

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název diplomové práce: **Kvantifikace genové exprese onkologických biomarkerů chronické lymfocytární leukémie metodou real-time PCR**

Autorka: **Mgr. Zuzana Jurčíčková**

Studentka Mgr. Zuzana Jurčíčková se v rámci své diplomové práce podílela na vývoji diagnostického kitu pro stanovení prognózy chronické lymfocytární leukémie. Jedná se o nevléčitelné hematoonkologické onemocnění, které je, co se týká prognózy pacientů, extrémně variabilní. U některých nemoc probíhá pozvolna a pacienti přežívají i desítky let. U jiných naopak dochází k rychlé progresi choroby, která vede k úmrtí pacienta řádově v měsících od stanovení diagnózy. Stanovení prognózy tohoto onemocnění je proto obzvlášť důležité pro zaujetí adekvátní terapeutické strategie.

Diagnostika a stanovení prognózy onkologických pacientů, na nichž se významně podílejí klinické laboratoře, je dynamicky se rozvíjející odvětví, které vyžaduje užívání rychlých a velmi přesných metodik. K takovým metodikám patří mimo jiné i polymerázová řetězová reakce v reálném čase, využitá v předložené diplomové práci. Problematika, kterou se studentka ve své práci zabývá, je tedy velmi aktuální a má přímý praktický dopad. Z tohoto pohledu považuji diplomovou práci za velmi přínosnou.

Diplomová práce je podle dobrých zvyklostí členěna do kapitol Teoretický úvod a problematika, Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky a Diskuze. V celém textu se vyskytuje minimum gramatických chyb, což je nutné hodnotit jako pozitivum předložené práce. Do teoretické části studentka vhodně zařadila podkapitoly, které popisují klinické i biologické aspekty chronické lymfocytární leukémie, včetně prognostických markerů, využívaných v současné klinické praxi, dále teoretické základy metody kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase, na které je založena vyvíjená diagnostická metodika, a nakonec systém hodnocení kvality diagnostických testů. Cíle diplomové práce jsou definovány stručně a výstižně. Získané výsledky jsou řazeny systematicky a korespondují s vytyčenými cíli diplomové práce. Diskuze je směřována k praktickému využití testované metody s ohledem na její výpovědní hodnotu a tedy přínos pro rutinní diagnostiku.

K diplomové práci mám následující připomínky. Ve zkratkách je pojem „NK buňky“ vysvětlen jako buňky imunitního systému (což je správně), mezi něž patří perforiny a granzymy, což není správně, neboť se jedná o cytotoxické látky produkované těmito buňkami. Teoretická část práce má jisté rezervy v uspořádání literárních údajů. V jednotlivých odstavcích se opakují některé informace několikrát (např. epidemiologické údaje na str. 13-14, imunofenotyp nemoci na str. 16-18), případně chybí logické uspořádání informací (např. kapitola Ribonukleová kyselina, str. 27-28). V metodické části popisující analýzu dat (str. 41-43) nejsou vzorce vysvětleny zcela přehledně a dostatečně; chybí definice veličin uváděných zkratkou (čtenář musí hledat na začátku práce v seznamu zkratk). Popis stanovení efektivity metody real-time PCR je uveden v teoretické části, metodách i výsledcích nejednotně. V grafu 1 (str. 46) chybí popis na ose y.

Přes uvedené formální nedostatky však nutno podotknout, že práci nelze nic vytknout po odborné stránce. Z práce je patrné, že studentka porozuměla zadanému tématu. Praktické zpracování je systematické a vede k jednoznačně formulovaným výstupům. Výsledky práce budou zcela jistě užitečné pro další vývoj uvedené diagnostické metody.

Ke studentce mám tyto dotazy:

1. V klinické praxi se obecně rozlišují dva typy markerů – prognostické a prediktivní. Dokázala by studentka popsat, jaký je mezi nimi rozdíl?
2. Čím je dán detekční limit metody real-time PCR? Jaké jsou možnosti zvýšení tohoto limitu?
3. Jak by měl podle studentky obecně probíhat proces vývoje diagnostické metody? Jaké jsou jednotlivé kroky a úskalí, které musí být při vývoji kitu zohledňovány?

**Na základě výše uvedeného doporučuji diplomovou práci k obhajobě.**

**Vzhledem k formálním nedostatkům ji hodnotím známkou výborně minus.**

V Brně, 22. 5. 2012

*Karla Plevová*

Mgr. Karla Plevová