

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO – TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Veronika Musilová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko – technologická

Tkáňově specifické rozdíly mitochondrií
Bakalářská práce

2023

Veronika Musilová

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Tissue-specific Differences in Mitochondria
Bachelor Thesis

2023

Veronika Musilová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Veronika Musilová**
Osobní číslo: **C20246**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Tkáňově specifické rozdíly mitochondrií**
Téma práce anglicky: **Tissue-specific Differences In Mitochondria**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- 1) Vypracujte literární rešerši na téma: Tkáňově specifické rozdíly mitochondrií. V úvodní části bakalářské práce se věnujte obecně původu, struktuře a funkci mitochondrií.
- 2) V hlavní části bakalářské práce popište rozdíly ve struktuře a funkci mitochondrií v různých tkáních. Zaměřte se hlavně na játra, kosterní a srdeční svalovinu, tukovou tkáň, event. na mozek, trombocyty a leukocyty.
- 3) Pro zpracování textu bakalářské práce čerpejte z odborných článků publikovaných v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Staňková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **RNDr. Jiří Handl, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Tkáňově specifické rozdíly mitochondrií jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 27. 06. 2023

Veronika Musilová v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala Mgr. Pavle Staňkové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, zejména mamince, za podporu a obětavost, bez které by práce nešla tak snadno.

ANOTACE

V této bakalářské práci jsou shrnuty tkáňově specifické rozdíly mitochondrií. V první části je obecně popsán původ, struktura a funkce mitochondrií. Nejvíce jsou zde rozebírány metabolické děje Krebsův cyklus a OXPHOS. V hlavní části jsou rozepsány rozdíly ve struktuře a funkci mitochondrií v játrech, kosterní a srdeční svalovině, tukové tkáni a mozku.

KLÍČOVÁ SLOVA

Mitochondrie, Krebsův cyklus, OXPHOS, játra, srdce, kosterní svalovina, tuková tkáň, mozek

TITLE

Tissue-specific differences in mitochondria

ANNOTATION

This bachelor thesis summarizes the tissue-specific differences of mitochondria. In the first part, mitochondria's origin, structure, and function are generally described. The metabolic events of the Krebs cycle and OXPHOS are mainly discussed. The main part analyzes the differences in the structure and function of mitochondria in the liver, skeletal and cardiac muscle, adipose tissue, and brain.

KEYWORDS

Mitochondria, Krebs cycle, OXPHOS, liver, heart, skeletal muscle, adipose tissue, brain

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	12
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	13
ÚVOD	15
TEORETICKÁ ČÁST	16
1 Mitochondrie	16
1.1 Původ	16
1.2 Struktura	17
1.3 Funkce	19
1.3.1 Produkce ATP	19
1.3.1.1 Krebsův cyklus	20
1.3.1.2 Elektronový transportní řetězec	23
1.3.2 Reaktivní formy kyslíku	26
1.3.3 Apoptóza	27
1.3.3.1 Vnitřní mitochondriální dráha	27
1.3.4 Mitochondriální kalciová homeostáza	29
1.3.5 Metabolismus lipidů	32
1.3.5.1 β -oxidace mastných kyselin	32
1.3.5.2 Ketogeneze	34
2 Tkáňové rozdíly	35
2.1 Játra	35
2.1.1 Metabolismus jater	35
2.1.2 Mitochondrie jater	37
2.1.2.1 Morfologie	37
2.1.2.2 Metabolismus	38
2.1.2.3 Další specifity	40
2.2 Srdce	41
2.2.1 Metabolismus srdeční svaloviny	41

2.2.2	Mitochondrie srdeční svaloviny	43
2.2.2.1	Morfologie	43
2.2.2.2	Metabolismus.....	44
2.2.2.3	Další specifity.....	45
2.3	Svaly	46
2.3.1	Metabolismus kosterního svalstva	46
2.3.2	Mitochondrie kosterní svaloviny	48
2.3.2.1	Morfologie	48
2.3.2.2	Metabolismus.....	49
2.3.2.3	Další specifity.....	50
2.4	Tuková tkáň.....	51
2.4.1	Metabolismus tukové tkáně.....	51
2.4.2	Mitochondrie tukové tkáně	52
2.4.2.1	Morfologie	52
2.4.2.2	Metabolismus.....	52
2.4.2.3	Další specifity.....	54
2.5	Mozek.....	54
2.5.1	Metabolismus mozkové tkáně	54
2.5.2	Mitochondrie mozkové tkáně	55
2.5.2.1	Morfologie	55
2.5.2.2	Metabolismus.....	56
2.5.2.3	Další specifity.....	56
	ZÁVĚR.....	58
	POUŽITÁ LITERATURA.....	59

SEZNAM ILUSTRACÍ

OBRÁZEK 1: STRUKTURA MITOCHONDRIE.	19
OBRÁZEK 2: KREBSŮV CYKLUS.....	22
OBRÁZEK 3: ELEKTRONOVÝ TRANSPORTNÍ ŘETĚZEC.....	25
OBRÁZEK 4: APOPTÓZA, VNĚJŠÍ A VNITŘNÍ CESTA.....	29
OBRÁZEK 5: MAM KONTAKTY MEZI ENDOPLASMATICKÝM RETIKULEM A MITOCHONDRIEMI.	32
OBRÁZEK 6: SCHÉMA B-OXIDACE NASYČENÉ MASTNÉ KYSELINY SE SUDÝM POČTEM UHLÍKŮ.	34

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

Acetyl-CoA	acetylkoenzym A
ADP	adenosindifosfát
APAF – 1	proteázový aktivátor apoptózy 1
ATP	adenosintrifosfát
BAT	hnědá tuková tkáň
CoA	koenzymu A
CoQ	koenzym Q (ubichinon)
COX	cytochrom c oxidáza
CP	kreatinfosfát
CS	citrátsyntáza
Cyt c	cytochrom c
dATP	deoxyATP
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EC	extracelulární prostředí
ER	endoplasmatické retikulum
ETC	elektronový transportní řetězec
ETF	flavoprotein přenášející elektrony
ETF:QO	flavoprotein přenášející elektrony Q oxidoreduktáza
FADH₂	flavinadenindinukleotid
G6PD	glukóza-6-fosfát
GDP	guanosindifosfát
GLUT	glukózový transportér
GTP	guanosintrifosfát
IP3R	inositol-1,4,5-trifosfátovým receptorem
LDL	lipoproteiny nízké hustoty
LPL	lipoproteinová lipáza
MAM	membrány spojené mitochondriemi
MCU	mitochondriální kalciový uniporter
mGPDH	mitochondriální glycerol-3-fosfát dehydrogenáza
MOMP	permeabilita vnější mitochondriální membrány
mtDNA	mitochondriální DNA
NADH	nikotinamidadenindinukleotid

OXPHOS	oxidativní fosforylace
Pi	fosfát
QH₂	ubichinol
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	reaktivní formy kyslíku
rRNA	ribosomální ribonukleová kyselina
RyR	ryanidový receptor
SR	sarkoplasmatické retikulum
Sukcinyl-CoA	sukcinylkoenzym A
TAG	triacylglycerol
TCA	kyseliny trikarboxylové
UCP	termogenin
VLDL	lipoproteinová částice s velmi nízkou hustotou
WAT	bílá tuková tkáň

ÚVOD

V každém těle je zapotřebí energie pro správné fungování organismu. Transformace energie na využitelnou formu probíhá v buňce, zejména v její organele mitochondrii. Mitochondrie jsou pro tělo velice důležité a nepostradatelné, proto jich každá buňka obsahuje vysoké množství, které může dosáhnout hodnoty až 2000 mitochondrií na jednu buňku.

