

# Abstrakt

Glukozová homeostáza organismu je klíčová pro jeho správné fungování. Na jejím udržování se zásadním způsobem podílejí pankreatické  $\beta$ -buňky, které slouží jako senzor změny koncentrace glukózy v krvi a zodpovídají za adekvátní výlev hormonu insulinu. Zvýšená koncentrace glukózy aktivuje oxidativní fosforylaci a následně dochází k navýšení koncentrace buněčného ATP, které poté nepřímo stimuluje sekreci insulinu. Proces oxidativní fosforylace je lokalizován ve vnitřní mitochondriální membráně, kde probíhá finální fáze zpracování energie substrátu na ATP. Aby byl proces oxidativní fosforylace co nejefektivnější, mitochondriální síť prochází řadou morfologických změn. V této práci jsme se zaměřili na objasnění vlivu změn koncentrace nutrientů na mitochondriální morfologii na modelu pankreatických  $\beta$ -buněk, tkáňové linii INS1E. Jako experimentální podmínky jsme použili: 1) vysokou koncentraci glukózy, při které dochází k maximální sekreci insulinu, 2) nízkou koncentraci glukózy, při které sekrece insulinu neprobíhá, a 3) přídavek  $\alpha$ -ketoisokaproátu, metabolitu leucinu, který amplifikuje sekreci insulinu. První jsme charakterizovali bioenergetické parametry, které ovlivňují mitochondriální morfologii. Snížením koncentrace glukózy došlo ke snížení buněčné respirace, zároveň byl pozorován nárůst mitochondriálního membránového potenciálu, doprovázeným vzrůstem tvorby reaktivních kyslíkových sloučenin v respiračním řetězci.  $\alpha$ -ketoisokaproát vykazoval ve fyziologických parametrech chování velmi podobné nízké glukóze. Analýza mitochondriální sítě ukázala snížení množství mitochondriálních tubulů s nejširšími průměry při nízké glukóze. Zobrazení mitochondriálních krist pomocí transmisní elektronové mikroskopie ukázalo jejich rozšíření v nízké glukóze a slabší, ale obdobný efekt při inkubaci s  $\alpha$ -ketoisokaproátem. S využitím dSTORM mikroskopie jsme určili za nízké glukózy a v přítomnosti  $\alpha$ -ketoisokaproátu nižší míru klastrování  $F_0F_1$  ATP-syntázy, jejíž oligomery se zásadně podílejí na tvarování krist. Dále bylo prokázáno, že na remodelaci krist a morfologie mitochondriální sítě INS1E buněk se při různých metabolických stavech podílí OPA1 (Optic atrophy protein 1) a její regulace je zprostředkována štěpením proteázou OMA1.