



POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU/DIPLOMOVOU* PRÁCI

Autor práce: Bc. Kristina Řežábková

Název práce: Analýza vybraných genových polymorfismů a její význam pro individualizovanou farmakoterapii

Školitel práce: Mgr. Dagmar Riegert Bystřická, Ph.D.

Oponent práce: RNDr. Ján Štěrba, Ph.D.

Pracoviště oponenta: Ústav chemie, PŘF JU

	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY		
Celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	3
Kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	3
Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratek časopisů)	0-3	2
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	1
Úroveň souhrnu/annotace (i v angličtině)	0-3	3
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	2
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	2
Formální požadavky – body celkem		16
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
Splnění cílů práce	0-3	3
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	3

* Nehodící se škrtněte

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte jenom (1) Formální požadavky, u experimentálních prací i (2) Věcné požadavky a u prací v cizím jazyce i (3) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0-3	2
Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	2
Experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	3
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	3
Aktuálnost použitých metod	0-3	3
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	3
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		25
(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE		
Jazyková a stylistická úroveň	0-3	-
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)	48₂	41₃

Komentář oponenta:

Farmakogenetika je díky rostoucím možnostem sekvenování nukleových kyselin a postupně se snižujícím cenám NGS analýz stále aktuálnější, což je podporováno i rostoucím počtem studií popisujících vliv polymorfismů a mutací v genech zodpovědných za biotransformaci na průběh léčby. V tomto ohledu je proto práce Bc. Řežábkové „Analýza vybraných genových polymorfismů a její význam pro individualizovanou farmakoterapii“, vysoce aktuální a nutno říct, že vzhledem k relativně vysokému počtu vyšetřených pacientů a vhodnosti použitých metod je i přínosem v oboru. Předpokládám, že v budoucnu společně se školitelkou Dr. Riegert Bystřickou zpracují tyto data i do formy publikace.

Práce je obsáhlá (má 94 číslovaných stran) a autorka zpracovala údaje z 201 referencí, čímž odpovídá i review článku. Nutno podotknout, že seznam literatury, obrázků a tabulek společně s přílohami tvoří třetinu rozsahu práce.

V práci se objevuje velké množství překlepů a chyb, anglikanizmy (epinefrin, norepinefrin a dokonce norepinephrin), některé vzniklé nesprávným překladem („Věk je velmi vlivným faktorem ...“, „... jsou také dobře zavedenými substráty CYP2C9“; „Termínem metabolismus se označuje proces enzymaticky katalyzované přeměny chemikálií z jedné chemické skupiny na druhou.“), popř. automatickými opravami MS Office bez dodatečné kontroly (napipetovány vs. nepipetovány). Objevují se záměny termínů za nesprávné (gen vs. alela), popř. latinské názvy nejsou psány kurzivou. V práci se objevuje laboratorní žargon (vzorky byly stočeny; dyslipidemii charakterizuje zvýšení plazmatického cholesterolu ...; elektroforéza byla spuštěna na 135 V ...). Dále pokud v textu zvedeme zkratku (CYP, COMT), ta bychom ji měli používat. Zkratky by se měly psát správně, obzvláště zkratky molekulárně biologických metod v práci zaměřené na molekulárně biologické metody – viz RFLP PCR vs. PCR-RFLP (str. 34).

Uvítal bych spíše diskuzi zastoupení jednotlivých alel zkoumaných genů v populaci než jejich

² Vyberte jednu z hodnot: 48 bodů pro experimentální práce, 51 bodů pro experimentální práce v cizím jazyce

³ Zadejte počet přidělených bodů.

efekt. U pacientky H. R. je diskutován její genotyp u jednotlivých genů v příloze – tato část by se hodila spíše do kapitoly Diskuze. V této kapitole se zamýšlíte nad nevýhodami celogenomového vyšetření z hlediska etiky, zákonů atd. – chybí ale reálné informace z jednotlivých států, např. legislativa EÚ, USA atd.

Mám ještě obecnou připomínku k názvu práce, což je ale spíš připomínka pro školitelku než autorku samotnou. Správnější název by asi byl: Analýza vybraných genových polymorfismů a **jejich** význam pro individualizovanou farmakoterapii.

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě. Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

