

## ABSTRACT IN CZECH

Ischemicko-reperfúzní (I/R) poškození, které je důsledkem infarktu myokardu, představuje hlavní příčinu úmrtí po celém světě. Jedním z neúčinnějších kardioprotektivních intervencí zvyšujících odolnost srdce k I/R poškození je adaptace na chronickou hypoxii (CH). Avšak molekulární mechanismy CH nejsou zcela objasněny. Mezi nejdůležitější faktory zodpovědné za I/R poškození patří reaktivní formy kyslíku (ROS) produkované komplexy I a III mitochondriálního elektronového transportního řetězce. Potenciálními kandidáty udržující ROS na nízké úrovni jsou mitochondriální kreatinkináza (mtCKs) a dvě isoformy hexokinázy (HK1 a HK2). Tyto enzymy významně podporují mitochondriální oxidativní fosforylaci tím, že zvyšují dostupnost ADP pro komplex V dýchacího řetězce. Navíc HK navázaná na mitochondrie inhibuje navázání pro-apoptického proteinu BAX, čímž chrání srdeční buňky vůči apoptóze. Kromě mitochondriální isoformy CK jsou v kardiomyocytech také přítomny dvě cytosolické isoformy CK (CKM a CKB), které pomáhají udržovat energetickou homeostázu. Na základě známých anatomických a fyziologických rozdílů mezi levou (LV) a pravou (RV) komorou se první studie zaměřila na porovnání těchto komor z hlediska energetického metabolismu a ko-lokalizace isoform HK s mitochondriemi. Také byla stanovena hladina aktivované formy AKT kinázy, která napomáhá interakci HK2 s mitochondriální membránou. Výsledky této studie naznačují, že RV má vyšší aktivitu aerobního glykolytického metabolismu a je tedy schopna reagovat rychleji a silněji na stresující podněty než LV. Dále bylo zjištěno, že aktivace AKT je nutnou, nikoli však postačující podmínkou pro stimulaci interakce HK2 s mitochondriemi a že je zde pravděpodobně zapojen ještě jiný mechanismus. Dalším cílem studie bylo stanovit vliv normobarické hypoxie na expresi a enzymatickou aktivitu CK a HK a ko-lokalizaci HK s mitochondriemi u obou komor. Potkani byli adaptováni po dobu 3 týdnů na protektivní a neprotektivní režimy 10% normobarické hypoxie. Výsledky ukázaly, že adaptace na normobarickou hypoxii vede k aktivaci glykolýzy a kreatinfosfát (PCr)/CK systému udržujícího energetickou homeostázu i za snížené koncentrace kyslíku. Dá se tedy usuzovat, že CK a HK by se mohly podílet na stimulaci oxidativní fosforylace a tím na snížení produkce ROS. I když nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi protektivními a neprotektivními fenotypy, nelze vyloučit, že CK a HK mohou hrát roli v kardioprotektivních mechanismech vyvolaných adaptací na normobarickou hypoxii. Je zajímavé, že ko-lokalizace HK1 a HK2 s mitochondriemi zůstaly nezměněny v LV i v RV po adaptaci potkanů na protektivní režim, kontinuální normobarickou hypoxii (CNH), což svědčí o stabilizaci vazby HK s

mitochondriemi. Následně byli potkani adaptovaní na CNH vystaveni I/R inzultu. Celková aktivita HK v CNH LV se výrazně zvýšila po I/R inzultu, což by mohlo vypovídat o zapojení HK v mechanismech ischemicko-rezistentního fenotypu u chronicky hypoxických srdcí. Posledním cílem této studie bylo určit roli CK a HK enzymů v LV a RV potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (7000 m). Hypobarická hypoxie představuje vyšší stres na myokard ve srovnání s normobarickou hypoxií. Výsledky potvrdily reakci energetického metabolismu na sníženou koncentraci kyslíku nezávisle na míře stresu. Navíc byla pozorována zvýšená vazba HK1 a HK2 s mitochondriemi v obou komorách po adaptaci potkanů na hypobarickou hypoxii, která byla potvrzena jak pomocí imunofluorescenčních technik, tak i pomocí frakcionace a metody Western blot. Závěrem lze říci, že protektivní mechanismus HK, který souvisí s mírou vazby tohoto enzymu na mitochondriích, se zdá být aktivován v hypoxii, která je na hranici poškození buněk, což představuje právě hypobarický model. Tato disertační práce poskytuje nový pohled na funkci CK a HK a jejich vzájemnou spolupráci v adaptaci na různé modely hypoxie. A zároveň přináší nové poznatky o mechanismu kardioprotektivního působení hypobarické hypoxie, který zahrnuje zvýšenou vazbu HK s mitochondriemi. Studium vazby HK s mitochondriemi tak představuje potenciální cestu pro budoucí terapeutické využití.