

Bilirubin, hlavní produkt degradace hemu, působí fyziologicky jako antioxidant, zatímco ve vysokých koncentracích může být neurotoxický. Z těla je vylučován jako součást žluči do střeva, kde zůstává vázán na střevní obsah a je postupně metabolizován střevní mikroflórou. Část bilirubinu je resorbována zpět do oběhu a prochází tzv. enterohepatální cirkulací (EHC). Náplní této disertační práce je studium metabolismu a EHC bilirubinu. Bilirubin se ve střevě váže s dvoumocnými kationty a tím je utlumena jeho EHC. Nicméně případné terapeutické podávání takových látek může ovlivnit metabolismus anorganických iontů v těle. Výsledky naší první studie ukazují, že pokud byly Gunnovy krysy s vrozenou hyperbilirubinemií krmeny nerozpustným metakrylanem zinečnatým, jejich hladiny sérového bilirubinu poklesly, zatímco koncentrace zinku v krvi zůstala nezměněna a zároveň se neobjevily žádné patologické změny trávicího traktu. EHC bilirubinu je významně ovlivněna také rychlostí redukce bilirubinu střevní mikroflórou, především bakteriemi rodu *Clostridium*. V naší druhé studii jsme na Gunnových krysách prokázali, že antibiotická terapie vedoucí k eliminaci střevních klostridií vedla k významnému vzrůstu hyperbilirubinémie, zatímco následná kolonizace kmenem *C. perfringens* s vysokou aktivitou enzymů redukujících bilirubin vedla k významnému poklesu sérového bilirubinu směrem k původním hodnotám. V další práci byl pomocí chromatografických metod charakterizován bilirubinový metabolismus výše zmíněného kmene. Bakterie byly schopny redukovat celou řadu substrátů včetně mesobilirubinu, dimethylesteru bilirubinu a bilirubin ditaurátu. Bilirubin bisglukuronosid musel být před redukcí dekonjugován. Produktem redukce byl nekonjugovaný urobilinogen. V poslední práci jsme se zaměřili na vývoj a validaci analytické metody vhodné pro stanovení fyziologických množství bilirubinu ve tkáních a tkáňových kulturách. Přestože současné výzkumy připisují bilirubinu významnou roli v buněčných pochodech, dosud neexistovala vhodná metoda na jeho stanovení, především kvůli nízkým koncentracím ve tkáních, afinitě k biomolekulám a malé stabilitě. Podařilo se nám vyvinout vysoce senzitivní a specifickou HPLC metodu a stanovit koncentrace bilirubinu ve všech zkoumaných tkáních z normobilirubinemických i hyperbilirubinemických krys.