Energie se v buňce transformuje do formy ATP. Jedná se o soubor několik po sobě jdoucích metabolických cyklů, jako je Krebsův cyklus a elektronový transportní řetězec a fosforylace ADP. V těchto cyklech dochází k přenosu elektronů, resp. protonů a jsou vzájemně provázány. Zároveň v mitochondriích probíhají další metabolické dráhy, jako je například β -oxidace mastných kyselin a ketogeneze. Mitochondrie jsou díky těmto metabolickým pochodům pro buňky esenciální, na druhou stranu je mohou i usmrtit, jelikož mají schopnost vyvolat apoptózu a nekrózu.

Mitochondriální různorodost a rozmanitost je napříč tkáněmi opravdu velká a nebývá v literatuře často zmiňována. Odlišnosti v mitochondriálním metabolismu a struktuře odrážejí zejména metabolické a energetické požadavky daných tkání, které jsou dané úlohou jednotlivých tkání v organismu. Mitochondrie v jednotlivých tkání se liší např. preferovanými substráty a aktivitou oxidativní fosforylace. Tyto rozdíly se odrážejí i na morfologii a počtu mitochondrií v jednotlivých tkáních. Největším pozorovaným rozdílem v morfologii je množství mitochondriálních krist, které úzce souvisí s buněčným dýcháním.

Mitochondrie napříč tkáněmi nemají pouze různorodou funkci a morfologii, ale mají i jedinečný způsob replikace mtDNA, na kterém závisí to, jak se daná tkáň dokáže vypořádat s oxidačním stresem. To může být jedním z důvodů, proč jsou tkáně s vyšší potřebou kyslíku náchylnější na mitochondriální onemocnění.

Mitochondrie jsou důležité orgány a jejich poškození provází řadu nemocí, včetně ischemické choroby srdeční, neurodegenerativních nemocí, nádorů a diabetu. Pochopení tkáňových rozdílů mitochondriálního metabolismu je z hlediska prevence a léčby těchto nemocí esenciální.

TEORETICKÁ ČÁST

1 Mitochondrie

1.1 Původ

Mitochondrie se vyvinuly ze symbiotických bakterií, což dokazují četné bakteriální vlastnosti mitochondrií. Nové mitochondrie vznikají pouze dělením stávajících mitochondrií. Mitochondrie mají svůj vlastní aparát pro syntézu deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a proteinů. Mitochondriální DNA (mtDNA) i ribosomální ribonukleová kyselina (rRNA) jsou podobné bakteriálním. Mitochondrie se v rámci evolučního stromu nacházejí ve skupině α -proteobakterií (Searcy, 2003). Předpokládá se, že mitochondrie vznikla vniknutím α -proteobakterie do primitivní eukaryotické buňky nebo archebakterie, čímž vznikl vztah symbionta a hostitele. Následným předáváním části bakteriálních genů do jádra buňky došlo k redukci mitochondriálního genomu a přeměně ze symbionta na buněčnou organelu – mitochondrii (Hewitt et al., 2011).

Existuje více teorií vzniku mitochondrií, jelikož výměna živin mezi hostitelem a symbiontem se mohla lišit od výměny mezi cytoplasmou a mitochondriemi v moderních buňkách. Na základě toho máme teorie, kdy premitochondrie mohla být invazivní parazitická bakterie. Další hypotézy jsou založené na mutualistické symbióze nebo na některém druhu syntrofie (Searcy, 2003).

První z těchto teorií vychází z předpokladu, že premitochondrie byla invazivní, parazitická bakterie. Tento vztah byl pro hostitele neúspěšný. Podle této teorie bakterie napadla nukleocytoplasmu hostitele a vyvolala onemocnění, které nebylo smrtelné. Postupem času bakterie ztratila patogenitu a vyvinula se v mitochondrii (Ewald, 2003). Alternativní teorií k patogenní infekci je teorie založená na mutualistické symbióze, ze které okamžitě profituje hostitel i symbiont. Tento vztah může být přínosný např. výměnou živin nebo určitým typem ochrany. Příkladem jsou prehistorické mitochondrie, které chránily své hostitele před toxicitou kyslíku (O_2). Podle této domněnky byla předkem nukleoplazmy fermentační buňka netolerantní k O_2 . Tento hostitel se spojil s aerobní bakterií, která konzumovala O_2 , tím chránila hostitelskou buňku před toxickým účinkem O_2 a na oplátku jí hostitel poskytl živiny, jako např. pyruvát. Tento model se nazývá „OxTox“. Postupem času, se vyvinul export adenosin trifosfátu (ATP) a vznikla tak moderní mitochondrie (Kurland et al., 2000).

Dále existují různé hypotézy dělicí se podle načasování mitochondriální symbiózy. Tyto hypotézy se dále dělí podle načasování mitochondriální symbiózy. Mezi hypotézy s největší pozorností patří ty, které pojednávají o raných a pozdních mitochondriích.

Raná mitochondriální hypotéza naznačuje, že mitochondriální symbióza byla jednou z prvních událostí v eukaryogenezi. Nejrozšířenější časnou mitochondriální teorií je „Hydrogen hypothesis“ („vodíková teorie“). Tato hypotéza vychází ze syntrofického vztahu fakultativně anaerobní α – proteobakterie s anaerobní autotrofní archeobakterií. Anaerobní archeobakterie spotřebovává vytvořený vodík. V případě nízké koncentrace O_2 α – proteobakterie fermentovala a vytvářela H_2 a acetát, který spotřeboval archeon. Naopak při vyšší koncentraci O_2 docházelo k aerobnímu dýchání alfa-proteobakterií. Podle této teorie se oba mikroorganismy metabolicky sjednotily, proto se archeon uzavřel s α – proteobakterií a ta se stala jeho specializovanou bioenergetickou organelou.

