

## SOUHRN

### Studium změn energetického metabolismu hepatocytů: působení oxidačního stresu a trijodtyroninu

Játra jsou životně důležitým orgánem, vzhledem ke svému postavení v cirkulaci se dostávají ve zvýšené míře do styku s řadou toxických látek, které mohou způsobit poškození hepatocytů. Mechanismy odpovědné za poškození hepatocytů jsou různé, avšak jedním z nejvýznamnějších mechanismů hepatotoxického účinku je oxidační stres způsobený zvýšenou produkcí volných radikálů. Jedním z cílů působení toxických látek je respirační řetězec mitochondrií s následným narušením energetického metabolismu buňky. Působení oxidačního stresu na buňky je velmi komplexní a jeho mechanismy nejsou dosud zcela objasněny.

Cílem naší práce bylo proto sledovat dopad oxidačního stresu na energetický metabolismus hepatocytů na modelu izolovaných buněk a izolovaných mitochondrií. Hodnotili jsme vliv oxidačního stresu na aktivitu enzymů dýchacího řetězce a na funkci mitochondriálního póru přechodné permeability (MPTP - *mitochondrial permeability transition pore*), jehož otevření indukuje kaskádu apoptotických a nekrotických procesů. Získané výsledky prokázaly selektivní působení oxidačního stresu na aktivitu enzymů dýchacího řetězce. Tert-butylhydroperoxid (t-BHP) signifikantně inhibuje oxidaci NADH-dependentních substrátů, zatímco oxidace flavoprotein-dependentního substrátu sukcinátu není narušena. Podstatné rozdíly jsme pozorovali i v případě oxidace jednotlivých NADH-dependentních substrátů.

Pro posouzení funkce MPTP jsme zavedli novou metodu hodnocení, která dosud nebyla v literatuře publikována. Tato metoda převádí klasické křivky bobtnání, znázorňující pokles absorbance suspenze mitochondrií, do derivované formy. To umožňuje lépe hodnotit kinetiku procesu bobtnání. Pomocí této metody lze získat přesné údaje o maximální rychlosti bobtnání mitochondrií a o době, kdy je této maximální rychlosti dosaženo. Touto metodou jsme hodnotili především interakci různých faktorů, o kterých je známo, že ovlivňují MPTP ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , t-BHP a  $\text{T}_3$  (trijodtyronin)). Získali jsme přesnější údaje o vzájemném působení vápníku a fosfátu na rychlost bobtnání a o aktivačním účinku t-BHP na tento děj. Doplnili jsme i údaje o vlivu  $\text{T}_3$  na aktivaci MPTP. Bobtnání indukované  $\text{Ca}^{2+}$ , t-BHP a  $\text{T}_3$ , popř. kombinací těchto faktorů lze zcela inhibovat cyklosporinem A - specifickým inhibitorem MPTP, což prokazuje, že toto bobtnání vzniká v důsledku otevření MPTP.