

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
RNDr. Iveta Mendlíková, Ph.D.

Datum:
30.8.2024

Autor: Bc. Daniela Frolíková

Název práce: Frekvence a význam aberací chromosomu 17 u dospělých nemocných s myelodysplastickými syndromy (MDS)

Cíle práce

Cílem práce bylo provést detailní cytogenomickou analýzu nebalancovaných aberací chromosomu 17 u dospělých nemocných s různými subtypy myelodysplastických neoplázií. Sledovat jejich asociaci s delecemi/mutacemi/LOH genu *TP53*, posoudit jejich vliv na klonální vývoj, progresi onemocnění a porovnat jejich frekvenci a význam u primárních a sekundárních MDS.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 83

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova: ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? 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

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 5 – konvenční cytogenetická analýza, FISH, mFISH/mBAND, array CGH/SNP array, NGS

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? Dokumentace výsledků je střídá, pro přehlednost a názornost by mohla být více a lépe zpracována. Vzhledem k částečnému klinickému zaměření studie, bylo by vhodné uvést i jednotlivá klinická data nemocných (primární/sekundární typ, přežití).

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

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? ANO

Závěry (Souhrn):

Jsou výstižné? ANO

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

V práci je uvedeno 14 tabulek. Dvě mají stejné označení tab.2, odkazy v textu tak odpovídají jiným tabulkám.

Text je doplněn 14 obrázky, na první 3 z nich ale v textu opět nefungují odkazy.

(str.16 – odkaz na ideogram chromosomu 17 na obr. 3, ten je ale na obr. 1, str. 19 - odkaz na obr.1, ale odpovídá obr. 2. a str. 21 – odkaz na obr. 2, ale odpovídá obr. 3)

Součástí práce je také 6 grafů.

Stylistická a jazyková úroveň je dobrá, někdy se objevují nejednotné výrazy (chromosom – chromozom, leukemie – leukémie, neoplásie - neoplázie), překlepy, chybí závorky nebo slovo.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Stanovené cíle diplomové práce byly splněny. Pomocí molekulárních a molekulárně cytogenetických metod byly podrobně analyzovány abnormality chromosomu 17. Byly určeny konkrétní typy aberací a chromosomové pruhy, v nichž k nim došlo. Byl stanoven rozsah změn a zhodnocen výskyt delece/mutace/LOH genu *TP53*. Přestože statistické analýzy neprokázaly signifikantní rozdíly v délce přežití stanovených skupin nemocných, bylo možné pozorovat jistý trend. Ten by potvrdil větší soubor nemocných, který nelze získat za období diplomové práce.

Práce obsahuje určité nedostatky a zbytečné chyby, někdy spíše z nepozornosti.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky:

- 1) str. 9, druhý řádek – nesprávně uvedeno: Delece krátkých ramen chromosomu 7 ... byly označeny za nálezy se střední prognózou - jedná se o dlouhá ramena chromosomu 7.
- 2) str.14, v části věnované deleci dlouhých ramen chromosomu 20 – by bylo vhodné zmínit i *ASXL1* gen. Je sice zmíněn v molekulárních změnách, klinicky zásadní se ale jeví i jeho účast při deleci 20q viz studie na níž se podílelo i školící pracoviště: *ASXL1 gene alterations in patients with isolated 20q deletion*. Brezinova J et al *Neoplasma*. 2019 Jul 23;66(4):627-630.
- 3) šestkrát špatná lokalizace genů:
str. 20 – SF3B1 na 2p – správně 2q33.1
SRSF2 na krátkém rameni v oblasti 17q25 – jedná se o dlouhé rameno
U2AF1 do 22q22 – správně 21q22.3
str. 21 – DNMT3A do 2p33 – správně 2p23.3
TET2 do 4q44 – správně 4q24
IDH1 do 2q33 – správně 2q34
- 4) str. 32 – správné označení kitu je 24XCyte (vs XCyte24).
- 5) str. 34 – nepřesně popsáno: ... buňky jsou na podložních sklech, ... hustota buněk ... - jedná se již jen o jádra, nikoliv o celé buňky.
- 6) str. 36 – je uvedeno, že se pro FISH analýzu ředí sondy Abbott Molecular

centromerickým pufrům – jedná se o hybridizační pufr, ten podle typu sondy může být určen buď pro lokus-specifické či centromerické sondy.