Naopak u hypotézy o pozdní mitochondrii se předpokládá, že k symbióze došlo až později kdy, již byla vyvinuta spousta jiných znaků moderních eukaryot. Vývoj těchto znaků byl buď autogenní nebo prostřednictvím symbiózy. Většina názorů na pozdní mitochondrie zastává názor autogenního vývoje endomembránového systému a cytoskeletu v linii proto – eukaryot. Tento názor zastávají zejména kvůli výhodám fagocytózy. V průběhu fagocytózy byl pohlcen mitochondriální předek. Po jeho pohlcení fagocytární membránou se stal endosymbiontem. Hostitel ho poté začal využívat, jelikož byl integrován do buňky jako organela. Využíval jeho respirační kapacitu k produkci živin a ATP (Roger et al., 2017).

1.2 Struktura

Mitochondrie (Obrázek 1) jsou dynamické buněčné organely. Jejich tvar a velikost závisí na typu buňky. Délka mitochondrií je různá, ale jejich průměry jsou ve většině buněk relativně konstantní (0,5 – 1,0 μm) (Griparic et al., 2001). Tyto organely obsahují vlastní DNA i rRNA, proto jsou schopné transkripce, translace, syntézy vlastních proteinů (Alberts, 2005).

Mitochondriální DNA je malá, kruhová molekula dvouvláknové DNA. Tato vlákna se liší složením nukleotidů a rozlišujeme těžká a lehká vlákna. Těžké vlákno (H – řetězec) je bohaté na guanin. Oproti tomu lehké vlákno (L – řetězec) obsahuje vysoké množství cytosinu. MtDNA kóduje několik podjednotek enzymů dýchacího

řetězce, proto hraje klíčovou roli v energetickém metabolismu. V závislosti na energetické náročnosti jednotlivých buněk se liší počet kopií mtDNA. Buňky obsahují 100 až 10 000 kopií mtDNA. MtDNA má i specifický způsob dědičnosti, jelikož se dědí pouze od matky. Otcovská mtDNA je odstraněna ze spermií procesem zvaným ubikvitinace, k níž pravděpodobně dochází během transportu spermií mužským reprodukčním orgánem. V důsledku toho je obsah mtDNA v zygotě určen výhradně vajíčkem. Tato dědičnost má velký význam na poli evoluční a populační genetické studie (Chinnery et al., 2013).

Mitochondrie jsou obaleny dvojitou membránou. Vnitřní membrána odděluje mezimembránový prostor a matrix. Vnější membrána odděluje organelu od cytoplazmy. Tyto membrány hrají klíčovou roli v mitochondriálních dějích.

Vnější membrána je bohatá na proteiny. Proteiny vnější membrány mají různé složení a funkce. Jsou to např. různé enzymy a transportní proteiny. Velkými transportními proteiny vnější membrány jsou poriny, které tvoří vodné kanály. Vodné kanály prochází dvojitou fosfolipidovou membránou a tím zajišťují propustnost membrány pro všechny molekuly až do velikosti 5000 Daltonů, včetně malých proteinů (Alberts, 2005).

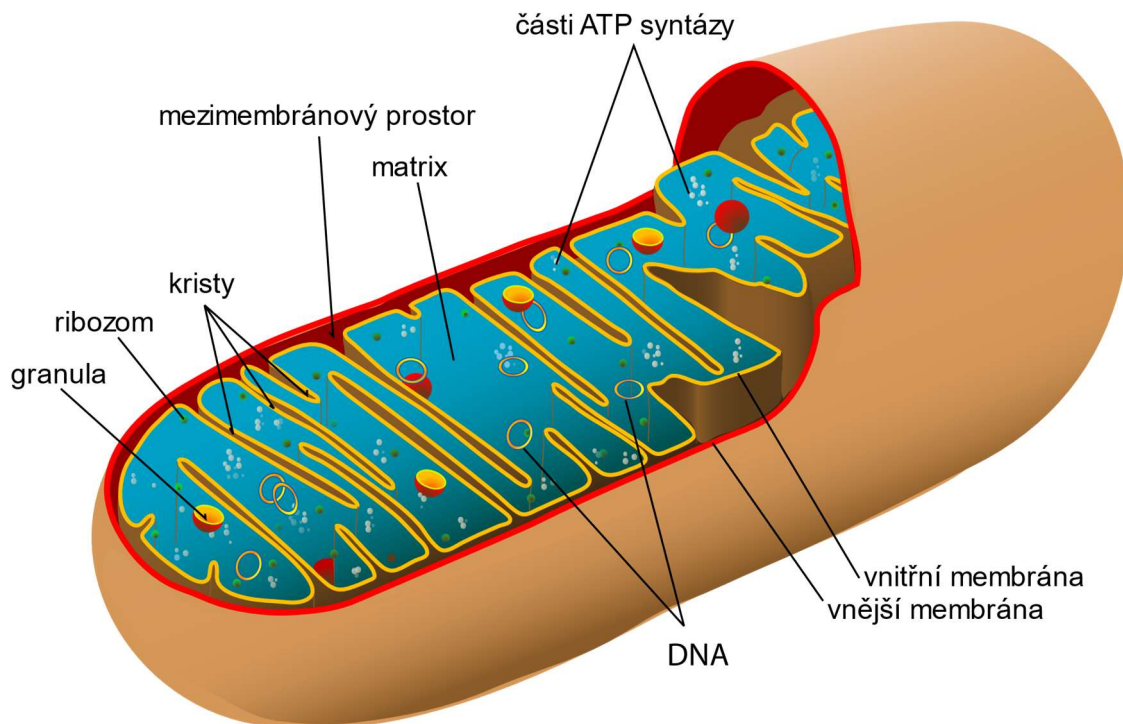
Vnitřní membrána je poskládána do četných záhybů známých jako kristy, které zasahují do prostoru matrix a značně zvětšují povrch vnitřní membrány. Tyto kristy tvoří cisterny nebo váčky, která se připojují k tzv. vnitřní vazebné membráně pomocí úzkých tubulárních spojení (Frey et al., 2000). Vnitřní membrána obsahuje vysokou koncentraci kardiolipinu, nižší obsah cholesterolu a proteiny, které plní 3 hlavní funkce:

1. proteiny účastnící se oxidačních reakcí v transportu elektronů
2. ATP-syntázu, která produkuje ATP do matrix
3. transportní proteiny, které umožňují vstup a výstup metabolitů z matrix

Vnitřní membrána není volně propustná pro ionty a většinu malých molekul. Tyto molekuly jsou přenášeny pomocí transportérů. Volně přes ní prochází O_2 , CO_2 a lipofilní látky. Jsou zde lokalizovány enzymové komplexy dýchacího řetězce, které se účastí přenosu elektronů a čerpání protonů (Van der Laan et al., 2012).

