

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: **Bc. Lenka Burešová**

Název práce: **Stanovení hladiny AFP v plodové vodě imunoturbidimetrickou metodou**

Shrnutí:

Tématem předkládané diplomové práce je stanovení alfa-1-fetoproteinu (AFP) pomocí imunoturbidimetrie s využitím polyklonálního antiséra proti tomuto proteinu.

Studentka v první kapitole své práce zevrubně rozebírá protein AFP z hlediska jeho fyziologické role v organismu, dále jsou rozebrány strukturní varianty, způsoby exprese i secernace tohoto proteinu na buněčné úrovni. Druhá část této kapitoly je věnována významu AFP v klinické praxi. Je předložen podrobný chronologický přehled týkající se poznatků a využití AFP pro medicínskou diagnostiku. Jsou rovněž rozebrány hladiny AFP spojené s různými patologickými stavy plodu v průběhu těhotenství (např. Downův syndrom, defekty neurální trubice atd.). Také je zmíněna využitelnost proteinu AFP jako tumorového markeru.

Druhá kapitola se zabývá imunochemickými metodami, které jsou vhodné a použitelné pro stanovení hladiny AFP. Jsou podrobně popsány některé metodiky, včetně ilustrativních schémat a obrázků (např. radiální imunodifúze, ELISA, chemiluminiscence, RIA atd.). Zvláštní pozornost je v rámci této kapitoly upřena na imunoturbidimetrii – je popsán princip metody, je rozebrána imunoprecipitační křivka, volba vhodné vlnové délky při měření a jsou zmíněna také některá rizika a omezení spojená s touto metodou.

Třetí a nejrozsáhlejší kapitola poté popisuje vlastní aplikaci imunoturbidimetrie na stanovení hladiny AFP. Je podrobně popsáno použité přístrojové vybavení a použitý materiál. Je popsána příprava použitých pomocných roztoků a rovněž způsob odběru, přípravy a skladování vzorků plodové vody, ve kterých byla provedena následná stanovení hladiny AFP. Následuje pasáž, ve které je rozebrána optimalizace zvolené metody – tj. např. nalezení vhodného světelného zdroje, vhodného ředění specifického antiséra a sestavení použitelné kalibrační křivky (s využitím standardů o známe koncentraci AFP). Text je doplněn ilustrativními grafy. Poté je popsán vlastní pracovní postup pro přípravu vzorků a pro provedení jednoduché radiální imunodifúze (RID) a dvojité radiální imunodifúze. Jsou uvedena použitá zařízení a chemikálie + antiserum proti AFP. Poslední část této kapitoly poté srovnává imunoturbidimetrickou metodu a RID pro stanovení hladiny AFP. Pozornost se zaměřuje na nutnost kalibrace při stanovení pomocí RID, na skupině vzorků je rozebrána intra a inter-assay z hlediska aritmetického průměru, směrodatné odchylky a variačního koeficientu. Pro imunoturbidimetrické stanovení byla navíc pomocí parametru výtěžnosti sledována linearita testu a byla stanovena mez detekce a mez stanovitelnosti. Důležitým závěrem je poté srovnání obou zvolených metodik (RID a imunoturbidimetrie), kdy byla např. použita Passing-Balbockova metoda nebo Bland-Altmanův graf. Bylo konstatováno, že mezi oběma metodami je poměrně dobrá míra korelace, jak ukazují např. parametry přesnosti a správnosti měření. Z tohoto úhlu pohledu lze tedy považovat imunoturbidimetrii za vhodnou metodu pro stanovení AFP v plodové vodě.

Čtvrtá kapitola je pak věnována možnosti praktického využití navrženého počítačového programu, který je schopen na základě vložených údajů nalézat potenciálně patologická těhotenství. Je popsán navržený algoritmus a použité uživatelské rozhraní.

Na konci práce je poté stručná diskuze a závěr diplomové práce. Následuje seznam použité literatury a rovněž je přiložen zdrojový kód navrženého počítačového programu (viz. kapitola 4).

Předkládaná diplomová práce byla hodnocena v těchto jednotlivých aspektech:

Rozsah diplomové práce (DP) a její členění:

Rozsah DP je přiměřený, odpovídá charakteru DP, členění je logické, přehledné. Poněkud kratší je závěrečná diskuze a závěr DP.

Odborná správnost:

Velmi dobrá, pouze ojediněle lze nalézt určité nejasnosti ve výkladu

Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů:

Bez připomínek, počet citací odpovídá charakteru DP, všechny převzaté údaje jsou citovány.

Jazyk práce:

Velmi dobrý, místy určité stylistické neobratnosti, několik málo gramatických chyb.

Formální a grafická úroveň práce:

Velmi dobrá, pouze občas nejednotnost formátování, překlapy, na konci řádků ponechané spojky a předložky atd. U některých obrázků se prolíná legenda v anglickém a českém jazyce (např. str. 22, 28).

Dotazy k obhajobě:

Bylo zvažováno využití navrženého počítačového programu i pro abnormálně nízké hladiny AFP? Existují zde v tomto směru nějaká omezení spojená s vlastní imunoturbidimetrickou metodou (např. citlivost metody)?

Byla zvažována možnost zvýšení citlivosti imunoturbidimetrie např. použitím latexových partikulí?

Celkový návrh:

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení.

Navrhovaná celková klasifikace: **velmi dobře**.

Datum vypracování posudku: 22. 5. 2012

Jméno a příjmení, podpis oponenta:


Mgr. **Aleš Pernický**



Pracoviště oponenta:

Sevapharma a.s.

Průmyslová 1472/11

102 19 Praha 10