

Oponentský posudek

na bakalářskou práci **Lenky Riegelové**

Screening rekurentních nádorů močového měchýře pomocí mnohobarevné fluorescenční in situ hybridizace

Práce je biomedicínsky orientovaná a zabývá se aplikací "multicolour" FISH (mFISH) pro diagnostiku maligních nádorů na interfázních jádrech, získaných ze vzorků moče pacientů. Výsledky jsou porovnány s údaji cytoskopického vyšetření s cílem optimalizovat diagnostiku karcinomu močového měchýře na základě citlivosti a specifity obou diagnostických metod. Vlastní práce je napsána pečlivě s minimem překlepů, autorka se však nevyvarovala několika formálních nedostatků, jež uvádím u hodnocení jednotlivých kapitol.

V úvodní části práce podává autorka na 17 stranách velmi zdařilý a ucelený přehled studované problematiky od obecných informací o včetně protoonkognů a tumor-supresorových genů, přes podrobné informace o nádorech močového měchýře, jejich klasifikaci, diagnostice a terapii. K této části mám jenom několik drobných připomínek.

- Na str. 5 chybí odkaz na Obr. 1.
- Přestože zkratky CT a MR u zobrazovacích metod jsou poměrně známé, měly by být vysvětleny v textu.
- Funkce telomerázy na str. 13 je popsána nepřesně nebo spíše nepřesně přeložena z citované literatury; čtenář nabude mylného dojmu, že funkce telomerázy spočívá v ochraně telomery přichycením na konec molekuly DNA, ve skutečnosti však telomeráza pouze nasedá na konec, aby mohla být telomera prodloužena podle templátu, který telomeráza nese. Telomeráza rozhodně nechrání raménka chromosomů před rekombinací, jak je mylně uvedeno!
- Na str. 16 v 1. řádku má být uvedeno „Poulakis a jeho kolegové“ nebo „Poulakis a kolektiv studovali“, nikoliv „Puolakis studoval ...“.

Cíle práce jsou formulovány jasně, ale v oddělených bodech. Osobně dávám přednost uvádění cílů formou spojitěho textu, obvyklou ve vědeckých publikacích.

Kapitola Materiál a metody je psána formou podrobného protokolu a obsahuje všechny informace o prováděných experimentech a způsobech jejich hodnocení včetně počtu vyšetřených pacientů, původu chemikálií, atd. Místy obsahuje až nadbytečné podrobnosti, uvítal bych spíše než tyto detaily vysvětlení, proč byly některé kroky procedur dělány (např. proč bylo používáno předpůsobení proteázou). Naopak oceňuji velmi precizní popis vlastní FISH včetně principu této metody. K této kapitole mám několik doplňkových otázek.

- V kap. 2.2.2. na str. 19 je u centrifugace uvedeno 6G, respektive 4G. Co to znamená? Symbol „G“ je totiž používán pro gravitační konstantu.
- V. kap. 2.2.3. je na Obr. 2 ukázka normálního interfázního jádra po FISH se správným počtem hybridizačních signálů od všech 4 sond. Obrázek dokumentuje precizní provedení vlastní FISH, neboť hybridizační signály jsou perfektní a jejich intenzita odpovídá i proporcím mezi detekovanými úseky DNA, to jest signály tří centromerických sond jsou obrovské ve srovnání s jedno-locusovou sondou. Nezvyklý je pro mě ovšem lobovitý tvar jádra, u diploidních jader bych spíše očekával oválný tvar. Může se k tomu autorka vyjádřit?
- K popisu FISH na straně 22: opravdu jste přikrývala preparát „kouskem“ krycího skla?

V kapitole Výsledky zpracovala autorka data získaná metodou mFISH u úctyhodného počtu 564 pacientů formou koláčových diagramů, sloupcových diagramů a tabulek. Kromě souhrnné úvodní analýzy dat z hlediska typu nádoru, pohlaví a věku pacientů má tato kapitola tři části. V první jsou data detailně zpracována z hlediska citlivosti a specifity mFISH, další 2 části se zabývají srovnáním diagnostického potenciálu mFISH s cytoskopickým vyšetřením. Má pouze tyto formální připomínky:

- Na str. 26 a 27 chybí v textu odkazy na koláčové diagramy na Obr. 5 a Obr. 6.
- Od str. 28 přešla autorka z číslování obrazových příloh formou Obr. X na Graf č. Y, což neopovídá standardnímu značení ve vědeckých pracích. VŠECHNY obrazové přílohy by měly být uváděny jednotně formou Obr. X!

V části Diskuze autorka celkem zbytečně opakuje některé statistické údaje z kapitoly Výsledky, většina této kapitoly je ale věnována srovnání citlivosti a specifity mFISH s invazivním cytoskopickým vyšetřením a srovnání vlastních výsledků s výsledky jiných autorů. K diskuzi nemám žádné konkrétní připomínky, naopak oceňuji objektivnost a kritičnost s jakou autorka hodnotí použitelnost a význam obou metod pro diagnostické účely.

Doplňkový dotaz k práci:

- Mezi vyšetřovanými pacienty výrazně převažovali muži, což je v souladu s literárními informacemi v úvodu práce, že u mužů je rakovina močového měchýře čtvrtou nejčastější rakovinou, zatímco u žen až desátou. Existuje nějaké vysvětlení, proč tomu tak je?

Z á v ě r

Předložená práce nepochybně splnila předem dané cíle, kromě zavedení moderní doplňkové metody mFISH na pracovišti školitele přinesla i jednoznačné a dobře podložené závěry o spolehlivosti a specifitě mFISH pro detekci nádorů močového měchýře a významně tak rozšířila diagnostické možnosti pracoviště. Moje připomínky jsou výhradně formálního charakteru. Práce splňuje požadavky kladené na bakalářské studium a doporučuji ji k úspěšné obhajobě.

