

## **Posudek na diplomovou práci**

Název diplomové práce:

### **Čipová analýza cRNA ze vzorků plné krve smíchané s RNA later u kardiovaskulárních onemocnění**

Jméno autora: **Bc. Šárka Kocourková**

Oponent: **Mgr. Jana Šimová**

Předkládaná diplomová práce se zabývá velmi aktuálním tématem celogenomové čipové analýzy. Autorka se zaměřila na populaci pacientů s infarktem myokardu nebo s cévní mozkovou příhodou, jejichž genetickou informaci porovnávala s kontrolním souborem pacientů.

Práce má 106 číslovaných stran a je vhodně členěna do 10 hlavních kapitol, které jsou vůči sobě vzájemně dobře vyvážené. V úvodní kapitole autorka stručně informuje o výskytu zmíněných multifaktoriálně podmíněných kardiovaskulárních chorob v České republice a o využití čipové analýzy pro detekci genů.

Autorka si stanovila cíle své práce konkrétně a jasně definuje své záměry. Hlavním cílem práce je vyhledání klinicky zajímavých genů na základě míry jejich exprese u pacientů s akutním infarktem myokardu či s cévní mozkovou příhodou v porovnání s kontrolním souborem.

V rámci diplomové práce bylo zpracováno a analyzováno 174 vzorků plné krve smíchané s RNA later. Autorka během svého výzkumu použila široké spektrum molekulárně genetických metod. V rámci analýz byla provedena u všech vzorků extrakce celkové RNA z plné krve, přečištění izolované RNA spojené s odstraněním globinové frakce, hodnocení kvality RNA na Bioanalyzeru 2100, amplifikace RNA a následná hybridizace amplifikované cRNA na čipu. Pro ověření výsledků z čipové analýzy byla provedena nezávislá kvantitativní RT-PCR u vytipovaných 10 genů. Zvládnutí daných metodik, především dosažení vysoké kvality a odpovídající koncentrace vzorků, která je nezbytná pro čipovou analýzu, dokazuje precizní laboratorní činnost.

Autorka ve své práci došla k velice zajímavým výsledkům, identifikovala 5 genů, u kterých dosud nebyl prokázán vztah k infarktu myokardu. A to na základě klinicky a statisticky významné změny expresní intenzity u pacientů, kteří zemřeli do 6 měsíců po akutním infarktu myokardu oproti pacientům, kteří po příhodě přežívají déle.

Kromě výsledků z molekulárně genetických analýz uvádí autorka ve své práci také procentuální podíly vybraných klinických a demografických dat k souboru pacientů. Dosažené výsledky byly statisticky zpracovány. Interpretace získaných výsledků pomocí statistických metod je na velmi dobré úrovni. Autorka splnila vytyčené úkoly a výsledky náležitě prezentuje ve své práci.

V kapitole diskuze autorka diskutuje všechny výsledky, kterých ve své práci dosáhla. Zejména věnuje pozornost pěti genům s odlišnou mírou exprese a jejich možné spojitosti s infarktem myokardu a genům vybraným pro RT-PCR. Celkově vystihla velmi pěkně podstatné vědecké přínosy týkající se dané problematiky. Oceňuji zdravě kritický pohled na nejednoznačnou interpretaci biologického významu dosažených výsledků.

Autorka citovala ve své práci celkem 88 literárních zdrojů, většinou pracovala se zahraniční literaturou. Seznam použité literatury je přehledně uspořádán, včetně seznamu využitých internetových zdrojů. Kladně hodnotím autorčinu schopnost velmi dobře pracovat s konkrétním odborným textem, vyhledávat a třídit informace a vybrat ty nejpodstatnější skutečnosti z rozsáhlého objemu publikací, které s touto problematikou souvisí. Kladně hodnotím i jazykovou stránku a grafickou úpravu. Obsahová i formální struktura diplomové práce podle mého názoru zcela vyhovuje požadavkům kladeným na diplomovou práci.

K textu diplomové práce mám následující formální připomínky:

- jedna citace v seznamu literatury není uvedena v textu (Gorden et al. 2004)
- v internetových zdrojích je dvakrát uveden stejný odkaz ([www.uzis.cz](http://www.uzis.cz). 2007. Zdravotnická statistika ČR. Hospitalizovaní v nemocnicích ČR 2007: 63 a [www.uzis.cz](http://www.uzis.cz). 2008. Zdravotnická statistika ČR. Hospitalizovaní v nemocnicích ČR 2008: 63)

Dále mám několik dotazů:

- 1) Podle jakých kritérií byly vybrány vzorky pro kvantitativní RT-PCR analýzu?
- 2) Jakými vnějšími faktory životního prostředí by podle Vás byl ovlivněn odběr vzorků i z jiných regionů ČR?
- 3) V abstraktu a v závěru uvádíte počet zpracovaných vzorků 174, ve výsledcích je uvedeno 172 vzorků. Byly výsledky u některého vzorku nereprodukovatelné? Pokud ano, z jakého důvodu?

**Diplomová práce Šárky Kocourkové celkově působí uceleným dojmem. Svědčí o značném přehledu autorky v dané problematice, získané podrobným studiem literárních pramenů. Zároveň je důkazem zvládnutí laboratorní praxe a používaných metodik a schopnost hodnotit a analyzovat získané výsledky. Téma diplomové práce je aktuální a v současné době velmi diskutované. Poznatky z diplomové práce budou nepochybně velmi dobře využitelné v dalším profesním životě autorky.**

**Po zodpovězení dotazů doporučuji práci k obhajobě a hodnotím ji jako výbornou.**

