

## 1. Abstrakt

Cílem této diplomové práce bylo studium exprese proteinů účastnících se apoptotického procesu v myokardu potkana v souvislosti s podáváním malých (0,1 mg/kg; 1 mg/kg) a velkých (10 mg/kg) dávek morfinu. Malé dávky byly podávány po dobu 28 dní, velké dávky po dobu 10 dní vždy jednou denně. V případě dávky 1 mg/kg byl navíc sledován také účinek 1 týdnu následné abstinence. Dalším z cílů bylo stanovení aktivity kaspázy-3 v kontrolních vzorcích myokardu potkana a ve vzorcích, které byly ovlivněny podáváním vysoké (10 mg/kg) dávky morfinu po dobu 10 dnů.

Rovnováha mezi buněčným dělením a buněčnou smrtí je klíčová při udržování homeostázy. Apoptotický proces je řízen proteiny z Bcl-2 rodiny. Tyto proteiny jsou schopny regulovat propustnost vnější mitochondriální membrány, což může vést k uvolnění cytochromu c a jiných proteinů z mitochondrií. Uvolnění těchto proteinů poté vyvolává aktivaci výkonných enzymů apoptózy. V této práci jsme se zaměřili na sledování exprese proapoptotických proteinů AIF, Bax, Bak, Bid a antiapoptotického proteinu Bcl-2 ve vzorcích tkáně levých komor srdečních připravených z potkanů, jimž byly podávány různé dávky morfinu. U proteinu AIF bylo pozorováno významné snížení exprese po krátkodobém podání vysoké dávky morfinu. U ostatních proapoptotických proteinů nebyly nalezeny výrazné signifikantní změny v expresi působením morfinu. Exprese antiapoptotického Bcl-2 proteinu byla signifikantně zvýšena po dlouhodobém podání 0,1 mg/kg/den morfinu. Dalšími proteiny, které byly identifikovány ve vzorcích myokardu, byly kaspáza-3 a podjednotka její aktivní formy p11. V obou případech byly pozorovány signifikantní změny po podání 1 mg/kg/den morfinu po dobu 28 dní s následnou týdenní abstinencí. Porovnáním exprese Akt 1/2/3 v kontrolních vzorcích se vzorky ovlivněnými morfinem nebyly zjištěny signifikantní rozdíly. Byla zjištěna statisticky významná zvýšená exprese GSK-3 $\beta$  ve vzorcích potkanů, kteří byli ovlivněni dlouhodobým (28 dní) podáváním nízké dávky (1 mg/kg/den) morfinu s následnou týdenní abstinencí.

Mezi nejvýznamnější efektorové kaspázy patří kaspáza-3. Ve vzorcích pravých a levých komor jedinců, kteří byli ovlivněni podáním vysoké dávky morfinu, byla změřena aktivita kaspázy-3 pomocí fluorescenčního substrátu N-Ac-DEVD-N'-MC-R110. U morfinem ovlivněných jedinců byla detekována poněkud snížená aktivita tohoto enzymu. Na základě těchto výsledků můžeme tedy usuzovat na protektivní působení této dávky morfinu.

**Klíčová slova:** apoptóza, kaspázy, morfin, myokard