

## **Abstrakt**

Cholesterol  $7\alpha$ -hydroxyláza (CYP7A1) je hlavní limitní enzym klasické dráhy syntézy žlučových kyselin (BA), kterou je u člověka katabolizována přibližně polovina cholesterolu. Stanovení enzymatické aktivity CYP7A1 je klíčovým předmětem ve výzkumu lipidového metabolismu. Přímé stanovení aktivity CYP7A1 v jaterní biopsii není většinou z etických důvodů povoleno, proto je využíváno nepřímých metod pomocí sérových markerů, např.  $7\alpha$ -hydroxy-4-cholesten-3-onu (C4). Prvním, metodickým cílem práce bylo převedení zavedené HPLC metody pro stanovení C4 na LC-MS s účelem zvýšit citlivost metody. Při optimalizaci jsme se zaměřili na extrakční krok, tzv. SPE extrakci (solid phase extraction), která spočívala v úpravě koncentrací a objemů promývacího a elučního roztoku. Převedením metody z HPLC na LC-MS se citlivost zvýšila cca 7krát (LD = 1,39 ng/ml). V druhé, klinické části naší práce jsme se pokusili potvrdit předběžné výsledky našeho pracoviště o distribuci C4 v lipoproteinových částicích (LPP), s cílem najít parametr, který by koreloval s aktivitou CYP7A1 lépe než samotný C4. Předběžné výsledky na zdravých jedincích ukázaly, že koncentrace C4 je nejvyšší v HDL, a že distribuce C4 v jednotlivých LPP je mezi jedinci podobná. Experiment jsme opakovali na několika jedincích s rozdílnou hladinou cholesterolu. Koncentrace C4 byla korigována na koncentraci volného cholesterolu (FC), jenž sloužil jako marker velikosti povrchu lipoproteinové částice. Naše výsledky nepotvrdily dříve pozorovanou stabilní distribuci C4 v LPP, poměr C4/FC tak nejspíše nebude spolehlivým ukazatelem aktivity CYP7A1.

**Klíčová slova:** CYP7A1, C4, volný cholesterol, SPE extrakce, lipoproteinové částice