Díky propustnosti vnější membrány má mezimembránový prostor chemicky podobné složení jako cytosol. Dále obsahuje enzymy, které využívají ATP transportované z matrix k fosforylaci dalších nukleotidů. Druhým mitochondriálním oddílem je matrix, která je ohraničená vnitřní membránou. V mitochondriální matrix je

vysoká koncentrace různých enzymů, které se účastní např. oxidace pyruvátu, mastných kyselin a citrátového cyklu (Alberts, 2005).



Obrázek 1: Struktura mitochondrie.

DNA = deoxyribonukleová kyselina;
ATP syntáza = adenosintrifosfát syntáza
Zdroj: Ruiz, 2006

1.3 Funkce

1.3.1 Produkce ATP

ATP je základní energetickou měnou buňky. Jedná se o makromolekulu složenou ze tří podjednotek. První podjednotkou je adenin. Další je ribóza a poslední podjednotku tvoří tři fosfátové skupiny. ATP patří mezi makroergní sloučeniny. Jedná se o nejvyužívanější zdroj energie v buňkách. ATP má oproti ostatním makroergním sloučeninám řadu výhod. Je univerzální, má relativně vysokou energetickou hustotu a rychlost uvolňování energie, hydrolýza je řízena enzymaticky a je v buňkách regenerována. Důkazem univerzálnosti ATP je její přítomnost ve všech typech buněk (od prokaryot až po eukaryota) (Alberts 2005). ATP částečně zajišťuje uskladnění, a zejména přenos volné energie (Fontana et al., 2015). Rychlost uvolňování energie při hydrolýze ATP je důležitá zejména pro buněčné procesy, které potřebují rychlé dodání energie (např. přenos nervových vzruchů, replikace DNA, membránový transport) (Nicholls, 2013). Díky regeneraci lze ATP využívat jako nepřetržitý zdroj

energie. K regeneraci dochází procesem fosforylace adenosindifosfátu (ADP) (Berg et al., 2019; Voet et al., 2016). Látky s negativnějšími hodnotami volné energie např. fosfoenolpyruvát, kreatinfosfát (CP), 1,3-bisfosfoglycerát je možné využít k regeneraci ATP. Mezi neposlední výhody ATP patří stabilita anhydridové vazby, která se štěpí pouze v přítomnosti enzymů. (Fontana et al., 2015). Díky tomu nedochází k jeho spontánní hydrolýze, a tím pádem může uchovávat energii dlouhou dobu (Berg et al., 2019; Voet et al., 2016).

Při enzymové hydrolýze anhydridových vazeb dochází k uvolnění energie a přeměně ATP na ADP a anorganický fosfát (Pi). Neustálý cyklus mezi ATP a ADP zajišťuje přísun energie například pro svalovou kontrakci, syntézu bílkovin či aktivní přenos iontů a molekul přes buněčné membrány. (Nicholls, 2013)

K syntéze ATP dochází zejména v mitochondriích. Syntéza probíhá ve 3 krocích. Prvním krokem je Krebsův cyklus, ve kterém se uvolní elektrony. Tyto elektrony jsou přenášeny pomocí elektronových nosičů nikotinamidadenindinukleotidu (NADH) a flavinadenindinukleotidu (FADH₂). Dalším krokem je dýchací řetězec, ve kterém elektrony prochází řadou proteinových komplexů s redox-aktivními centry. Při přenosu elektronů dochází k uvolnění energie. Ta je využita k přečerpávání protonů z matrix do mezimembránového prostoru, a tím dochází ke vzniku protonového gradientu. Tento gradient je ve třetím kroku využit ATP-syntázou k samotné syntéze ATP z ADP a Pi. (Voet et al., 2016)

1.3.1.1 Krebsův cyklus

Krebsův cyklus je také známý jako cyklus kyseliny citrónové (citrátový cyklus) nebo cyklus kyseliny trikarboxylové (TCA) (Obrázek 2). V TCA dochází k oxidaci acetylkoenzymu A (acetyl-CoA) na CO₂ za vzniku redukovaných kofaktorů (NADH a FADH₂), které jsou dále reoxidovány v dýchacím řetězci. Krebsův cyklus propojuje metabolismus sacharidů, tuků a bílkovin. Přímo do cyklu vstupují molekuly získané z procesů katabolismu glukózy (glykolýza a následná oxidace pyruvátu), mastných kyselin (prostřednictvím β -oxidace mastných kyselin) a aminokyselin (prostřednictvím oxidativní deaminace a transaminace) (Nolfi-Donagan et al., 2020). Při aktivaci glykolýzy a oxidace mastných kyselin je zvýšená aktivita TCA, jelikož tyto reakce jsou hlavním zdrojem acetyl-CoA. A právě množství acetyl-CoA a oxalacetátu ovlivňuje celkovou aktivitu TCA (Holeček, 2016). Všechny enzymy TCA jsou lokalizovány v matrix mitochondrií, kde probíhá i celý cyklus. (Alabduladhem et

