

# UNIVERSITA KARLOVA

## 2. lékařská fakulta

Ústav biologie a lékařské genetiky FN Motol a UK 2.LF

V úvalu 84, 150 06 Praha 5

*Přednosta: prof. MUDr. Milan MACEK, DrSc.*



Telefon: +420 2 2443 3501

Fax: +420 2 2443 3520

E-mail: milan.macek.jr@lfmotol.cuni.cz

### POSUDEK NA BAKALÁŘSKOU PRÁCI BRONISLAVY POLEJOVÉ (SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ – OBOR ZDRAVOTNICKÝ LABORANT): VYŠETŘENÍ MIKRODELEČNÍCH SYNDROMŮ METODOU FISH

Předložená bakalářská práce byla zadána v roce 2007 a vznikla pod mým vedením na Ústavu biologie a lékařské genetiky UK 2.LF v roce 2008. Některé dílčí práce a konzultace proběhly také v cytogenetické laboratoři Pronatal (pod vedením RNDr. Marcely Kosařové) a v genetické ambulanci MUDr. Miloslava Kuklíka, CSc.

Ústředním tématem a současně i názvem práce je vyšetření mikrodelečních syndromů metodou FISH. Práce má celkem 82 stran; obsahuje 16 tabulek, 34 obrázků (15 převzatých obrázků, 15 fotografií, 4 grafy) a 1 kombinovanou přílohu (dokumentující použití přístroje ThermoBrite). Je členěna klasickým způsobem na úvodní teoretické pasáže (kapitoly 2 a 3), experimentální část (kapitoly 4 a 5), výsledky (kapitola 6), diskuzi (kapitola 7) a závěr (kapitola 8). V části 9 uvádí pisatelka seznam použité literatury. Cituje celkem 46 informačních zdrojů, z nichž většinu tvoří články z odborných časopisů a internetové zdroje.

Ústředním tématem práce je problematika molekulárně cytogenetického vyšetření mikrodelečních syndromů. Jde o tematiku, která má velký význam pro genetické poradenství, neboť mikrodelece patří k nejčastějším chromozomovým aberacím s klinicky závažným fenotypem. Metoda FISH, kterou autorka prakticky vyzkoušela i detailně popsala ve své práci, zůstane zřejmě nadlouho jednou ze základních diagnostických metod sloužících k diagnostice těchto chromozomových abnormalit (třebaže, jak je také uvedeno v práci, bude stále častěji kombinována s novými molekulárněbiologickými metodami).

V úvodní části autorka nejdříve shrnuje základní poznatky z klinické cytogenetiky se zaměřením na strukturu a význam některých chromozomů. Od subkapitoly 2.4 dále se věnuje mikrodelečním syndromům, které stručně charakterizuje po klinické stránce. Kapitola 3 uvádí přehled všech laboratorních metod, které slouží ke studiu chromozomů. Autorka začíná metodami mikroskopickými, ale nezapomněla ani na moderní perspektivní metody, jakými jsou array CGH a MLPA.

Praktická, resp. experimentální část začíná vytyčením základních cílů práce, které byly stanoveny při jejím zadání. Dále autorka podává přehled všech 91 vyšetřených pacientů, kteří byli ve druhé polovině roku 2007 a v první polovině roku 2008 indikováni k analýze mikrodelece. V následujících pasážích jsou podrobně popsány metodické postupy při kultivaci buněk a při základním, resp. molekulárně cytogenetickém vyšetření chromozomů. Autorka tyto postupy prakticky vyzkoušela nejen v laboratoři ÚBLG UK 2.LF, ale také v laboratoři centra reprodukční medicíny Pronatal. Získala tak nejen praktické zkušenosti, ale i možnost srovnání různých laboratorních protokolů a přístrojů (v závěru své práce se pak blíže zabývá rámcovým srovnáním počítačových systémů LUCIA a Metasystems užívaných k analýze chromozomů).

