

1 SOUHRN

Hlavním faktorem řídícím glukózou stimulovanou inzulinovou sekrecí (GSIS) v β buňkách je pravděpodobně zvýšení ATP/ADP poměru následkem zvýšené glykolýzy a následně i oxidativní fosforylace. Bioenergetika INS-1E buněk, představujících platný model pro studium insulinové sekrece *in vitro*, byla kvantifikována pomocí respirometrie a současného snímání mitochondriálního membránového potenciálu ($\Delta\Psi_m$). Ukázali jsme, že přidání glukózy k buňkám, které ji vypotřebovaly, má za následek skokové zvýšení jak respirace, tak $\Delta\Psi_m$ během GSIS. Současně s tím se také zvýšil endogenní respirační poměr stavu 3/4, jehož závislost na glukóze byla hyperbolická. Maximální hodnoty dosahoval tento poměr při maximální GSIS. Zároveň jsme se pokusili postihnout „toxický“ efekt mastných kyselin na inzulinovou sekreci tím, že byla studována GSIS za přidavku linoleové kyseliny. Tento přírůstek způsobil podstatné zmenšení skoku respirace i $\Delta\Psi_m$ po přidavku glukózy, současně s tím snížil závislost poměru stavu 3/4 na glukóze a také množství sekretovaného inzulinu, což bylo způsobeno mitochondriálním odpřažením.

Energetický stav mitochondrií, a tím i míra oxidativní fosforylace může být popsána bioenergetickými parametry. Kromě nich se tento stav také odráží ve struktuře mitochondriální sítě. Patologické změny diabetických β buněk by se tedy měly projevit i v její odlišné morfologii. Proto jsme se pokusili zobrazit mitochondriální síť β buněk izolovaných z Goto-Kakizaki potkana (model diabetu typu 2) a porovnat je s nediabetickými β buňkami z potkana Wistar. Využili jsme 4Pi mikroskopie, která umožňuje až 7x vyšší rozlišení v ose z oproti konvenčnímu konfokálnímu mikroskopu. Zjistili jsme, že mitochondriální síť diabetických β buněk je více dezintegrována ve srovnání s kontrolou.

Jeden ze symptomů zhoršující se funkce β buněk během progresu k diabetu typu 2 je zvýšená exprese odpřahujícího proteinu 2 (UCP2) v β buňkách. Podobně jako chemické odpřahovače, UCP1 a velmi pravděpodobně i UCP2 odpřahují oxidativní fosforylaci od ATP syntézy. Avšak přesný mechanismus aktivace jejich protonoforické aktivity stále není znám. Byly navrženy dva modely s ohledem na roli mastných kyselin při této aktivaci. Data prezentovaná v této práci, konkrétně v části zabývající se UCP1, podporují hypotézu cyklování mastné kyseliny. Pomocí elektronové paramagnetické rezonance (EPR) jsme navíc získali data, která naznačují, že podobně jako UCP1 i UCP2 je schopný vázat mastnou kyselinu, což je základní předpoklad této hypotézy.