



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

POSUDEK VEDOUCÍHO DIPLOMOVÉ PRÁCE

**Název diplomové práce: Využití průtokové cytometrie při studiu protinádorové aktivity
vybraných isochinolinových alkaloidů**

Autor diplomové práce: Bc. Štěpánka Vlasáková

Pracoviště: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických
a biochemických věd, Studentská 573, 532 10, Pardubice

Vedoucí práce: RNDr. Radim Havelek, Ph.D., Ústav lékařské biochemie, Lékařská fakulta
v Hradci Králové, Univerzita Karlova

Akademický rok: 2016/2017

Bc. Štěpánka Vlasáková pracovala na tématu diplomové práce od září 2016. Studentka se během řešení svěřené problematiky seznámila s teoretickými základy a dosavadními poznatky na dané téma. Pro zvládnutí praktické části práce si osvojila základní techniky práce s tkáňovými kulturami, a to především správnou práci za sterilních podmínek a pravidla udržování a expanze buněčných linií. Během experimentální práce využila metody analýzy proliferace a viability buněk pomocí analyzátoru xCELLigence, stanovení viability a proliferace buněk pomocí barvení s Trypanovou modří, základy kvantifikace vazby Annexinu V a propidium jodidu a stanovení buněčného cyklu podle obsahu DNA. K vypracování práce přistupovala aktivně a zodpovědně.

Diplomová práce má celkem 95 stran. V teoretické části (31 stran) se autorka věnovala technice průtokové cytometrie, reakci buněk na protinádorovou terapii, jednotlivým typům buněčné smrti a vybraným isochinolinovým alkaloidům. V rámci úvodu do problematiky tak uceleně charakterizovala princip průtokové cytometrie a nejdůležitější komponenty průtokového cytometru spolu se základními aplikacemi využívanými při studiu cytotoxické a antiproliferační aktivity látek. Závěrem teoretického úvodu shrnula dosavadní poznatky





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

o biologických vlastnostech vybraných isochinolinových alkaloidů a jejich strukturně blízkých kongenerů. V experimentální části diplomové práce studentka popsala konstrukci experimentů a postup jednotlivých analýz. Experimenty byly navrženy s cílem screeningově stanovit cytotoxickou a antiproliferační aktivitu vybraných alkaloidů (chelidonin, homochelidonin, berbamin a bersavin) v reálném čase pomocí přístroje xCELLigence RTCA, tyto výsledky ověřit pomocí metody barvení buněk s Trypanovou modří a zjistit, zda studované alkaloidy ovlivňují růst a viabilitu modelových buněčných kultur. Závěrem jsou získané výsledky popsány a diskutovány v samostatných kapitolách 4 a 5. K hodnocení dat, které odpovídají normálnímu rozdělení pravděpodobnosti, a k určení statistické významnosti rozdílů mezi jednotlivými skupinami studentka použila t-test.

Výsledky xCELLigence prokázaly negativní vliv studovaných látek na dynamiku buněčného růstu, a tedy i na hodnoty buněčného indexu. Následnou kvantifikací absolutního počtu buněk a procenta viabilních buněk studentka prokázala inhibiční vliv látek na buněčnou proliferaci a indukci buněčné smrti. Podrobnější charakterizace antiproliferačního účinku bylo dosaženo metodou analýzy buněčného cyklu. Výsledky procentuálního zastoupení buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu následně odhalily odlišný mechanismus antiproliferačního působení na buněčné úrovni. Závěrem konstatuji, že předsevzatý cíl diplomové práce byl splněn. Práce dokumentuje důležitost průtokové cytometrie pro přesné určení vlivu alkaloidů na nádorové buňky a zároveň přináší nové poznatky o studovaných látkách. Použitá literatura je aktuální. Počet citačních pramenů je dostatečný.

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

V Hradci Králové dne 22. května 2017

RNDr. Radim Havelek, Ph.D.

