



Univerzita  
Pardubice  
Fakulta  
chemicko-technologická

## Posudek vedoucího diplomové práce

Diplomová práce: **Cytotoxicita vybraných isochinolinových alkaloidů indukci apoptózy**

Autor práce: **Bc. Veronika Tejkalová**, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, Studentská 573, 532 10, Pardubice.

Školitel: **RNDr. Radim Havelek, Ph.D.**, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, Studentská 573, 532 10, Pardubice.

Akademický rok: **2014/2015**

Bc. Veronika Tejkalová pracovala na Katedře biologických a biochemických věd v rámci své diplomové práce od září 2013. V laboratoři si v průběhu práce osvojila řadu metod, především správnou práci s tkáňovými kulturami (adherentní a suspenzní buněčné linie), analýzu proliferace a viability buněk pomocí xCELLigence, stanovení viability a proliferace buněk pomocí barvení s Trypanovou modří, kvantifikaci viability pomocí redukce tetrazoliové soli XTT, metodu vizuální detekce aktivity kaspázy 3/7 pomocí fluorescenční mikroskopie, základy kvantifikace vazby Annexinu V a propidium jodidu, stanovení buněčného cyklu podle obsahu DNA a metodu stanovení fosforylované formy histonu H3 na serinu 10 pomocí průtokové cytometrie. K práci v laboratoři přistupovala zodpovědně.

Diplomová práce má celkem 95 stran. V teoretické části (19 stran) autorka popsala studované isochinolinové alkaloidy s ohledem na jejich výskyt v rostlinách čeledi Papaveraceae a Fumariaceae. Jednotlivé alkaloidy na základě strukturních typů a dosud popsané cytotoxicity rozdělila a definovala. V souvislosti lze jen polítkovat, že tato část obsahuje řadu typografických chyb a teoretický úvod do problematiky tak působí málo

propracovaným dojmem. Z teoretického úvodu vyplynuly hlavní cíle práce, a to screeningově stanovit cytotoxickou a antiproliferační aktivitu vybraných devíti alkaloidů pomocí systému xCELLigence RTCA na adherentních buňkách A549. Následně u neúčinnějších alkaloidů výsledky vzájemně ověřit a hlouběji prozkoumat mechanismus cytotoxického a antiproliferačního účinku s využitím buněk A549, Jurkat a MOLT-4. Použité metody jsou popsány velmi podrobně na 15 stránkách textu. Výsledky a diskuse jsou sepsány v samostatných kapitolách 4 a 5 v rozsahu 40 stran. K hodnocení dat a určení statistické významnosti rozdílů mezi jednotlivými hodnocenými skupinami použila t-test.

Z 9 testovaných alkaloidů čeledi studentka vyhodnotila chelidonin a homochelidonin jako antiproliferačně účinné látky u buněk A549. Tyto dva kongenery podrobila dalšímu studiu s cílem prozkoumat cytostatické působení na T-leukemických líních Jurkat (p53-deficientní) a MOLT-4 (p53 exprimující). Expozice chelidoninu vedla k akumulaci buněk Jurkat a MOLT-4 v G2 fázi buněčného cyklu nezávisle na dávce. Aplikace homochelidoninu vedla k dávkově závislé akumulaci buněk Jurkat v G2 fázi buněčného cyklu. Naopak u buněk MOLT-4 vedly nižší koncentrace k akumulaci buněk v G1 fázi a vyšší koncentrace v G2 fázi buněčného cyklu. Akumulace buněk v G2 fázi buněčného cyklu byla asociována s částečnou zástavou buněk v mitóze. Působení chelidoninu a homochelidoninu je zprostředkováno indukci apoptózy doprovázenou externalizací fosfatidylserinu a aktivací efektorových kaspáz 3/7. Zajímavým zjištěním je, že buňky Jurkat byly k cytotoxickému, antiproliferačnímu apoptózu-indukujícímu působení chelidoninu a homochelidoninu citlivější než buňky MOLT-4. Závěrem konstatuji, že i přes typografické nedostatky a chyby ve výstavbě odborného textu byl předsevzatý cíl diplomové práce splněn. Použitá literatura je aktuální. Počet 84 citačních pramenů je dostatečný.

Jako školitel považuji práci za úspěšně vykonanou a **doporučuji k obhajobě se známkou velmi dobře.**

V Pardubicích dne 22. května 2015

RNDr. Radim Havelek, Ph.D.

