

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

Datum:

30/8/2017

Autor:

Bc. Barbora Belšánová

Název práce:

Optimalizace metodiky pro stanovení volné nádorové DNA v plazmě a její klinické využití u pacientů s karcinomy kolorekta, plic a slinivky břišní

Cíle práce

Cílem práce bylo optimalizovat metodu izolace cfDNA z plazmy, tak aby bylo dosaženo co nejvyššího výtěžku ctDNA a optimalizovat metodu detekce ctDNA v plazmě. Tyto metody pak dále použít pro vyšetření klinických materiálů od pacientů s třemi typy onkologických onemocnění. Součástí bylo i ověření výpovědní hodnoty přítomnosti a hladin ctDNA pro prognostické účely, predikci včasné rekurence onemocnění a odpovědi na léčbu. Výsledky byly srovnávány s běžně používanými metodami zobrazovacími a detekcí nádorových markerů.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 79

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO (seznam je nejednotný, u některých zkratk je jen anglický název nebo u jiných naopak pouze český, některé anglické názvy nejsou napsané kurzívou)

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? SPÍŠE ANO

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

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

V úvodu mně překvapila informace o stagnující incidenci nádorových onemocnění.

V dostupné literatuře, kterou jsem dohledala, se všude uvádí stále narůstající incidence (souhrnně nádorových onemocnění, i když některá specifická onemocnění vykazují jiný trend), stagnuje mortalita.

Možná příliš obsažná je část týkající se zobrazovacích metod, které autorka sama neprováděla. Oproti tomu by bylo zajímavé rozvést informaci v odstavci o uplatnění ctDNA u pacientů s karcinomem pankreatu – týká se to hlavně mutací KRAS strana 37 a dále genu KRAS v kapitole 2.3.4.4 str. 38.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 3 (izolace DNA, izolace cfDNA – 4 kity, PCR – 2 typy klinických materiálů, amplifikace 12 markerů z 5ti genů, DCE)

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO (chybí pouze detailnější popis strategie výběru nejlepšího postupu pro izolaci ctDNA, amplifikačních podmínek a DCE-jak rozhodla autorka mezi postupy při testování více vzorků? Hodnoty jsou uvedené v tabulkách, ale jak se autorka rozhodla pro optimální postup není zcela jasné.

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO

Z hlediska experimentů nechybí nic, pouze detailnější popis postupu výběru optimální metody viz. poznámka Materiál a metody. Vysvětlení postupu může být součástí materiálu a metod nebo výsledků.

4.2.2 Optimalizace izolace cfDNA, ale následuje již jen v textu ctDNA.

4.3.2 Optimalizace amplifikačních podmínek pro cfDNA, ale opět první věta zní: „Při optimalizaci amplifikace ctDNA jsem.....“

Strana 57 údaj v textu se neshoduje s údajem v tabulce.

Výsledková část 5.2.3 je poněkud nepřehledná.

Diskuze:

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

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? NE

Závěry (Souhrn):

Jsou výstižné? Souhrn se překrývá poněkud s výsledky. Spíše než uvedení konkrétních čísel, bych zde čekala obecnější pojetí.

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

Práce by potřebovala velmi detailní kultivaci jazyka. To se týká i anglického abstraktu. Některé věty jsou obtížně srozumitelné, někde chybí sloveso a podobně. V textu chybí čárky. Chyby jsou v psaní znaků za číselnými hodnotami (oddělení mezerou např. 3 min, 26 %) a to i v tabulkách, stejně tak jako v psaní čísel (při více než 4 číslicích se odděluje mezerou). Občasné chyby jsou i v psaní citací v textu (str. 11-Diaz, L.A.; str. 17 -MÜLLER akol 2006). V seznamu citací je také nesourodý formát (odsazení). Chybí vysvětlení některých zkratk při prvním uvedení v textu (str. 15 EDTA, str. 32 NSCLC). Vysvětlení zkratk musí být jednotné (např: nekódující sekvence LCR (z angl. long control region)). Občasná hrubá chyba v textu se též najde, přičemž kousek dál je slovo napsané správně. Vyskytlo se i použití anglického výrazu bez překladu do češtiny (blank). Tabulky a obrázky by, v případě použití zkratk, měly mít vysvětlení v poznámce nebo legendě (Tabulka 10, ž, m, navíc není jednotná velikost písma těchto zkratk, chybějící údaje by měly být vysvětlené, Obr 19 RFA). V tabulkách i textu by měl být jednotný počet desetinných míst (Tab 12 vs 13).

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Tato práce se zabývá velmi zajímavým a aktuálním tématem. Stanovené cíle se podařilo autorce beze zbytku splnit, a to i přesto, že velká část práce znamenala vyšetřit velké množství klinických materiálů, což bývá někdy velmi obtížné. Výsledky, které získala,

jsou zajímavé a prokazují využitelnost testovaných postupů a markerů v klinické praxi. Negativa práce jsou hlavně formálního rázu, především slabší jazyková stránka, která znesnadňuje četbu jinak zajímavého textu. Možná příliš obsažná je část týkající se zobrazovacích metod, které autorka sama neprováděla. Sníženou známku tedy navrhuji z důvodu formální úpravy. Práce však doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Byly vzorky odebrané do zkumavky nasucho nebo do odběrového média?

Jak jste separovali plazmu?"

Proč v tabulce 3 chybí údaje?

Proč jsou různé počty vzorků plazmy u různých pacientů?

Proč jste k eluci DNA nádorové tkáně používala eluční roztok a DNA z plasmy vodu?

Skutečně je produktem Genomeu kit pro izolaci DNA z nátěrů na sklech?

Zmiňujete, že jste u ctDNA neověřovala koncentraci a čistotu. U DNA z nádorů jste toto ověřovala? V práci to není zmíněné.

Pro PCR jste používali jen jeden box?

Způsob léčby - znamená to zde radikalitu - strana 65?

Které vlastnosti by nemusela uměle připravená DNA splňovat?

Proč jsou mutace v tumor supresorových genech hůře detekovatelné?

Jaké další faktory by mohly ovlivňovat přežívání pacienta? Jakým způsobem se dá toto ošetřit statisticky?

Prosím komentujte poznámky z části posudku – Literární přehled a Materiál a metody.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