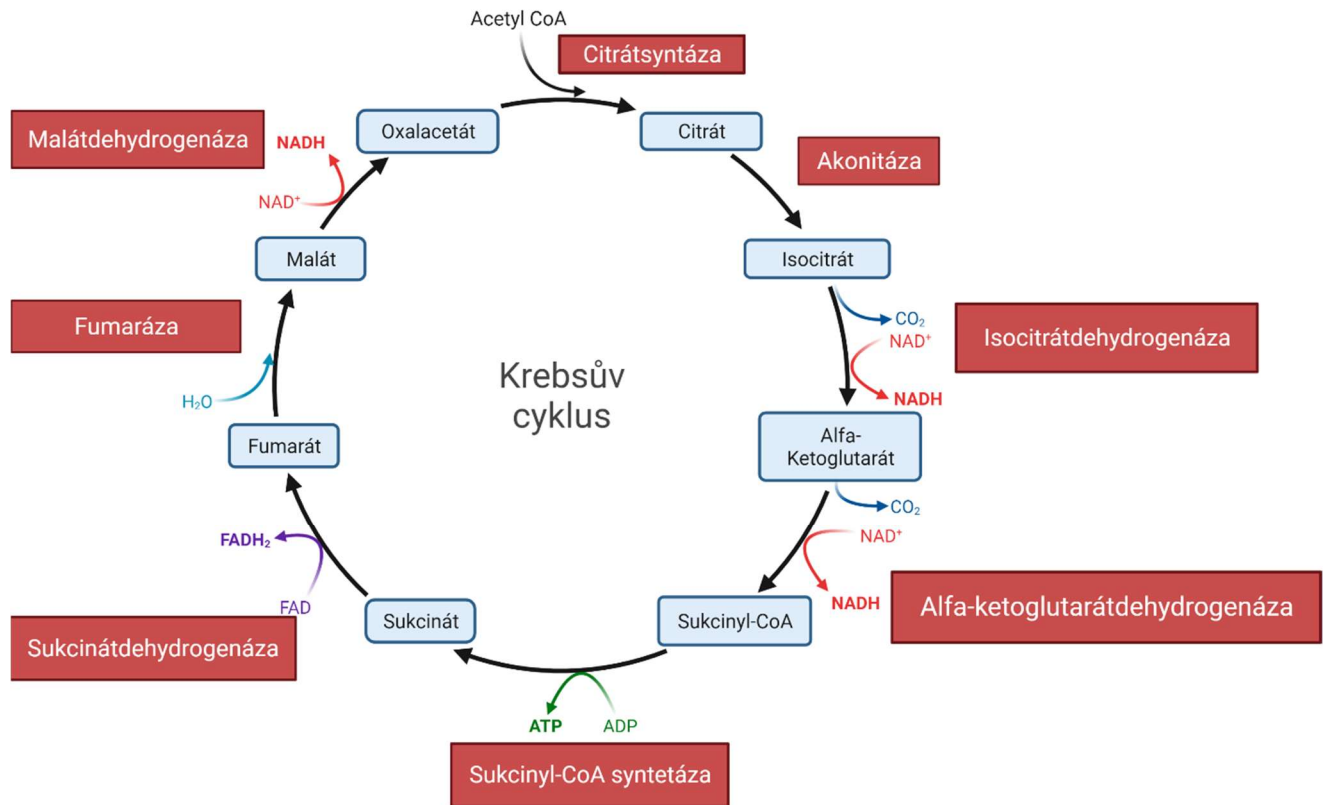
al., 2022) Enzymy jsou ovlivněny zejména allosterickými vlivy změn koncentrací ATP, ADP, NADH a NAD⁺. Kdy vzestup poměrů ATP/ADP a NADH/NAD⁺ zpomaluje rychlost reakcí TCA. Nejpomalejší reakcí celého cyklu je přeměna isocitrátu na α–ketoglutarát, která je regulována především poměrem ATP/ADP. (Holeček, 2016)

Mitochondriální enzymy podílející se na Krebsově cyklu:

1. Citrátsyntáza (CS) je enzym účastnící se prvního kroku Krebsova cyklu. V tomto kroku do reakce vstupuje oxalacetát a acetylkoenzym A (acetyl-CoA). Citrát syntáza katalyzuje kondenzaci acetyl-CoA na citrát.
2. Akonitáza katalyzuje přeměnu citrátu na isocitrát.
3. Isocitrátdehydrogenáza se podílí na oxidativní dekarboxylaci isocitrátu na α–ketoglutarát.
4. α–ketoglutarátdehydrogenáza je enzym, který katalyzuje oxidativní dekarboxylaci α–ketoglutarátu na sukcinylkoenzym A (sukcinyl-CoA). Při této dekarboxylaci dochází ke vzniku CO₂.
5. Sukcinylkoenzym A (Sukcinyl-CoA) syntetáza katalyzuje přeměnu sukcinyl-CoA na sukcinát. Při této reakci dojde k uvolnění koenzymu A (CoA). A zároveň zde dochází k fosforylaci na substrátové úrovni, kdy vznikne guanosintrifosfát (GTP) z guanosindifosfátu (GDP).
6. Sukcinátdehydrogenáza katalyzuje přeměnu sukcinátu na fumarát. Jedná se o jediný enzym Krebsova cyklu, který je zabudován ve vnitřní membráně mitochondrií. Zároveň je tento enzym součástí elektronového transportního řetězce.
7. Fumaráza katalyzuje přeměnu fumarátu na malát.
8. Malátdehydrogenáza katalyzuje poslední krok tohoto cyklu. V tomto kroku dochází k přeměně malátu na oxalacetát. Dojde k dokončení cyklu a oxalacetát může být použit k zahájení dalšího cyklu. (Berg et al., 2019)

Při TCA dochází ke vzniku celkem 3 molekul NADH+H⁺, 1 molekuly FADH₂ a 1 molekuly ATP, 2 molekul CO₂ a k regeneraci CoA. První NADH+H⁺ se uvolňuje ve 3. kroku při přeměně isocitrátu na α–ketoglutarát. Druhá molekula vznikne při kroku č. 4 kdy se vzniklý α–ketoglutarát přeměňuje na sukcinyl-CoA a třetí molekula se uvolní při poslední reakci TCA, kdy z malátu opět vzniká oxalacetát. K uvolnění FADH₂

dochází při přeměně sukcinátu na fumarát v rámci 6. kroku. A ATP se uvolňuje při přeměně sukcinyl-CoA na sukcinát. (Holeček, 2016)



Obrázek 2: Krebsův cyklus.

CoA = koenzym A; NADH = nikotinamidadenin dinukleotid;
 ATP = adenosin trifosfát; ADP = adenosin difosfát; FADH₂ = flavinadenin dinukleotid
 Zdroj: upravená předloha „Krebs cycle“ od BioRender.com, 2023

Anaplerotické a kataplerotické reakce

Meziprodukty TCA představují vstupy a konce několika metabolických drah, proto má TCA zásadní postavení v reakcích intermediárního metabolismu. Anaplerotické a kataplerotické reakce zajišťují doplňování a odstraňování těchto meziproduktů. Metabolická úloha těchto drah v organismu se liší podle konkrétních orgánů a závisí na nutričním/metabolickém stavu jedince. (Owen et al., 2002)

Anaplerotické reakce doplňují meziprodukty, které jsou v biosyntetických procesech TCA odstraňovány. Meziprodukty jsou doplňovány kvůli zajištění dalšího průběhu a funkce TCA. Anapleróza je povinná během glukoneogeneze a lipogeneze. Při těchto reakcích vystupuje malát (glukoneogeneze) a citrát (lipogeneze) z TCA

a opouští mitochondrii. Následně jsou tyto sloučeniny metabolizovány za vzniku glukózy nebo mastných kyselin. Aby nedošlo k zastavení TCA musí se při aktivaci glukoneogeneze zajistit dostatek oxalacetátu. Toto zajišťuje například vzestup aktivity pyruvátcarboxylázy, která katalyzuje syntézu oxalacetátu z pyruvátu.

