

ABSTRAKT

Tato disertační práce byla zaměřena na multidisciplinární charakterizaci interakcí mezi hormony a jejich receptory při kapacitaci spermií, která je finálním krokem maturace spermií u savců a je k oplození vajíčka klíčová. Pro studium byly vybrány tři estrogenní hormony (17β -estradiol (E2), 17α -estradiol (α E2), 17α -ethynylestradiol (EE2)), které jsou součástí znečištění životního prostředí. Tyto hormony, jsou nazývané jako endokrinní disruptory, neboť mohou vyvolat u živočichů poruchy hormonálního systému, a tím negativně ovlivnit fyziologické procesy včetně reprodukce. Nově vyvinutou analytickou HPLC-MS/MS metodou byly sledovány koncentrační změny daných estrogenů (E2, α E2 a EE2) během časově závislé kapacitace myších, resp. potkaních, spermií *in vitro*. Pro jednotlivé estrogeny byly definovány závislosti koncentrace volného, na spermie nevázaného hormonu na čase kapacitace pro tři vsádkové koncentrace jednotlivých hormonů (200, 20 a 2 μ g/L). Získané koncentrační hodnoty byly převedeny na hodnoty relativních koncentrací, které byly podrobeny kinetické analýze. Pro interakci jednotlivých hormonů se spermiemi byly navrženy kinetické modely, které byly popsány systémem diferenciálních rovnic s optimalizací rychlostních konstant a molárního poměru. Optimalizace probíhala na základě hledání minima absolutních hodnot rozdílu mezi teoretickými a experimentálně získanými hodnotami relativní koncentrace B_t . Optimalizované konstanty byly použity pro výpočet teoretických $B(t)$ křivek a ve všech případech byla dosažena dobrá shoda mezi změřenými a vypočítanými hodnotami relativní koncentrace. Z kinetického hlediska byl pro všechny tři studované hormony pozorován obdobný průběh signalizace, předpokládající autokatalytickou interakci mezi hormonem a cytoplazmatickými receptory spermie za tvorby nestálého aduktu, který se následně rozpadá. Kinetická schémata navržená pro působení jednotlivých hormonů se však lišila ve způsobu jejich transportu skrze cytoplazmatickou membránu. Výsledky této disertační práce prokázaly, že kinetická analýza má potenciál být využita jako nástroj pro sledování a predikci specifických molekulárních mechanismů zapojených do buněčné signalizace v širokém spektru fyziologických i patologických procesů.