

SOUHRN

Byla zkonstruována aparatura na měření membránového potenciálu, která využívá iontově-selektivní elektrody citlivé na tetrafenylfosfóniový kationt (TPP^+). Aparatura byla připojena k počítači a sběr, zpracování a ukládání dat bylo uskutečněno programem MATLAB/Simulink. Složení TPP^+ -selektivní membrány bylo optimalizováno zabudováním sraženiny TPP^+TPB^- do membrány, čím se dosáhla Nernstovská dopověď od koncentrace $3 \cdot 10^{-6}$ M TPP^+ . Protože docházelo k vyplavování TPP^+ z membrány do média, TPP^+TPB^- bylo nahrazeno tetrakis[3,5-bis(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-methoxy-2-propyl)fenyl]boritanem sodným (NaHFPB). Elektrody s NaHFPB měly Nernstovskou odezvu od $1 \cdot 10^{-6}$ M TPP^+ a tím byla dosažena větší citlivost oproti komerčně vyráběným elektrodám. Byly vypočteny koeficienty selektivity pro K^+ , Na^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+} .

Aparatura byla použita pro monitorování mitochondriálního membránového potenciálu izolovaných mitochondrií a pro sledování funkce dýchacího řetězce mitochondrií v buňkách s permeabilizovanou plasmatickou membránou (hepatocytů, BSC-40, HeLa G, cybridů) pomocí nízké koncentrace digitoninu. Tato metoda byla použita i pro sledování funkce „mitochondrial permeability transition pore“ (MPTP) jak u izolovaných mitochondrií, tak u permeabilizovaných hepatocytů. Otevření MPTP bylo indukováno vysokou koncentrací Ca^{2+} . Účinek vápníku při jeho nízké koncentraci byl zvýšen pro-oxidantem *tert*-butylhydroperoxidem (*t*-BHP). Tento proces byl inhibovatelný cyklosporinem A.

U permeabilizovaných hepatocytů *t*-BHP indukovalo snižování $\Delta\psi_m$, které mohlo být způsobeno inhibicí komplexu I dýchacího řetězce nebo mitochondriální akonitasy. Působení *t*-BHP také mělo za následek také otevření MPTP.

Z těchto výsledků vyplývá, že zkonstruovaná aparatura je vhodným nástrojem pro studium základních otázek mitochondriální bioenergetiky, sledování účinku hepatotoxických látek i nástrojem pro studium mitochondriálních poruch a jejich diagnostiku.