

## Abstrakt

**Zdůvodnění a cíle:** Léčba akutního fulminantního jaterního poškození vzniklého následkem různých vlivů (ischemicko-reperfuzní příčina, toxická příčina, infekční příčina, cholestatická příčina apod.) zůstává dosud velkým klinickým otazníkem. V současné době nemáme k dispozici klinicky ověřené, farmakologicky účinné a dostatečně univerzální látky v oblasti léčby akutního jaterního poškození různé etiologie. Cílem mé práce bylo tedy testovat na poli preklinického výzkumu účinnost vybraných látek ze skupiny cytoprotektiv s určitým hepatoprotektivním účinkem a zároveň najít nebo naznačit mechanismus tohoto jejich účinku, který jsem zkoumal v oblasti intracelulárních plyných signálních molekul NO a CO resp. enzymů klíčových pro jejich vznik NOS/HO. Mé doktorské studium mělo dva hlavní směry: 1) Experimentální sledování vzájemného vztahu systémů HO/CO a NOS/NO v prostředí hepatotoxických látek *in vitro* v izolovaných primárních potkaních hepatocytech a *in vivo* na potkaním modelu; 2) Hodnocení cytoprotektivního efektu vybraných látek na poškozené potkaní hepatocyty a zkoumat tento účinek v kontextu změn ve vybraných parametrech cytotoxicity/cytoprotektivity, antioxidačních parametrech, genové expresi mRNA u vybraných genů a na změnách v histologického stavu buněk/tkání/orgánů.

**Metodika:** Jako biochemické markery poškození/funkceschopnosti hepatocytů byly měřeny jaterní transaminázy (ALT, AST,  $\alpha$ GST) dále urea a bilirubin. Jako markery lipoperoxidace byly měřeny konjugované dieny a malonyldialdehyd (TBARS). Jako markery antioxidační kapacity byly měřeny kataláza a redukovaný glutathion. V rámci studia systému NOS-2/NO byla měřena celková koncentrace dusitanů odrážející tvorbu NO a pomocí RT-PCR genová exprese mRNA pro gen NOS-2. V rámci studia systému HO-1/CO byly tkáňový CO a aktivita hemoxygenázy měřeny pomocí GC-UV a s pomocí RT-PCR genová exprese mRNA pro gen HO-1. Histologie byla hodnocena imunohistochemicky s použitím Annexin-V/propidium jodidu. Ke statistickému hodnocení byla používána analýza rozptylu s jednoduchým tříděním s následným mnohonásobným porovnáváním pomocí Bonferroniho nebo Tukey-Kramerova testu.

**Výsledky:** Všechny námi používané toxicitní modely způsobily významnou aktivaci systémů NOS-2/NO i HO-1/CO. Dále jsme na experimentech *in vitro* a *in vivo* prokázali histologicky i biochemicky cytoprotektivní účinek resveratrolu a kurkuminu, přičemž u obou bylo prokázáno oproti pozitivní kontrole snížení aktivity systému NOS-2/NO. U systému HO-1 bylo pozorováno snížení aktivity při resveratrolovém předlěčení (*in vitro* a *in vivo*) a naopak zvýšení aktivity při kurkuminovém předlěčení (*in vivo*). Předlěčení kurkuminem a resveratrolelem také snížilo intenzitu lipoperoxidace.

**Závěry:** Stejně jako ve studii *in vitro*, tak i *in vivo* vykázaly látky resveratrol a kurkumin silný hepatoprotektivní efekt (při použití proti tBH a/nebo LPS/D-GalN stimulované jaterní toxicitě) spojený s inhibičním účinkem na systém NOS-2/NO, který na základě literárních dat můžeme velmi dobře vysvětlit. Nicméně jednotný vliv na systém HO-1/CO z našich experimentů jednoznačně neplyne. Nelze tudíž ani s jistotou prokázat, že hepatoprotektivní účinek resveratrolu je přímo závislý na modulaci HO-1/CO systému. Můžeme pouze diskutovat, zda tento systém byl inhibován ve spojení se systémem NOS-2/NO. Budou nutné další studie s použitím inhibitorů a induktorů HO-1 a NOS-2, aby mohly být nastíněny jasnější mechanistické závěry, týkající se role gasotransmiterů v experimentálních hepatotoxických modelech.