



FN MOTOL

## Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG

Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN Motol

Centrum reprodukční genetiky

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://ublg.lf2.cuni.cz>



Ústav biologie a lékařské genetiky

### Školitelský posudek na bakalářskou práci

#### **Petra Bendová: Analýza chromozomových aberací u spermií metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH)**

Petra Bendová si ve školním roce 2011/2012 v laboratoři Centra reprodukční genetiky Ústavu biologie a lékařské genetiky osvojila techniku analýzy chromozomových aberací u spermií metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Tato metoda sestává z řady dílčích postupů, které je potřeba pro zdárný výsledek zvládnout. Zahrnují proplach ejakulátu, přípravu nátěrů, jejich fixaci a dekonzenzaci, vlastní fluorescenční *in situ* hybridizaci, mikroskopickou analýzu včetně počítačové analýzy obrazu a hodnocení nálezů. Všechny tyto postupy prováděla nejprve pod dohledem a poté samostatně na vzorcích potenciálních dárců spermatu. Tito pacienti byli vybráni proto, že u nich lze předpokládat nález kvalitních spermií umožňující provedení plánovaného vyšetření a normální výsledky.

Vyšetření chromozomových aberací u spermií dárců sice není v současnosti standardní součástí vyšetřovacího programu před darováním, ale patří mezi metody, které by umožnily výběr dárců zlepšit. Zvýšený výskyt těchto aberací by znamenal nutnost dárce vyřadit z důvodu rizika postižení potomstva chromozomovou vadou. Cílem práce bylo tedy ověřit, zda výskyt aberací v této skupině odpovídá normálním hodnotám v populaci.

Předložená bakalářská práce obsahuje teoretickou část zahrnující přehled meiózy s důrazem na odlišnosti u mužského pohlaví, spermatogeneze, nejčastějších chromozomových aberací a metody FISH. Teoretická část svým rozsahem i hloubkou překračuje požadavky na bakalářské práce a spolu se seznamem citací dokládá schopnost autorky pracovat s odbornou literaturou.

Metodika a studijní materiál jsou popsány dostatečně, včetně pravidel hodnocení a kritérií jednotlivých aberací.

Vyšetření chromozomových aberací ve spermiích je náročné, protože výskyt aberací je obvykle nízký (do 1 %). Je tedy nutno na každém preparátu vyhodnotit velký počet spermií (minimálně 1000), aby byl nalezeny i abnormální a výsledek byl interpretovatelný. K tomu je potřeba aby preparát byl homogenní s vysokou spolehlivostí hybridizace a zároveň je nutné pečlivé vyhodnocení ve fluorescenčním mikroskopu. Toto se zdařilo u všech vyšetřovaných vzorků.

Hodnocení fluorescenčních signálů vyžaduje zkušenost, kterou lze získat jen tréninkem. Ve fázi učení se hodnocení abnormit lze použít automatické ukládání souřadnic nalezených spermií prostřednictvím motorizovaného mikroskopického stolku propojeného s počítačem. V praxi je ale problémem časově omezená životnost fluorescenčních signálů z důvodu slábnutí fluorescence vlivem prodlouženého osvětlení světlem o vlnové délce odpovídající excitaci daného fluorochromu. Důsledkem může být nemožnost opakovaného hodnocení nalezených abnormit.

Výsledky celkově ukazují, že průměrný výskyt chromozomových aberací ve spermiích potenciálních dárců spermatu odpovídají očekávaným hodnotám. V jednom případě byl nalezen zvýšený výskyt abnormit. Vzhledem k tomu, že se jednalo o první kompletně analyzovaný vzorek a jeho vyšetření mohlo být ovlivněno procesem učení se, by tento výsledek asi neměl být zahrnut do



FN MOTOL

## Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Laboratoře ÚBLG



Ústav biologie a lékařské genetiky

Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN Motol

Centrum reprodukční genetiky

Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.

<http://ublg.lf2.cuni.cz>

hodnocení nebo by mělo vyšetření být zopakováno. Z důvodu náročnosti celého postupu byl i tento vzorek do závěrečného hodnocení zařazen, ale v rámci diskuse je připuštěna možnost, že výsledek v tomto případě není zcela validní.

Předložená práce dokládá zvládnutí celé metodiky i pravidel vědecké práce a souhlasím s jejím připuštěním k obhajobě.

MUDr. Jan Diblík, Ph.D.