- 7) str. 48 (opakováno na str. 59) - chromosom 11 je označen jako chromosom, který nevstupoval do translokace s chromosomem 17, ale z výpisu translokačních partnerů hned za tímto tvrzením je zřejmé, že byl zahrnut dvakrát. Nejčastějším partnerem dle výsledků by měl být chromosom 19, nikoliv 9, jak je popsáno. Frekvence translokačních partnerů má být znázorněna v grafu 2, s popsanými frekvencemi v textu se však se neshodují (pro chromosomy 5, 21, 11, 1). V grafu 2 pro zobrazení počtu případů není nutné dávat y-osu s označením polovin.
- 8) str. 52 ... Celkem 27 pacientů (72,9 %) mělo metodou I-FISH prokázanou delecí oblasti 17p13 ... na str. 55 je těchto pacientů 28 - ... V první skupině byli nemocní s prokázanou delecí (n=28) ...
- 9) u pacienta č. 25 bych zvažila, zda ho zařadit do skupiny nemocných s aberací obou homologních chromosomů – když se jednalo o nadpočetný chromosom, se zachovaným jedním normálním chromosomem 17.
- 10) v přílohové tabulce by bylo přehlednější, kdyby bylo uvedeno i přežití a jednotlivé odběry se odlišily i datem – pacient č. 26 má 3. a 4. odběr se zcela totožným nálezem i na počet mitos – vzbuzuje dojem zda to není jen omylem zkopírováno.
- 11) příloha – mělo by být uvedeno dle čeho byl popis karyotypu sestaven (není ani uvedeno v metodách), pravděpodobně se jednalo o nomenklaturu ISCN 2020. V tomto případě se (kromě překlepů) vyskytují v zápisech drobné chyby jako:
 - opomenutí zkratky cp před počtem mitos při popisu kompozitního karyotypu (vícekrát)
 - popis normálního nálezu by měl následovat za patologickými (pacient č. 17, 1.odb.)
 - aberace pohlavního chromosomu by měla předcházet ostatní (pacient č. 10)Také by se patřilo uvést v popisu 4. a 5. sloupce o jakou metodu se jednalo. Lze si domyslet, že zkratka ND bude znamenat "neděláno/neprovedeno", ale bylo by vhodnější jí zařadit do vysvětlivek.

Otázky:

- 1) ve výsledcích na str. 48 ... Balancované translokace byly popsány u čtyř nemocných (10,8 %) ... pruhy 17q11.1 (n=2), 17q10 (n=1), 17q25 (n=1) a v jednom případě nebylo možné místo zlomu určit.
V diskusi na str. 59 je již pacient nejspíše zahrnut do zlomů v oblasti - 17q11.1 (n=3), 17q10 (n=1) a 17q25 (n=1). Může být tato neshoda vysvětlena?
- 2) Několikrát je v práci zmíněn – „počet změn v karyotypu“, ale není definován, co je bráno jako 1, 2 či více změn – z čeho autorka vycházela?
- 3) str. 52 Velikost patologického klonu, stanovená metodou I-FISH, se pohybovala v rozmezí od 1 % do 91,5 % ... nebyla stanovena/použita cut-off level? Pokud byla, měla by být také zmíněna v kapitole o použitých metodách.
- 4) V práci byla použita řada metod, mohla by autorka blíže specifikovat, na kterých výsledcích se přímo podílela?

Návrh hodnocení oponenta

výborně X- velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: