



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Propojení pracovišť v oblasti translační medicíny a medicínální chemie v ČR  
reg. číslo: CZ.1.07/2.4.00/17.0015

### Zpráva ze služební cesty

Ve dnech 8. 1. 2013 – 6. 7. 2013 jsem se zúčastnila stáže v Dr. Margarete Fisher-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie (IKP). Tento Institut se nachází v Německu, ve Stuttgartu, v areálu nemocnice Roberta Bosche, a výzkum je zde převážně zaměřen na onkologii a farmakogenomiku. Je zde mnoho projektů, na kterých pracují odborníci z oblasti buněčné a molekulární biologie, analytické a syntetické chemie, biostatistiky, a také odborníci z oblasti farmakologie.

V IKP jsem pracovala ve skupině prof. Ulricha Zangera, který patří mezi přední světové vědce v oblasti farmakogenomiky a regulace ADME genů. Během své stáže ve Stuttgartu jsem se zabývala metabolismem cholesterolu. 4 $\beta$ -hydroxycholesterol je jeden z metabolitů cholesterolu, který je v organismu vytvářen cytochromem P450 3A4 (CYP3A4, nejvýznamnějším enzymem metabolizující léčiva). Doposud byl tento metabolit měřen v lidské plazmě a ukázalo se, že by mohl být markerem aktivity tohoto enzymu.

Já jsem měřila 4 $\beta$ -hydroxycholesterol v lidské jaterní tkáni pomocí plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Před vlastním měřením bylo potřeba provést několik extrakcí. Tato metoda pro měření 4 $\beta$ -hydroxycholesterolu je sice známá, ale nebyla na tomto pracovišti validovaná. Tudíž jsem nejprve tuto metodu validovala. Validace proběhla úspěšně a poté jsem změřila 121 vzorků z lidské jaterní tkáně. Změřené hladiny 4 $\beta$ -hydroxycholesterolu jsem porovnávala a statisticky vyhodnotila s expresí a aktivitou enzymu CYP3A4. Ukázalo se, že je zde statisticky významná korelace. Změřené hladiny 4 $\beta$ -hydroxycholesterolu jsem také porovnávala s dalšími cytochromy P450, jak s fenotypem, tak i genotypem. Výsledky ukázaly, že by 4 $\beta$ -hydroxycholesterol mohl být markerem aktivity endogenního enzymu CYP3A4 u člověka.

Během stáže jsem se také zabývala metabolismem samotného metabolitu cholesterolu. 4 $\beta$ -hydroxycholesterol se v lidském organismu dále metabolizuje na další metabolity (meziprodukty) a dále až na kyselinu žlučovou. Snažila jsem se změřit tyto

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*

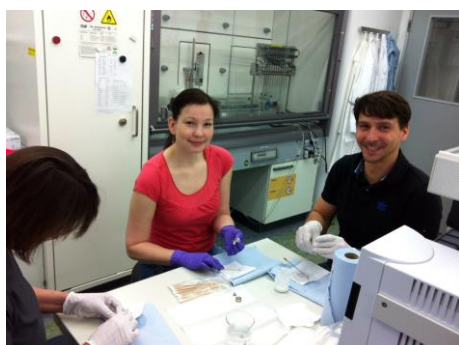


## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Propojení pracovišť v oblasti translační medicíny a medicínální chemie v ČR  
reg. číslo: CZ.1.07/2.4.00/17.0015

(i případně další) metabolity po inkubaci 4 $\beta$ -hydroxycholesterolu s jaterními mikrozomy, a také rekombinantními cytochromy P450. Po rozsáhlých měřeních se mi však bohužel nepodařilo identifikovat jistý pík na chromatogramu, který by mohl být metabolitem 4 $\beta$ -hydroxycholesterolu. Tento signál byl totiž malý a citlivost přístroje nebyla dost velká. Navíc, v jaterních mikrozomech je také přítomný cholesterol, který podléhá oxidaci za přítomnosti reaktivních forem kyslíku. Během této oxidace vzniká několik látek, což komplikuje stanovení metabolitů v nízkých hladinách.

Závěrem bych chtěla zdůraznit, že tato stáž byla pro mne velice přínosná. Pro mne, jako analytického chemika, bylo velice radostné pracovat s plynovou chromatografií ve spojení s hmotnostním spektrometrem, neboť jsem získala zkušenosti, jak při samotném měření, vyhodnocování spekter, tak i čištění přístroje. Pro mne, jako studenta, který studuje na Ústavu farmakologie, bylo prospěšné poslouchat odborné přednášky týkající se farmakogenomiky, statistiky, ale také rakoviny od základů až po léčbu. Navíc jsem měla možnost i vidět další analytické přístroje, které se na tomto pracovišti využívají. Na základě této stáže je plánovaná publikace z výsledků mé experimentální práce a zároveň není vyloučena možnost další spolupráce s tímto pracovištěm.



Zpráva vyhotovena dne 7. 8. 2013

**Mgr. Zuzana Matušková**

*Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.*