



**Posudek oponenta na bakalářskou diplomovou práci Radomíra Vokurky
„Potenciální antivirotické účinky derivátů přírodních látek proti viru klíšťové encefalidity“**

V rámci své bakalářské práce Radomír Vokurka zjišťoval, zda přírodní cykloalkany ze skupiny diamantoidů mají vliv na replikaci viru klíšťové encefalidity a na potlačení cytopatického efektu způsobeného tímto virem. Vzhledem k různým virovým pandemiím je hledání nových antivirotických rozhodně žádoucí, navíc jeden z derivátů adamantanu byl účinný proti příbuznému viru dengue, proto považuji zvolené téma za vysoce aktuální.

Po formální stránce má předložená práce 39 stran s tradičním členěním a netradiční absencí číslování kapitol. V textu je minimum překlepů a jen několik gramatických chyb, avšak stylisticky působí především literární přehled spíše jako přepis mluveného slova z prezentace na semináři než jako odborný psaný text. Některé informace jsou poněkud povrchní, např. na str. 5 mohlo být blíže vysvětleno, jak amantadin brání replikaci viru dengue, když už se jedná o diplomovou práci na flavivirech. V kapitole Viry bych přivítala větší důraz na fáze životního cyklu, na které může být cílena antivirotická léčba, i když uznávám, že toto částečně splňuje Obrázek 6. Naopak některé informace se bezdůvodně opakují, např. skutečnost, že amantadin je účinný při Parkinsonově chorobě, se dozvíme na různých místech hned třikrát.

Cíle práce jsou prakticky dva, a sice najít vhodné koncentrace zkoumaných látek a zjistit jejich antivirové účinky. Metodika je dostatečně podrobná a relativně pečlivě sepsaná. Doporučuji uvádět vždy výsledné koncentrace, vyhněte se tak lehkému matení čtenáře v podobě dvojnásobných koncentrací apod. V metodických přístupech oceňuji měření na průtokovém cytometru, byť se jednalo jen o jednoduchý test životnosti.

Ačkoliv výsledků rozhodně není málo a jistě je za nimi pořádný kus práce v laboratoři, slabou stránkou předložené bakalářské práce je bohužel způsob prezentace dosažených výsledků počínaje Tabulkou IX dále. Nejen že převedení výsledků do grafu by bylo výrazně přehlednější a v Tabulce IX je fatální překlep u kontrolního vzorku varianty I (patří $1,69 \times 10^5$, nikoliv $1,69 \times 10^6$), vůbec nejsou uvedeny směrodatné odchylky a statistické vyhodnocení. Název kapitoly na str. 27 je zavádějící, lépe by bylo Inhibice cytopatického efektu deriváty adamantanu. Vůbec celá tato kapitola je problematická. Chybí zásadní informace o tom, jaký byl cytopatický efekt viru klíšťové encefalidity (VKE) na kontrolní glioblasty bez léčivých látek. Obecné tvrzení ze str. 30, že cytopatický efekt je inhibován, považuji za zavádějící a příliš odvážné. Kdyby tomu skutečně tak bylo, pak by hodnoty v tabulkách XII, XIII a XIV měly být vyšší než 100 %, což splňují víceméně jen adamantan a 1-(1-adamantyl)ethylamin hydrochlorid ve variantě III.

Diskuze získaných výsledků mohla být obsáhlejší, v textu diskuze jsou citovány pouze čtyři původní vědecké články. Například vzhledem k rozporům mezi výsledky plakové titrace a cytopatického efektu VKE bych uvítala alespoň krátké zamyšlení nad tím, do jaké míry lze tyto dvě metody porovnávat, případně zda je to běžná praxe u flavivirů atd.

Na autora mám následující dotazy a faktické připomínky:

- 1) Na str. 7 je chybně uvedeno, že vakcína proti neštovicím a dětské obrně byla pasivní. Uveďte prosím toto na pravou míru.
- 2) Co konkrétně si autor představuje pod pojmem chemoterapie virových infekcí?



- 3) Str. 14 a 15: Pokud zásobní roztok antivirotik byl 100 µg/ml v 0,5% DMSO (str. 14), proč byla nejvyšší možná koncentrace v experimentu 500 ng/ml v 0,0025% DMSO? Na některých místech uvádíte, že v kontrole bylo 0,1 % DMSO, jinde 0,0025 % DMSO. Prosím o vysvětlení.
- 4) Jaký je princip MTT reakce?
- 5) Jaký byl cytopatický efekt VKE na kontrolní glioblasty bez léčivých látek?

Závěr: Není pochyb o tom, že Radomír Vokurka prokázal jistou dávku pečlivosti a spolehlivosti nutnou pro zachování sterilních podmínek při pěstování buněčných kultur, ale rovněž pro manipulaci s infekčním materiálem v režimu BSL2. K tomu se naučil základní virologické techniky a navíc si vyzkoušel měření na průtokovém cytometru, což mě obzvláště těší. Na druhou stranu stylistická podoba literárního přehledu, stejně jako prezentace získaných dat a formulace závěrů má zatím zjevné nedostatky, kterých se autor, jak pevně věřím, pokusí při nejbližší příležitosti vyvarovat. Celkově však předložená práce splňuje nároky kladené na bakalářské práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity a **doporučuji** ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 10. ledna 2017

RNDr. Helena Langhansová, Ph.D.
Katedra medicínské biologie PŘF JU