- 1) Úvod: „ 30-60 % běžné lékové terapie probíhá úspěšně a nežádoucí účinky léků zapříčiní zhruba 7 % všech hospitalizací“. Tato informace není odzdrojována – informace se vztahuje k ČR anebo globálně a pro všechny skupiny léků?
- 2) Str. 9 mohla by autorka vysvětlit následující text z magisterské práce? „extenzivní metabolizátory (EM) nesoucí dvě kopie funkčních genů (nebo kombinace dvou funkčních genů a nefunkční alely nebo jednoho funkčního genu a dvou alel se sníženou funkcí)“
- 3) Tab. II – není to spíš obrázek (sama autorka píše v popisku – Grafické znázornění ...)? Je popisek tabulky/obrázku správný? Poprosil bych také o doplnění popisku osy y.
- 4) Mohla by autorka vysvětlit větu „Je terapeuticky zajímavý jednak pro svou roli přispívající k vysoké mezistupňové variabilitě požadavků na kumarinovou antikoagulační dávku, tak i pro jeho roli potenciálního hráče při poruchách vyvolaných nedostatkem vitamínu K“ (Str. 17)?
- 5) Autorka na straně 19 tvrdí, že „UGT neprokázaly farmakogenetickou významnost“. Skutečně nebyly popsány genetické vlivy na metabolismus léků u lidí u tohoto enzymu?
- 6) str. 19 Enzymy UGT8 hrají roli v nervovém systému, kde využívají UDP-galaktózu na galaktosidásové ceramidy – může to autorka objasnit?
- 7) Tabulka III a IV – proč je kyselina acetylsalicylová uvedena v Tab. III dvakrát? A podle jakého klíče byly určeny léčiva, kterých metabolismus je ovlivněn geneticky (Tab. IV)? Podle dostupných zdrojů je jich geneticky ovlivněných víc.
- 8) Kapitola o Rosuvastatinu (str. 30) je nepřehledná a nesrozumitelná, mohla by to autorka při obhajobě sumarizovat jasnějším způsobem?
- 9) V práci je mnohokrát zmíněná spolupracující laboratoř BIOCEV – není ale specifikována, která laboratoř to je.
- 10) U běžného laboratorního vybavení není potřeba popisovat přesný model a výrobce, pokud to uděláte, tak by bylo vhodné napsat správně název firmy (str. 34). Naopak u polymerázy by výrobce uveden měl být – mohla by jej autorka uvést? Špatně je uveden také název fluorescenčního barviva a není u něj uveden výrobce (str. 37) – mohla by autorka při obhajobě doplnit správné informace?
- 11) Kapitola 10 – jak a proč byly vybrány geny MTHFR a NQO1?
- 12) Mohla by autorka vysvětlit zkratky VKORC/VKORC1? Co je LIČ?
- 13) Mohla by autorka vysvětlit „čas byl individuálně přizpůsoben dle viditelnosti PCR produktů“ u elektroforetické separace?
- 14) Str. 38, restriční štěpení – jaký byl důvod použít jako konečný objem 33 ul, což je dost nestandardní číslo?
- 15) Str. 38 – jaká byla výhoda použití nebarveného gelu pro analýzu PCR-RFLP fragmentů?
- 16) Str. 40 – je si autorka jistá definicí real-time PCR, která je uvedena v práci? Který model LightCycler-u byl použit?
- 17) Str. 44 – co jsou streptavidinu-alkalinové fosfatázy?

Poznámky, na které není potřeba odpovídat:

Str. 4 „Ten patří mezi léčiva, k jejichž metabolismu a eliminaci významně přispívá charakter mikrobiomu, který bakteriálně zprostředkovává snížení jeho dávky.“ Vhodné by bylo víc vysvětlit souvis s mikrobiomem, třeba *Eggerthella lenta*.

Str. 10 u CYP1A1 a CYP1A2 píše autorka o exonech i intronech, u CYP1B1 pouze o exonech – předpokládám, že introny se v tomto genu vyskytují také.

Nomenklatura SNPs, autorka na jednu stran píše, že nebyla dosažena shoda, na druhou stranu píše o standardním označení (rs + unikátní číslo). Pokud není shoda, tak nemůže být ani standard. Toto označení je standardem u jedné z databází, osobně preferuji styl HGVS – je víc informativní a autorka jej také v některých případech používá.

Kapitola Volně prodejné léky. U některých volně prodejných léků, především u některých určených pro dětské pacienty, je dávkování dáno také hmotností pacienta (ibuprofen, paracetamol, loperamid ...). U účinné látky ibuprofen jsou dostupné také výrobky určené pro děti.

Kapitola Tramadol a paracetamol – chybí informace, že hlavní metabolit tramadolu vytvářený enzymem CYP2D6 je aktivnější.

Kapitola 10.1 je nazvána Analýza dat, nepopisuje ale analýzu dat. Možná analýza vzorků?

Kvalita obrázků barvených elektroforetických gelů a viditelnost proužků je často nedostatečná.

Chybějící reference v seznamu literatury Stevems et al. 2008 a nesprávně použité citace (Kinirons et al. 2004). Str. 12 citace [online]. Hein et al. 2000 je sborník z konference. Pokud jsou reference řazené v seznamu literatury abecedně, tak se nečísluje. U NCBI Bookshelf je správná forma citování uvedena přímo na stránkách (ref. 4). V seznamu literatury se objevuje mnoho chyb, které jsou pravděpodobně způsobené používáním citačního SW bez následné kontroly. V angličtině se první písmena názvů (např. časopisů) píšou velkými písmeny. Je možné tak psát velkými začátečními písmeny i název článku, pak se to ale musí dělat v celém seznamu literatury, ne pouze u některých referencí.

Závěr:

I když se z množství komentářů a otázek může zdát, že práci vnímám jako nekvalitní, opak je pravdou. Práce splňuje požadavky na kvalifikační práce na PŘF JU a proto ji

d o p o r u č u j i / ~~n e d o p o r u č u j i~~*

k obhajobě, o známce se rozhodnu po obhajobě.⁴

V Českých Budějovicích dne 7. 7. 2020.

.....

podpis

⁴ Je možné navrhnout známku s tím, že navržená známka může být upravená při obhajobě (pokud se oponent nezúčastní obhajoby, v posudku navržená známka se do výsledné známky nezapočítává). Znamky: výborně (1), velmi dobře (2), dobře (3), nevyhověl (4).