Kapitola 6 věnovaná výsledkům začíná ukázkami výsledků základního cytogenetického vyšetření, které však, jak autorka potvrzuje, mají při diagnostice mikrodelečních syndromů jen okrajový význam. Druhá část je pak věnována tabelárně i fotograficky zpracovaným výsledkům všech pacientů metodou FISH s lokus specifickými sondami. Autorka dokumentuje i úspěšnou aplikaci v laboratořích dosud téměř nepoužívané sondy sloužící k diagnostice vzácné delece chromozomu 10p14.

V diskusi (kapitole 7) autorka shrnuje a zčásti i kriticky hodnotí nashromážděné výsledky, které srovnává s literárními údaji. Kromě metodických aspektů, na které již upozorňuji v předchozích odstavcích, se snaží vyhodnotit i údaje o fenotypu pacientů. V závěru blíže komentuje i jeden (jako kasuistika bezpochyby zajímavý) pozitivní familiární záchyt mikrodelece chromozomu 22q11.2. Ve shodě s literárními údaji konstatuje autorka velkou variabilitu fenotypových projevů, která je charakteristická zejména pro mikrodeleci chromozomu 22q11.2. Všechny základní výsledky práce jsou shrnuty v závěru (kapitole 8).

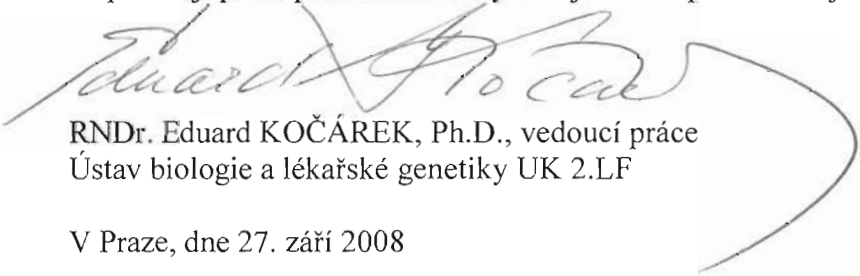
Kolegyně Polejová měla ke své práci vyhrazen jen krátký časový interval: reálně sotva půlrok. Je jasné, že tento časový rámec nestačí k tomu, aby bylo získáno více údajů, z nichž by bylo možné vyvodit obecnější, v odborném periodiku publikovatelné výsledky. Toho si je uchazečka dobře vědoma a uvádí to také v diskusi.

Práce kolegyně Polejové napomohla k řešení grantového projektu IGA NR/9457-3, který bude na ÚBLG v příštím roce završen. Svůj praktický význam má i ověření komerčně dodávané sondy určené k detekci mikrodelece chromozomu 10p14 (byť zatím jen na vzorcích od dvou pacientů) a srovnání dvou do laboratoří nejčastěji dodávaných počítačových systémů používaných k analýze chromozomů.

K práci nemám závažnější výhrady. Poněkud diskutabilní může být až příliš široký všeobecný úvod a ne zcela standardní rozlišování obrázků na „graf“, „foto“ a „obrázek“ (a s tím související i oddělené číslování). V experimentální části by jistě stálo za úvahu blíže klinicky charakterizovat i ty pacienty, u nichž delece nakonec prokázána nebyla. Literární prameny uvedené v závěru práce jsou sice citovány správně, avšak nejednotně (např. u citace 1 je uveden rok zadání hned za jménem autorky, u dalších citací až v závěru).

Navzdory obtížím, které poznamenaly práci zejména v počátečních fázích (dlouhodobá hospitalizace slečny Polejové po úrazu a nutné získání základních zkušeností s prací v genetické laboratoři), jsem přesvědčen, že výsledek představuje maximum možného a vypovídá o tom, že si úspěšně osvojila základní cytogenetické a molekulárně cytogenetické metody a umí interpretovat jejich výsledky. Z tohoto hlediska mohu konstatovat, že zadání a účel práce byly naplněny.

Doporučuji proto práci Bronislavy Polejové k úspěšné obhajobě.



RNDr. Eduard KOČÁREK, Ph.D., vedoucí práce  
Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2.LF

V Praze, dne 27. září 2008