Mezi hlavní funkce kataplerózy patří biosyntetické procesy např. glukoneogeneze v játrech a ledvinách, lipogeneze v játrech, glyceroneogeneze v tukové tkáni. Kataplerotické reakce se také podílejí na likvidaci meziproductů TCA. Pokud je možné meziproducty do cyklu přidat, je stejně důležité je i odstranit. Jejich odstraněním se předejde hromadění aniontů v matrix mitochondrií. Každá z kataplerotických reakcí má jako substrát aniont TCA. Ten se následně přeměňuje na produkt a odstraňuje intermediáty z cyklu. Na těchto reakcích se podílí řada kataplerotických enzymů, například fosfoenolpyruvátcarboxykináza, aspartátaminotransferáza a glutamátdehydrogenáza. Důležitá je rovnováha mezi anaplerózou a kataplerózou, jelikož při nadměrné aktivaci kataplerotických reakcí může dojít k narušení fungování TCA, tvorby NADH a následné syntézy ATP. (Owen et al., 2002; Holeček, 2016)

1.3.1.2 Elektronový transportní řetězec

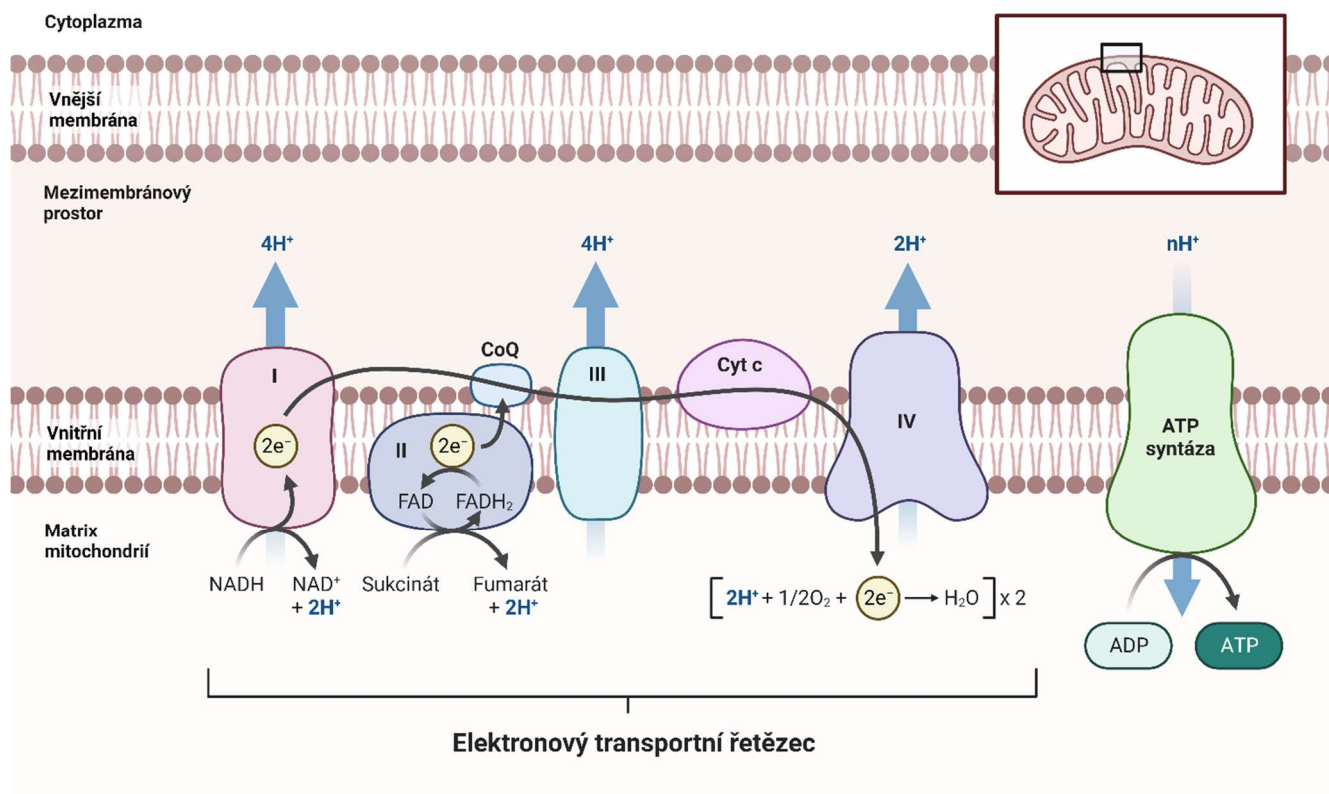
Elektronový transportní řetězec (ETC) je soubor redoxních reakcí, které zajišťují postupný přenos elektronů na kyslík a tím umožňují následnou tvorbu ATP (Obrázek 3). Vstupují sem redukované kofaktory z TCA. Tento řetězec je regulován řadou faktorů. Mezi hlavní patří koncentrace ADP, kyslíku a NADH (Holeček, 2016). Řetězec se klasicky skládá z 5 proteinových komplexů, integrovaných do vnitřní mitochondriální membrány. Mezi komplexy ETC patří:

1. Komplex I – NADH dehydrogenáza. Jedná se o největší enzym celého řetězce. Komplex I má tvar L. Jeho rozsáhlá část je zapuštěna do lipidové dvojvrstvy vnitřní mitochondriální membrány a menší rameno je v mitochondriální matrix. Na tento enzym vstupuje $\text{NADH} + \text{H}^+$ z TCA cyklus. Komplex I katalyzuje přenos elektronů z $\text{NADH} + \text{H}^+$ na ubichinon (koenzym Q (CoQ)). Po přenosu elektronů dojde k redukci CoQ na ubichinol (QH_2). Z tohoto komplexu dochází k přímému přečerpávání 4 protonů přes membránu do mezimembránového prostoru.

Mimo tento komplex probíhá přenos elektronů na CoQ pomocí glycerolfosfát dehydrogenázy a flavoprotein přenášející elektrony (ETF):Q oxidoreduktázy (ETF:QO).

2. Komplex II – sukcinátdehydrogenáza. Tento komplex je propojujícím místem mezi ETC a TCA, jelikož se vyskytuje v obou metabolických cyklech. Jedná se o druhé nezávislé vstupní místo elektronů do ETC. Jako jediný ze všech komplexů neprostupuje přes vnitřní membránu, proto není protonovou pumpou a nepodílí se na tvorbě protonového gradientu. Zároveň je jako jediný vstupním místem pro FADH₂, který také přenáší elektrony na CoQ, který se poté zredukuje stejně jako v komplexu I na QH₂.
3. Komplex III – cytochrom c oxidoreduktáza. Tento komplex oxiduje dříve vzniklý QH₂ zpět na CoQ. Elektrony z QH₂ jsou předány cytochromu c (cyt c), který je transportuje do komplexu IV. Na každý přenesený elektron do cyt c jsou přečerpány 2 protony do mezimembránového prostoru.
4. Komplex IV – cytochrom c oxidáza (COX). Zde je finálním akceptorem elektronů z cyt c molekulární kyslík. Po navázání elektronů dojde k redukci kyslíku za vzniku vody. Tato redukce vede k čerpání 4 protonů, ale 2 jsou spotřebovány v procesu, proto finální počet přepumpovaných protonů do mezimembránového prostoru jsou 2. (Chaban et al., 2014; Nolfi-Donagan et al., 2020)
5. Komplex V – ATP-syntáza. Skládá se ze dvou podjednotek. První podjednotka se značí F₁, jedná se o ve vodě nerozpustnou podjednotku, která vyčnívá do mitochondriální matrix. Naopak druhá podjednotka F₀ proniká skrz vnitřní membránu a funguje jako protonový kanál. Tento kanál umožňuje tok protonů po elektrochemickém gradientu z mezimembránového prostoru zpět do matrix. Při jejich průtoku dochází k rotaci prstence c podjednotky v části F₀. Tato rotace je dále přenášena na podjednotku F₁, na které dojde ke změně konformace a umožní fosforylaci ADP na ATP (Walker, 2013). Transport fosfátových aniontů potřebných pro fosforylaci je umožněn symportem s H⁺. A následný transport ATP z matrix do cytoplasmy je možný díky antiportu s ADP přes

