosti. Distribuci fotodokumentace a tabulek do textu považuji (až na námitku výše) za uměřenou.

Domnívám se, že teoretická část je zbytečně dlouhá a také Materiál a Metody bylo možno lehce zkrátit, více se pak věnovat Diskusi a Závěru. Neadekvátně hypertrofovaná je Literatura – celkem 112 položek – takže autorovi nemohu uvěřit, že se se všemi podrobně seznámil. U bakalářské práce je to nezvyklé až (zbytečně) nápadné citovat některé práce bezmála 50 let staré. Typografickému zpracování Literatury se také nedostalo náležitě péče.

Uchazeč v řadě případů (jak přesunoval texty, odstavce) pak již nesjednotil zalamování odstavců, zarovnávání řádků, práce s textovým editorem není vyvážená ani důsledná.

Jazyková úroveň textu je značně problematická, časté jsou stylistické problémy. Překlepy a chyby pravopisné (dvě přímo hrubé!) a ve větné interpunkci jsou početné. Některé věty jsou neúplné, chybí sloveso, předmět, často mezera po tečce apod. Detailní (opravdu dlouhý) výčet mohu s autorem rozebrat. Upozornil bych však na tyto:

V anotaci (Č i A verze), 3. odst. shora doporučuji přímo napsat 7 z 11 pacientů (lépe pacientek – samostatný problém, opakovaně – protože osoby jiného než ženského pohlaví nebyly vyšetřovány) a pak vyjádření v %. A hned v další větě „V 6 z těchto sedmi případů...“, aby bylo jasné, z jakého základu se počítá 85,7 %. Pokud je však správná moje námitka ohledně 7. ř. v Tabulce 5 a je ve skutečnosti případů s mozaikou pouze 5, pak čísla v anotaci uváděná nejsou správná a je zapotřebí přepočítat také podíly v %. Z čistě jazykového hlediska je to v A verzi lépe ošetřeno (In 6 of these cases...); i zde však platí výše uvedené. V Obsahu (str. 7 nečíslovaná, 9 ř. zdola) překlep MAZAIKISMU, v Seznamu zkratk (str. 9 nečíslovaná, 10 ř. shora) hrubka distrofín, tamtéž (ř. 11 zdola) další – intracitoplasmatická. V Teoretické části (str. 13, ř. 12 shora) „... počtu 165 MB DNA...“ – nejspíše mělo by být "165 Mb". Tamtéž, neobratnost ve větě na 10 ř. zdola implikuje, že pohlavně vázaná dědičnost má více variant, z nichž k nejčastějším se řadí GR.

Str. 14., 2 ř. shora: "je způsoben mutací genu F8 na dlouhých raménkách chromozomu X" - ta věta se jazykově nepovedla. Jednak se zřejmě stále mluví o hemofilii, proto by mělo být "je způsobena" a potom by bylo vhodnější "mutací genu F8 na dlouhém raménku" - neboť jeden gen leží na jednom raménku. Zcela na okraj - častější je zkratka F VIII.

Str. 14, ř. 10 shora: "gonozomálně dominantní (těž X-vázanou) dědičností." – lehké pletení pojmů, viz poznámka o GR výše.

Str. 14., ř. 15 zdola a násl.: "Chromozom Y řadíme mezi malé akrocentrické chromozomy." Trochu problém - chromozom Y nemá satelity, tudíž to není typický akrocentr. Velikostně patří určitě do skupiny G, ale satelity nemá, proto je otázka, zda je šťastné o Y jako o akrocentru mluvit. Přínejmenším ta informace, že satelity nenese tam chybí.

Str. 15.: Obrázek 1 - drobný detail: nejedná se o G-pruhování, nýbrž o R-pruhování!!

Str. 18.: "Mozaicismus lze jednoduše charakterizovat jako stav, kdy jsou u jedince, nebo popřípadě jen v určité tkáni přítomny dvě či více buněčných linií (klonů), které mají odlišnou genetickou výbavu." - Totéž ovšem platí i pro chimérismus.

Str. 19, 8. ř. zdola – překlep nebo (super)mozaika??

Str. 20, 3. ř. shora: vypustit z – má být ...ke ztrátě jednoho nadbytečného chromosomu.

Str 20, 13 ř. zdola: má být gonosomů.