V Českých Budějovicích, dne 1.6.2006



František Marec

OPONENTNÍ POSUDEK BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Autor: Ing. Lenka Riegelová

Název práce: **Screening rekurentních nádorů močového měchýře pomocí mnohobarevné fluorescenční in situ hybridizace**

Oponent bakalářské práce: RNDr. Magdalena Uvírová
CGB laboratoř spol. s r.o.
Laboratoř lékařské genetiky
Kořenského 10
703 00 Ostrava

Předkládaná práce v rozsahu 42 stran je rozčleněná do šesti základních kapitol dále dělených do hierarchicky řazených podkapitol obsahujících grafy a barevné fotografie. Rozdělení odpovídá požadavkům na bakalářskou práci a dobře logicky navazuje. V úvodu postrádám souhrn bakalářské práce v němž by byla stručně a výstižně shrnuta její podstata a dosažené výsledky. Také by bylo vhodné zařadit klíčová slova.

První kapitola práce se zaměřuje na teoretické shrnutí základních poznatků v rámci zpracovávané problematiky se zaměřením na onkogenezi, etiologii, histologické hodnocení nádorů močového měchýře a klinicko-onkologický přístup k terapii močového měchýře. Autorka využívala vhodných literárních pramenů, dostatečně aktuálních. K této kapitole mám pouze drobné připomínky:

str. 3 ř. 2 : pobřišnice není silná

str. 4, odst. 2: u rizikového faktoru kouření bych doporučovala zmínit věk při počátku kouření- významná je hranice 15 let, kdy dochází k vyžívání epitelu

str. 5, klasifikace nádorů: T není někdy označována jako pT.

T je klinická klasifikace a pT je patologická klasifikace, nelze jedno označení nahradit druhým.

Str. 17: k prognostickým faktorům doporučuji zařadit také histologický typ nádoru. V případě papilární léze je dobrá prognóza, v případě ploché léze špatná prognóza

V kapitole 2. Materiál a metody velice přehledně a podrobně autorka popisuje použitou metodiku při provádění vyšetřování, počínaje odběrem vzorku, transportem a zpracováním vzorku. Vlastní metodu FISH uvádí s vyčerpávající teoretickou částí, věnující se principu fluorescenční in situ hybridizace, chromozomálními aberacím buněk karcinomu močového měchýře a s tím souvisejícímu výběru diagnostického kitu. V další, praktické části bakalářské práce, následuje vlastní postup metody FISH, který je zavedený v Laboratoři molekulární biologie a genetiky v Nemocnici České Budějovice, a.s., který mírně modifikuje doporučený postup výrobce diagnostického kitu, avšak vzhledem k vysokému počtu vyšetřených pacientů je zřejmé, že je velice vhodně zvolen pro rutinní diagnostiku rekurence karcinomu močového měchýře.

Velmi zajímavá je podkapitola 2.3 Strategie hodnocení. V této kapitole je popsán velice aktivní přístup autorky k analýze zhotovených preparátů ve fluorescenčním mikroskopu. Strategie je rozdělena do 4 přístupů ke stanovení patologického nálezu FISH I – FISH IV. Jsou zde zhodnoceny jak přínosy jednotlivých typů hodnocení, ale také ,s naprostou otevřeností, jejich negativa. Rozdíly ve výsledcích vyplývající z jejich použití jsou pak dále uvedeny v podkapitole 3.1 Výpočet senzitivity a specifity.

Ke kapitole 2. mám pouze drobnou připomínku:

Str. 18, odběr moče: není uvedena transportní a skladovací teplota, která může ovlivnit kvalitu odebraných vzorků a při nesprávném skladování může dojít ke znehodnocení

V kapitole 3. Výsledky jsou popsány výsledky úctyhodného souboru 569 vyšetřených pacientů. V této části práce je velice pečlivě zpracovaná analýza dosažených dat a to z hlediska histologické klasifikace nádoru v době diagnózy, věkového rozložení pacientů, dále srovnány diagnostické metody cystoskopie a /versus FISH. Kapitola je doplněna velice srozumitelnými a dobře zvolenými grafy a tabulkami.

Vzhledem k tomu, že se jedná s největší pravděpodobností o největší soubor pacientů vyšetřených kitem UroVysion v České republice, domnívám se, že by bylo vhodné statistické zpracování.

V Diskusi pak autorka hodnotí dosažené výsledky ve srovnání s literárně uváděnými údaji a diskutuje použitelnost metody, jednotlivé analytické přístupy a také nastiňuje možnosti další mezioborové spolupráce urologů a genetiků.

V Závěru je pak stručně zhodnocen přínos jednotlivých vyšetřovacích metod.

Seznam literatury je zapsán standardním způsobem.

Autorka při zpracování práce postupovala systematicky a s velkou mírou pečlivosti. Vyčerpávajícím způsobem zpracovala zadané téma, jak po stránce teoretické, tak praktické. Výsledky mohou být použity pro další volbu strategie při vyšetřování rekurence karcinomu močového měchýře .

Z obsahu a zpracování práce jednoznačně vyplývá, že autorka naprosto porozuměla principům metody a pracovala samostatně.

Textová část je přehledná a předkládaná práce splňuje požadavky kladené na závěrečnou práci bakalářskou. Tuto práci doporučuji k obhajobě.

V Ostravě dne 26.5.2006

Magdalena Uvírová