vnitřní mitochondriální membránu a následně prostou difúzí přes zevní membránu (Holeček, 2016)



Obrázek 3: Elektronový transportní řetězec.

I = komplex I (NADH dehydrogenáza);
 II = komplex II (sukcinátdehydrogenáza); III = komplex III (cytochrom c oxidoreduktáza); IV = komplex IV (cytochrom c oxidáza); NADH = nikotinamidadenindinukleotid; FADH₂ = flavinadenindinukleotid; CoQ = koenzym Q (ubichinon); Cyt c = cytochrom c, ADP = adenosindifosfát, ATP = adenosintrifosfát

Zdroj: upravená předloha „Electron Transport Chain“ od BioRender.com, 2023

Celková energetická bilance TCA a ETC

Jedna molekula NADH poskytne jeden elektronový pár, který umožní syntézu až 3 molekul ATP. Proto při jedné otočce TCA, při degradaci 1 molekuly acetyl-CoA vznikne 12 molekul ATP. Jelikož nám TCA poskytne 3 NADH, ze kterých vznikne 9 ATP. Poté FADH₂, která umožní syntézu až 2 molekul ATP. A nakonec nám 1 ATP poskytne přímo TCA (Holeček, 2016).

1.3.2 Reaktivní formy kyslíku

Reaktivní formy kyslíku (ROS) zahrnují různé radikálové i neradikálové oxidanty. Mezi radikálové patří superoxidové anionty a hydroxylové anionty. Do skupiny neradikálových oxidantů spadají peroxid vodíku (H_2O_2) a molekulární kyslík (Zorov et al., 2014). Volné radikály jsou nestabilní molekuly. Tento stav je vyvolán přítomností jednoho či více nepárových elektronů ve vnějším orbitu jejich atomů. Jelikož se jedná o vysoce reaktivní molekuly dochází k vytrhávání elektronů ze sousedních atomů. To má za následek poškození funkce dané molekuly. Radikály způsobují například poškození genomu, zvýšení genetické nestability a jsou zprostředkovatelé modulace různých procesů. Tyto procesy jsou spojeny s patogenezí nádorů (apoptózy, angiogeneze, metastazování) (Pekarčíková et al., 2014).

Mitochondrie jsou významným zdrojem buněčných ROS. V mitochondrii bylo identifikováno více míst produkujících ROS. Převažujícím místem jejich produkce je ETC. Nejčastěji se jedná o předčasný únik elektronů z komplexů I, II a III, které zprostředkovávají jednoelektronovou redukci kyslíku na superoxid, který může být následně dismutován na H_2O_2 (Nolfi-Donagan et al., 2020).

H_2O_2 vznikající v mitochondriích má mnoho možných osudů. Jedná se o relativně stabilní molekulu, která zároveň může procházet přes membránu. Mitochondriálně generovaný H_2O_2 může působit jako signální molekula v cytosol a ovlivňovat například buněčný cyklus, stresovou odpověď, energetický metabolismus či redoxní rovnováhu. H_2O_2 , sice vzniká v mitochondriích, ale zároveň může být eliminován mitochondriálními enzymy. Jedním z těchto enzymů je kataláza (přítomna v mitochondriích srdce a jater). Dále jsou v mitochondriích přítomné účinné peroxiredoxiny a přidružené reduktázy, které odstraňují H_2O_2 . Patří mezi ně mitochondriální systém glutathionperoxidáza/glutathionreduktáza, který odstraňuje H_2O_2 pomocí redukovaného glutathionu jako zdroje elektronů. Pokud peroxid vodíku není metabolizován mitochondriemi může vytvářet hydroxylový radikál, který je vysoce reaktivní a poškozuje okolní molekuly (Kowaltowski et al., 2009). Za vznikem hydroxylového radikálu stojí Fentonova reakce. Tou je označována reakce peroxidu vodíku s kovem, při které oxidují přechodné kovy (železnaté nebo měďnaté ionty) a současně je generován výše zmiňovaný hydroxylový radikál (Piterková et al., 2005).

Jako další ROS nelze opominout molekulární kyslík. U fotodynamické terapie je vytvářen záměrně, aby napomohl buněčné smrti, neboť může být důležitým faktorem při poškození mtDNA. Mitochondrie produkují a jsou v kontaktu s různorodou skupinou

oxidantů, které mají různou sílu, reaktivní vlastnosti, schopnost difundovat a být odstraněny specifickými antioxidanty. (Kowaltowski et al., 2009).

Mezi další zdroje ROS patří následující složky ETC: dihydrolipoamid dehydrogenáza, ETF:QO, sukcinátdehydrogenáza a mitochondriální glycerol-3-fosfát dehydrogenáza (mGPDH). Jedná se o flavin dependentní dehydrogenázy, které fungují buď v metabolismu trikarboxylových kyselin, nebo dodávají elektrony CoQ (Mráček et al, 2014).

ETF:QO oxidoreduktáza je jedním z dodavatelů elektronů CoQ,. Elektrony získává z FADH₂, který je produktem např. oxidace mastných kyselin, či rozkladu aminokyselin. Celý proces je pak završen, když FADH₂ předá elektrony ETF a následně na ETF:QO. Elektrony dále putují přes FAD na QH₂, který vstoupí do ETC přes komplex III (Henriques et al., 2021).

Dalším dodavatelem elektronů CoQ je mGPDH, která se nachází na vnější straně vnitřní mitochondriální membrány a je součástí glycerolfosfátového člunku. Jedná se o ubichinon oxidoreduktázu spojenou s FAD, která své elektrony přenáší přímo na CoQ. mGPDH oxiduje glycerol-3-fosfát na dihydroxyacetonfosfát, ten je následně redukován zpět na glycerol-3-fosfát pomocí cytosolové formy GPDH. Tento krok oxidace glycerol-3-fosfátu stimuluje mitochondriální produkci ROS, který se uvolňuje do matrix i mezimembránového prostoru (Quinlan et al., 2013).

