



UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Název diplomové práce: Cytotoxická aktivita vinkarubinu *in vitro* na lidských nádorových buňkách

Autorka diplomové práce: Bc. Denisa Kuželová

Pracoviště: Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Vedoucí práce: RNDr. Karel Královec, Ph.D.

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

Posudek:

Bc. Denisa Kuželová se ve své diplomové práci zaměřuje na prozkoumání cytotoxicity vinkarubinu vůči vybraným lidským nádorovým liniím adenokarcinomu plic A549, karcinomu prsu MCF-7 a ovariálního karcinomu A2780. Pro stanovení cytotoxicity byla použita endpoint metoda kvantifikace aktivity mitochondriálních dehydrogenáz pomocí XTT testu provedeného 48 hodin po expozici. Proliferace zvolených lidských nádorových buněčných modelů po expozici vinkarubinu byla rovněž dlouhodobě a dynamicky monitorována v reálném čase pomocí systému xCELLigence. Záměrem diplomové práce bylo prozkoumat inhibiční působení studované látky v závislosti na dávce expozice v koncentračním rozmezí 1 až 50 $\mu\text{mol.l}^{-1}$. Jelikož vinka alkaloidy svým mechanismem účinku patří mezi látky, které inhibují polymeraci mikrotubulů a sloučeniny destabilizující mikrotubuly, dalším záměrem diplomové práce bylo stanovit vliv 5, 10 a 20 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ koncentrace vinkarubinu na mikrotubulární síť cytoskeletu. Předložená diplomová práce je jedinečná tím, že představuje jednu z prvních experimentálních prací, které se orientuje na prozkoumání negativního vlivu vinkarubinu na nádorové buňky. Práce si zároveň klade za cíl porovnat bioaktivitu vinkarubinu na uspořádání mikrotubulárního cytoskeletu v porovnání s klinicky užívaným reprezentantem bisindolových alkaloidů vinkristinem.





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

Posuzovaná diplomová práce obsahuje celkem 80 stran textu, 25 obrázků, 6 grafů a 4 tabulky. Formálně je diplomová práce tradičně strukturována, zahrnuje úvod, cíl práce, teoretickou část, experimentální část, část věnovanou výsledkům, diskuzi, závěr a seznam použité literatury. Diplomová práce dále obsahuje seznam obrázků, seznam tabulek, grafů, seznam zkratk, abstrakt v českém a anglickém jazyce. Oponovaná diplomová práce je založena na 99 relevantně citovaných zdrojích, jež některé zároveň diskutuje ve vztahu k dosaženým výsledkům.

V teoretickém úvodu diplomové práce autorka popisuje dostupné literární informace týkající se struktury a biologického působení vinka alkaloidů, které se v současnosti používají v klinické terapii nádorových onemocnění. V souladu se záměrem práce se autorka věnuje také dalším klinicky relevantním protinádorovým léčivům ze skupin diterpenových, chinolinových a cephalotaxinových alkaloidů. Tento koncept teoretického úvodu rozšiřuje výčet a popis biologické aktivity dalších rostlinných alkaloidů, které jsou v dnes v různé fázi preklinického vývoje. Teoretická část je srozumitelná a bez významných formálních nebo jazykových nedostatků. V souhrnu, práce je významná svým záměrem prozkoumat vliv vinkarubinu na organizaci mikrotubulární sítě pomocí imunofluorescenční detekce β -tubulinu a porovnat tento efekt s působením vinkristinu, agens destabilizujícím mikrotubuly.

K práci mám tyto připomínky: Z formálního hlediska vykazuje diplomová práce jen drobné typografické nedostatky. V textu se objevuje anglosaské označení pro molární koncentraci μM , respektive mM , avšak v práci psané česky bych upřednostnil použití označení $\mu\text{mol/l}$, respektive mmol/l . Místo slova "rakovina" bych v odborném textu preferoval běžnější označení "nádorové onemocnění". Některé zkratky nejsou v textu zavedeny a nedohledal jsem je ani v seznamu zkratk a značek. Jako příklad lze uvést větu ze strany 30., "Solamargin dále může inhibovat invazivitu buněk u rakoviny jater tak, že sníží aktivitu určitých enzymů jako je enzym MMP-9 a MMP-2". Zde se zjevně jedná o izofomy matrixových metaloproteináz.

K autorce mám následující dotazy: 1) V úvodu práce se zmiňujete o podofylotoxinech, které jsou inhibitory topoizomerázy II. Řadí se podofylotoxiny (např. etoposid a teniposid) vždy a všemi autory mezi alkaloidy? 2) Realizací experimentální části práce jste získala výsledky dokumentující inhibiční působení vinkarubinu na studované buněčné modely





UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta
v Hradci Králové

nádorových kultur *in vitro*. Která nádorová linie vykazovala nejvyšší vnímavost vůči cytostatickému a cytotoxickému působení testovaného alkaloidu, a tudíž má potenciál ukázat dobrou odpověď i v dalších fázích preklinického testování? 3) Při jakých dávkách lze konstatovat, že studovaná látka vinkarubin vykazovala převážně cytostatický efekt, a jaká koncentrace již způsobovala cytotoxický účinek (vedoucí k zániku nádorových buněk)?

Závěrem konstatuji, že předložená práce Bc. Denisy Kuželové „Cytotoxická aktivita vinkarubinu *in vitro* na lidských nádorových buňkách“ splňuje kritéria kladená na diplomovou práci. **Vzhledem k výše uvedenému doporučuji diplomovou práci k obhajobě s hodnocením A.**

V Hradci Králové dne 29. května 2024

doc. RNDr. Radim Havelek, Ph.D.

