

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Tereza Vojtěchová

Školitel: doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

Konzultant: PharmDr. Martin Ambrož, Ph.D.

Název diplomové práce: Optimalizace přípravy jaterních sféroidů

V preklinickém hodnocení léčiv hrají nezastupitelnou roli různé jaterní *in vitro* modely. Jedním z nich jsou multiceulární jaterní sféroidy. Jedná se o 3D buněčné agregáty, které vznikají procesem buněčné agregace. Jsou využívány ve vývoji léčiv a představují slibný nástroj pro identifikaci nových cílů a screening léčiv na různá jaterní onemocnění. Cílem této diplomové práce bylo zavést a optimalizovat přípravu jaterních sféroidů metodou „*forced-floating*“. Pro izolaci hepatocytů a přípravu sféroidů byly použity játra sameců a samic potkana kmene Wistar. Při izolaci hepatocytů jsme čelili problémům s jejich nízkou viabilitou, proto jsme se postup izolace snažili optimalizovat. Přesto se nám podařilo získat pouze malé množství hepatocytů s dostatečnou viabilitou k následnému vytvoření sféroidů. Vytvořené sféroidy jsme inkubovali po dobu 7 a 14 dnů s různými lipogenními činidly a sledovali jsme jejich viabilitu pomocí měření produkce adenosintrifosfátu (ATP). Při inkubaci sféroidů s lipogenními substráty po dobu 7 dnů nedošlo k zásadním změnám v hladinách ATP, zatímco při inkubaci sféroidů po dobu 14 dnů došlo vlivem amiodaronu samotného a kombinace lipogenních substrátů s insulinem k signifikantnímu poklesu jejich viability. Jako marker syntetické aktivity sféroidů jsme použili albumin. Pomocí metody dot blot jsme zjistili, že námi vytvořené sféroidy jsou schopny syntetizovat albumin a vylučovat ho do kultivačního média. Dále jsme ověřovali schopnost sféroidů exprimovat vybrané geny kódující biotransformační enzymy (cytochrom P450 1/2, 3A, NAD(P)H:chinonoxidoreduktasa 1). Z výsledků je patrné, že přestože jejich exprese kolísala, nedošlo v průběhu inkubace k signifikantní změně v expresi mRNA.