Posudek na diplomovou práci

H.Hájková předkládá k obhajobě práci nazvanou „Sledování molekulárních změn u rabdomyosarkomů", která vznikla za podpory tří grantů v Laboratoři mol.patol. FN v Motole. Práce má klasickou výstavbu, anglické shrnutí, Úvod, Přehled literatury, Materiál, Metodika, Výsledky, Diskuse, Souhrn, Seznam použitých zkratek a Seznam literatury. **Formální úprava práce je pečlivá**, obrázky a tabulky vhodně doplňují text.**Celkový rozsah** práce 93 stran **je přiměřený**, stejně jako seznam použité literatury (8 str.).

Cílem práce, který je dobře a srozumitelně formulován hned v Úvodu, bylo analyzovat určité možnosti molekulární analýzy v souvislosti s diagnostikou rabdomyosarkomů u dětí. Práce je **zaměřena prakticky**, a to hlavně na možné využití v onkologii dětských pacientů. **Téma bylo zvoleno velmi vhodně**, protože molekulární metody diagnózy tohoto typu nádorových onemocnění mohou doplnit a upřesnit závěry dosud hlavně používaných metod imunologicko- histochemických, které nejsou někdy zcela jednoznačné. **Cíl je aktuální**, neboť v posledních letech se zlepšil vhled do genetické determinace myogeneze a procesu onkogeneze, což dovolilo uvažovat o nových diagnostických, molekulárně biologických aplikacích a hlavně byly vypracovány metody, které umožňují sledovat výskyt genomových změn a expresi genů.

ÚVOD je stručný a výstižný, včetně formulace cílů. ***Postrádám zde pouze začlenění do širšího proudu snah, které lze v této oblasti u nás zaznamenat.***

PŘEHLED LITERATURY svědčí o autorčině dobré teoretické přípravě. Podává dobrý stručný přehled o myogenezi, myogenních regulačních faktorech a jejich působení, rabdomyosarkomech a možnostech jejich diagnostiky, ztrátě heterozygosity (LOH) a minimální diseminované nemoci, tj. o všech hlavních aspektech zaměření práce. ***K této kapitole mám však jednu závažnou výtku. Autorka nectí pravidla nomenklatury a zkratek lidských genů a jejich produktů. Naštěstí, většinou když napíše zkratku pro genový produkt – protein s prvním velkým písmenem a má na mysli gen, připíše slovo gen před zkratku, takže se zmatený čtenář obvykle správně orientuje. Geny i proteiny jsou popisovány nejednotně asi třemi různými způsoby. Celkově lze říci, že popis je z hlediska vztahu genu a produktu lehce zmatený na mnoha místech i v dalších kapitolách včetně některých obrázků(např. str.12 obr.2.). Srozumitelnosti by přispělo, kdyby u histogramů (obr.16-18) bylo porovnání s normální tkání. Myogenin není gen ale produkt (2.2.5.4.). Nejasná je formulace prvního odstavce 2.3.2. Co je to standardní staging(str.24 konec předposledního odstavce).Kapitola o RT-PCR (2.5) je napsána dosti nepřesně. Obrázek 11 není bez podrobnějšího popisu srozumitelný.***

MATERIÁL je popsán dobře. Jen mne překvapuje, že komerční primery (str.35) nevyhovují běžným nárokům na skladbu a velikost primerů. Asi to není třeba –***prosím, vysvětlete.***

METODIKA ukazuje, že autorka zvládla velký počet metod a popisuje je srozumitelně, jen s drobnými běžnými chybami. ***Neuvádí systematicky g u popisů centrifugací. Zkratky pro jednotky času mají být bez tečky. Na str.41 DTP-co je to? Dokonavé formy, jako např. rozvertexovat, zvortexovat, zaklonovat nejsou české. Prosím o popis hodnocení elektroforetogramů .Nepochybuji o správnosti, ale popis obrázků 12-15 není dostatečný.***

VÝSLEDKY jsou popsány bez diskusních poznámek, přehledně ,stručně a poměrně srozumitelně. Autorka se podle plánu zaměřila na určení ztráty heterozygosity v oblasti 11p15 a sledování hladiny MyoD1 mRNA pomocí RT-RQ-PCR, čímž mimo jiné dostala i údaje o minimální diseminované nemoci a data jí posloužila i jako podklad pro korelování exprese MYO D1a LOH. Množství dat je rozsáhlé, jejich zpracování a statistické hodnocení se mi zdá správné. Určitý problém je spojen s tím, že vliv různých faktorů na expresi MYO D1 není u lidí dostatečně prostudován. Chybí např. positivní kontrola při úplném uvolnení exprese během vývoje svalové tkáně a lze si těžko představit, jak u lidí takové hodnoty o normální produkci MyoD1 během embryogeneze získat. Oproti normální svalové tkáni

dochází u A-RMS pacientů většinou ke zvýšení u E-MRS obvykle také, je třeba si však uvědomit, že není z principiálních důvodů k disposici závislost na odběru vzorku, která může být velká.

DISKUSE je uspořádána přehledným způsobem. Zaměřuje se zejména na užitkovou hodnotu zjištění pro diagnostické potřeby. Z diskuse vyplývá, že dosud používané postupy (stanovení LOH a stanovení eprese MYO D1 v nádoru)nejsou dosti specifické vzhledem k diagnostickým účelům, ke kterým se zatím používají. Zdá se, že exprese MYO D1 by mohla sloužit případně jen pro posouzení a sledování minimální diseminované nemoci, ale i tento závěr podle autorky potřebuje ještě hlubší prověření. Počet vzorků sledovaných kostních dření pacientů s RMS je prozatím ještě malý. ***Nesdílím s autorkouí názor, že její výsledky odpovídají dřívějšímu zjištění, že frekvence LOH směrem od telomery k centromeře klesá***. K tomuto závěru se podle mého názoru nemůže na základě svých výsledků vyjádřit. Jde ale o okrajovou záležitost.

SHRNUTÍ je excelentní, výstižné, střízlivé a stručné. Svědčí o tom, že autorka je schopna racionálně posoudit výsledky své práce a zhodnotit její přínos.

SEZNAM ZKRATEK je podle mého názoru vyčerpávající. Snad je jich používán až příliš velký počet, ale situace odpovídá stavu literatury v dané oblasti.

SEZNAM LITERATURY je napsán bez zjevných chyb a podle nároků na diplomové práce. Najdeme zde i literaturu z roku 2006 , takže se zdá, že jde o zachycení aktuálního stavu.

Závěr: Rozsah práce je dostatečný. Získané poznatky jsou velmi cenné.Autorka prokázala, že umí pracovat s literaturou, naučila se a vhodně použila řadu moderních metod a své výsledky správně interpretovala. Sepsala formálně i obsahově kvalitní práci. Z výše uvedených důvodů vřele doporučuji kladné přijetí práce a výborné ohodnocení.

29.5.2007

Vladimír Vondrejs