Str. 20., 7. ř. zdola: "Turnerův syndrom (TS) patří mezi poměrně časté chromozomové onemocnění, které postihuje přibližně 1/2000 – 1/2500 živě narozených dětí ženského pohlaví." Toto není tolik vypovídající údaj jako celkový výskyt všech případů (narození + prenatálně diagnostikované případy)! Zvláště u Turnerova syndromu, který má u narozených relativně nízkou četnost (v ČR byla relativní četnost TS (u živě narozených) v roce 2008 0,67 na 10 000 živě narozených a v roce 2009 to bylo 0,59 na 10 000 živě narozených!), neboť naprostá většina případů TS se potratí spontánně, nebo je arteficiálně ukončena. Takže: TS je relativně častá situace/syndrom, ale zejména u časné potracených plodů (dále v textu, str. 21 a 22, je pak zmiňováno, ale již v jiné souvislosti).

Str. 21, ř. 6. shora: slovo některé je 2x, má být jen jednou.

Str. 22, ř. 15. shora: má být tato těhotenství

Str. 22, ř. 4. zdola: dal bych přednost ...nemohou spontánně otěhotnět.

Str. 22, ř. 2. zdola: lepší snad bude ...nondisjunkční odchylkou...

Str. 26, ř. 7. zdola: má být Abnormality v gametogenezi mohou...

Str. 28, ř. 12. shora: neobratnost posouvá trochu význam, ve větě je 2x užito „přesný odhad“

Str. 29, ř. 4. shora: 2x vedle sebe spojení „... před zavedením prenatálních...“

Str. 29., ř. 5 shora: "přičemž výrazně zvýšené riziko narození dítěte s tímto syndromem měly ženy ve věku 35 let a výše" Překlep ve slově "narození". Navíc ženy ve vyšším věku toto riziko stále mají, ne že měly v minulosti.

Str. 34.: poslední dva odstavce (Amniocentéza) se zřejmě nějak rozhodily, nic se neztratilo, jen je to pomíchané (konec prvního z nich je vložen do druhého).

Str. 35, konec 2. odstavce: v případě kordocentézy zvýšené riziko potratu plodu, k němuž dochází u 1-2 ze 100 porodů. – má být vyšetřených těhotenství.

Str. 52, ř. 15.: chybí sloveso před 72 – asi uchovávat či skladovat

Str. 53, ř. 1.: lépe (s přihlédnutím k následující větě textu) ...suspenzi buněk centrifugujeme...

Str. 57: opět se přimlouvám za používání PACIENTEK namísto pacientů!!!

Str 58, 4. ř. zdola: jádra byla objevena; tvary slovesa objevit 2x v jedné větě.

Str. 61., ř. 9. shora: "pro uměle ukončené těhotenství, z důvodu vrozené vývojové vady plodu." Terminologie: Vrozená vada je defekt přítomný při narození. Pokud mluvíme o vadě plodu, potom je vhodnější mluvit jen o "vývojové vadě", ne však o vadě vrozené.

Str. 68, 7. ř. zdola: ...pouze jen... vedle sebe - buď jedno nebo druhé.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Uchazeč splnil s problémy zadané cíle práce. Práci považuji za méně zdařilou, rozhodně za nevyváženou a nedotaženou; chybí závěrečná editace a revize. V souladu se Studijním a zkušebním řádem 2. LF UK ji proto s **výhradami doporučuji k dalšímu řízení.**

Otázky a připomínky oponenta:

1. Ad Chromosomový mozaicismus (str. 18): uchazeče bych požádal, aby se pokusil vysvětlit, jaký je rozdíl mezi chimérou a mozaikou.
2. Ad Vznik mozaiky (str. 19, 8. ř. zdola): pokud by se nejednalo o překlep a byl to opravdu zápis mozaiky, jak by takováto mozaika mohla vzniknout?
3. Ad Turnerův syndrom (str. 21 a násl.): doporučený zápis názvů genů (zde SHOX a další) v textu je kurzívou, jejich produktů pak rovným řezem písma.
4. Ad str. 31, str.38 a násl., dále pak str. 61 a 66 – zda by mohl uchazeč krátce vysvětlit úlohu, výhody a nevýhody FISH diagnostiky u marker chromosomů a mozaicismu s marker chromosomy. Jsou ještě nějaké další alternativní metody kromě arrayCGH?
5. Ad str. 60 a násl. a str. 65 až 66: nápad začlenit do výsledků tři vybrané kazuistiky, jakkoli není odpovídajícím způsobem dotažen, považuji za dobrý. Chtěl bych proto uchazeče požádat, aby znovu vysvětlil, v čem mohou být poučné pro vzdělávání dalších adeptů oborů, a konečně, co může laboratorní pracovník udělat proto, aby kvalita byla co nejlepší a výrazně tak napomohla diagnostickým závěrům pro klinického lékaře.

Tyto body navrhuji jako podklad pro diskusi nad prezentací práce. Uchazeči, panu Milanovi Polákovi přeji úspěšné zakončení studií a hodně štěstí v dalším profesním i osobním životě.

Návrh hodnocení oponenta

Podpis oponenta: