

## Oponentní posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Ivy Fornbaumové: Studium protinádorového působení viru Langat

Studentka oboru Klinická biologie Iva Fornbaumová předložila k obhajobě magisterskou diplomovou práci, která se zabývá testováním protinádorového účinku viru Langat s využitím melanomového modelu u dospělé laboratorní myši. Práce navazuje na dřívější studie z 50. a 60. let minulého století, kdy byly viry komplexu klíšťové encefalitidy používány experimentálně k léčbě nejrůznějších nádorových onemocnění u člověka. V současné době se pozornost k virům coby onkolytickým agens znovu navrácí a zaměřuje se především na konstrukci geneticky pozměněných virových mutant, majících vysoký onkolytický potenciál ale současně minimální účinek na nenádorovou buňku. Předložená práce je založena na experimentech spíše klasického rázu, přesto se nejedná o práci nezajímavou.

Práce je standardně členěna s minimem překlepů a gramatických chyb.

### Úvod:

V úvodu autorka prezentuje literární rešerši zaměřenou na problematiku rakoviny, protinádorové imunity a onkolytických virů. Bohužel zejména ve virologické problematice autorka značně tápe a místy se podle charakteru textu zdá, že prakticky neví, o čem píše. Řada chyb vznikla na základě otrockého překladu z angličtiny a neznalosti správné české terminologie (například nikoliv „vezikulární vir stomatitidy“, ale „virus vezikulární stomatitidy“; nikoliv „Izrael-turecká meningoencefalitida virus“, ale „virus izraelsko-turecké meningoencefalitidy“; zkratka „HSV“ se běžně používá pro označení viru herpes simplex a ne pro označení čeledi *Herpesviridae*; nikoliv „virus příušnice“, ale „virus příušnic“; název rodu píšeme s velkým počátečním písmenem atd.). Byť termín „vir“ není podle Slovníku spisovné češtiny mluvnicky nesprávný, v odborných textech bychom se vždy měli držet termínu „virus“. Řada vět vůbec nedává smysl: např. „Delecí části nekódujících oblastí má vliv na neuroinvasivitu“, „Mechanismem ovlivnění neuropatogenity je mutace proteinu C“ atd. Mnohé pasáže jsou zbytečně rozvláčné, zatímco jiné chybí – např. je podrobně pojednáno o replikaci adenovirů (mimočodem bez jediné citace), zatímco replikace flavivirů, mezi které patří přímo v této práci použitý virus Langat, popsána není. Obrázek 2 byl převzat z literatury, ale bohužel s mnoha chybami (například nelze prezentovat tzv. virus ruské jaro-letní encefalitidy, virus klíšťové encefalitidy dálnovýchodního typu a kmen Sofjin jako odlišné entity, neboť se jedná ve všech třech případech o totéž). Nesouhlasím s tvrzením, že funkce proteinu C u viru Langat není moc známa – vždyť se jedná o kapsidový protein! Citovat články z časopisu Vesmír pokládám za nešťastné.

Cíle práce jsou jasně definované.

Část materiál a metody je popsána výstižně a srozumitelně.

### Výsledky:

Autorka prezentuje výsledky ze čtyř pokusů (domnívám se, že není příliš vhodné číslovat experimenty v nadpisu, stačí přece název experimentu). Výsledky jsou povětšinou demonstrovány ve formě sloupcových grafů. Data byla analyzována statisticky pomocí programu MS Excel. V tomto směru bych doporučoval pro statistické analýzy používat spíše některý z uznávaných statistických programů. Autorka v textu bohužel popisuje některá pozorování jako zaznamenaný efekt, toto ale není statisticky podpořeno. Např. autorka uvádí, že „Proenzymy působily rovněž redukcí nádorového

růstu...“, v grafu ale ani v jednom z intervalů není pozorován signifikantní pokles objemu nádoru u skupiny, které byly aplikovány proenzymy, v porovnání s kontrolou. Stejně tak je tomu v případě obrázku č. 10 (intervaly 3.-13. den po zahájení terapie). Naopak např. u Obr. 8 se zdá být u intervalu 34 dní po zahájení terapie značný rozdíl ve skupině, které byl podán virus Langat TP-21, oproti kontrole, nebo na obrázku 10 všechny skupiny proti kontrole 16 den po zahájení terapie, ale na uvedených obrázcích není znázorněno, že by daný rozdíl byl statisticky signifikantní. Má pro to autorka nějaké vysvětlení? Pokud ano, proč není uvedeno v textu?

#### Diskuse

Diskuse práce je sice dosti úsporná, leč vyhovující. Bohužel autorka víceméně opakuje a shrnuje dosažené výsledky, které jen stručně komentuje. Postrádám diskusi v pravém slova smyslu.

#### Na autorku bych měl následující dotazy:

1. V textu práce není vůbec vysvětleno, proč autorka použila dva odlišné kmeny viru Langat (Hy-HK 18“3“ a TP-21). Není vysvětleno, proč se vakcinovalo kmenem Hy-HK 18“3“ a poté byl podán Langat TP-21. Mohla by autorka design těchto pokusů vysvětlit. Co autorka ví o biologických vlastnostech uvedených kmenů? Jaký je vztah kmene Hy-HK 18“3“ ke kmeni Langat E5?
2. Experimentálně indukovaná imunosuprese zesílila protinádorový účinek viru Hy-HK 18“3“. Nicméně protinádorový účinek měla i samotná imunosuprese jako taková. Dle mého názoru by imunosuprese mohla mít přesně opačný efekt. Čím si tento efekt autorka vysvětluje?
3. V literárním přehledu i v diskusi autorka opomenula zpracovat literární data o použití dalších virů z komplexu klíšťové encefalitidy při experimentální terapii nádorových onemocnění. Prosil bych tedy autorku o doplnění těchto dat při obhajobě.
4. V klinických studiích, kde byl virus Langat použit k léčbě leukémie, bylo pozorováno zlepšení klinických parametrů u některých pacientů. Ale tento za běžných podmínek pro člověka nepatogenní virus u některých pacientů způsobil encefalitidu. Jak si to autorka vysvětluje? Lze zde nalézt nějakou analogii s experimenty, kde byl účinek viru zesílen experimentálně indukovanou imunosupresí?

#### Závěr

Předložená diplomová práce řeší zajímavou problematiku, která může mít v budoucnu nemalý medicínský význam. Nicméně je na práci vidět, že autorka se s daným tématem trochu prala. Analýza literárních dat byla provedena jen povrchně. V experimentální části nevidím vlastní přínos studentky, který by se od ní v případě magisterské práce měl očekávat. Celkově práci hodnotím jako průměrnou. Přesto dle mého názoru splňuje předložená práce požadavky Přírodovědecké fakulty JU na magisterskou práci a doporučuji ji k obhajobě. Klasifikaci určím až po obhajobě.

V Českých Budějovicích 17. ledna 2012



RNDr. Daniel Růžek, Ph.D.



Oponentský posudek diplomové práce

**Bc. Iva Fornbaumová**

## Studium protinádorového působení viru Langat

Předložená diplomová práce, vypracovaná pod vedením RNDr. Jana Ženky, CSc., je zaměřena na studium onkolytického účinku viru Langat na modelu myšního melanomu a na možné zesílení tohoto účinku.

Diplomová práce je uvedena logicky uspořádaným literárním přehledem, který shrnuje problematiku onkolytických virů. Práce dále pokračuje kompletní metodikou s uvedením všech důležitých údajů. Snad jediné, co jsem v této části práce postrádal, bylo zdůvodnění, proč byl pro tuto studii vybrán právě virus Langat a jaké jsou rozdíly mezi oběma použitými kmeny. To autorka nepřímou zmiňuje až v diskusi. Výsledky jsou prezentovány na dobré úrovni a jsou doplněny přehlednými grafy. V této kapitole autorka prezentuje výsledky čtyř *in vivo* a jednoho *in vitro* experimentu, které se vzájemně dobře doplňují. K formální stránce práce nemám žádné závažnější připomínky. Pouze bych se v českém textu vyvaroval zbytečného používání anglických termínů typu „overexprese“ nebo „wild-type“.

K vlastním výsledkům nemám žádné zásadní připomínky. Jen je škoda, že se práce z větší části omezila na měření objemu nádorů a přežívání myší. Studii by prospělo, kdyby byla doplněna například lokalizací viru v nádoru společně s možnou změnou jeho morfologie v důsledku aplikace viru nebo sledováním některých parametrů protinádorové imunity. V diskusi autorka logicky interpretuje získaná data a dává je do souvislosti s publikovanými výsledky jiných studií. Některá témata by mohla být detailněji diskutována, a proto bych měl několik doplňujících otázek:

**Otázky do diskuse:**

---

1. Čím je způsobena nádorová selektivita viru Langat?
2. Co by mohlo být příčinou zvýšeného výskytu metastáz pozorovaného v experimentu 2, kdy byly myši inokulovány virem Langat HyHK-18“3“ před transplantací nádoru.

**Závěrem:**

Práce je přehledná a logicky uspořádaná. Autorka během své práce získala řadu zkušeností s experimentální prací a získala hodnotné originální výsledky. Autorka ve své práci prokázala dobré předpoklady pro další vědeckou práci a její práci hodnotím jako zdařilou. Proto tuto práci doporučuji k obhajobě a navrhuji její hodnocení známkou výborně.

V Praze 18. 1. 2012

RNDr. Filip Šenigl, Ph.D.

ÚMG Praha

