

*Diplomová práce:* **Stanovení aktivity cytochromu P450 2E1 v primárních kulturách hepatocytů**

*Autor:* Bc. Markéta Zelendová

*Vedoucí diplomové práce:* Doc. MUDr. Otto Kučera, Ph.D.

*Konzultant diplomové práce:* Doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.

Cytochromy P450 jsou enzymy, které se významnou měrou účastní biotransformace xenobiotik. Jedním z cytochromů P450 je i cytochrom P450 2E1, který se podílí na přeměně některých léčiv (např. acetaminofenu). Aktivita cytochromu P450 je obvykle měřena v mikrosomech nebo v tkáňovém homogenátu. Stanovení aktivity tohoto enzymu v primárních kulturách hepatocytů není však obvyklé.

Cílem této diplomové práce bylo naučit se připravovat a zacházet s primárními kulturami hepatocytů potkana, resp. myši, zpracovávat získané biologické vzorky, provádět základní toxikologická stanovení a zejména zavést metodu stanovení aktivity cytochromu P450 2E1 v primárních kulturách hepatocytů potkana a myši pomocí *p*-nitrofenolu za použití spektrofotometrických metod. K tomu bylo nutné zjistit optimální koncentraci *p*-nitrofenolu, která by ještě nevykazovala toxické působení na hepatocyty potkana.

Bc. Markéta Zelendová se velmi rychle naučila zacházet s hepatocyty potkana a myši v podmínkách *in vitro* a provádět požadovaná měření. Díky tomu brzy začala pracovat v laboratořích samostatně. Bc. Zelendová po celou dobu řešení diplomové práce byla velmi spolehlivá a pečlivá, úkoly řešila v dohodnutých termínech.

Rozsah předložené práce je 93 stran, text je doplněn 31 obrázky, 6 tabulkami, 16 grafy, 2 přílohami a 95 citacemi, které autorka čerpala převážně ze zahraničních recenzovaných odborných časopisů. Práce je klasicky členěna a splňuje formální požadavky na diplomovou práci. V teoretické části na 31 stranách jsou shrnuty základní informace o biotransformaci xenobiotik, cytochromech P450 s detailním popisem cytochromu P450 2E1, stanovení enzymové aktivity obecně i cytochromu P450 2E1 a modelových systémech pro testování enzymové aktivity. Na další straně jsou přehledně uvedeny cíle práce. Následuje 10 stran, na kterých autorka uvádí popis použitých metod. Na dalších 20 stranách je výsledková část. Práci uzavírá 5 stran diskuze a 1 strana závěrů shrnující dosažené výsledky. Celá práce je sepsána srozumitelně a v textu se objevuje jenom minimum překlepů.

Diplomová práce **Bc. Markéty Zelendové** splňuje zadané cíle, celkově ji považuji za zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

Závěrečné hodnocení: **výborně**

V Hradci Králové 24. 5. 2017



Doc. MUDr. Otto Kučera, Ph.D.