1.3.3 Apoptóza

Apoptóza je programovaná buněčná smrt. Dochází při ní k zastavení růstu a dělení buňky. Zároveň se zahájí procesy, které nakonec vedou k řízení buněčné smrti. Při apoptóze nedochází k vylití obsahu buňky, ale vznikají apoptotická tělíška, která jsou následně fagocytována makrofágy. Tento děj je důležitý pro udržení homeostázy tkání a zabránění růstu poškozených či abnormálních buněk (D'Arcy, 2019). Existují dvě hlavní apoptotické dráhy, vnitřní a vnější (Obrázek 4). Já se v této práci budu věnovat pouze vnitřní dráze, která je úzce spjata s mitochondriemi.

1.3.3.1 Vnitřní mitochondriální dráha

Vnitřní dráha je jinak také nazývaná mitochondriální dráha. Mitochondrie v tomto procesu hrají klíčovou roli a samy prochází řadou změn. Například u nich dochází k otevření pórů ve vnější membráně, tím dochází k uvolňování molekul z mitochondrie, což má za následek ztrátu membránového potenciálu (Wang et al., 2009). Základním rysem je uvolňování cyt c a dalších proteinů z mezimembránového

prostoru. Tento děj je regulován rovnováhou mezi proapoptotickými a antiapoptotickými proteiny rodiny BCL-2 a iniciačními a efektorovými kaspázami (Bertheloot et al., 2021).

Vnitřní dráha je indukována řadou podnětů, které působí hned na několik cílů v buňce. Tato dráha je přímo závislá na molekulách uvolňovaných z mitochondrií, které vedou k následným změnám mitochondriální struktury. Proces vedoucí k uvolňování molekul je zahájen pozitivní nebo negativní cestou.

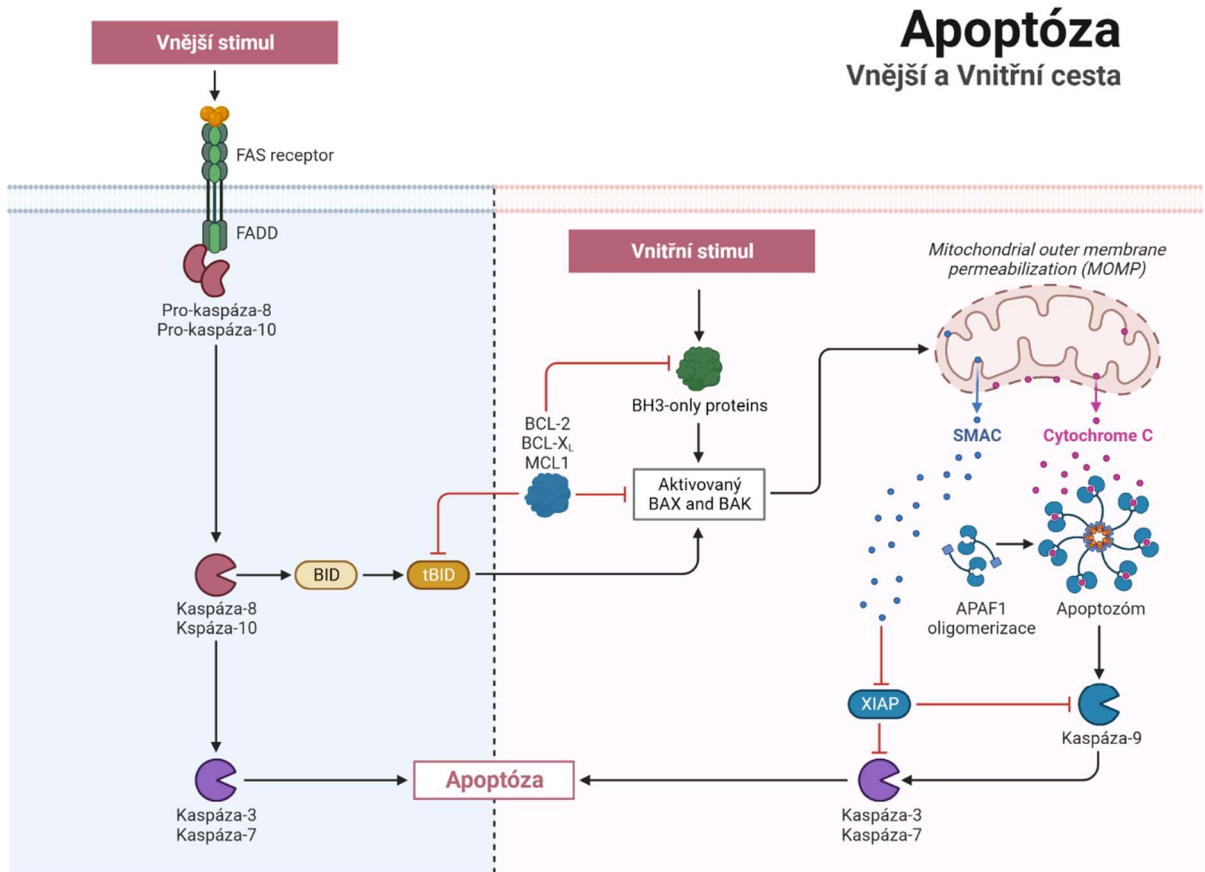
Negativní cesta je spuštěna v případě nepřítomnosti cytokinů, hormonů a růstových faktorů v bezprostředním okolí buňky (D'Arcy, 2019). Tyto látky jsou nezbytné pro přežití, a v jejich nepřítomnosti se v buňce objevují proapoptotické proteiny BCL-2, kterými jsou BAK, BAX a PUMA. Dále je můžeme rozdělit na aktivátory (BIM, BID a PUMA) a senzitizerů (BAD, NOXA a BIK) (Bertheloot et al., 2021). Tyto proapoptotické molekuly jsou za normálních okolností inhibovány. Pokud nedojde k jejich inhibici, tak se aktivují a zahájí apoptózu. Při pozitivní cestě dochází k vystavení hypoxii, toxinům, toxickým látkám, záření, ROS nebo virům (D'Arcy, 2019).

Při vnitřní dráze apoptózy dochází mimo jiné k uvolňování cyt c. Jeho uvolňování podporují proapoptotické proteiny BCL-2, konkrétně BAX a BAK, které jsou hlavními efektorů apoptózy. Tyto proteiny podléhají konformačním změnám, které umožňují jejich oligomerizaci. Oligomerizované BAX a BAK vytvářejí póry v membráně, což permeabilizuje vnější mitochondriální membrány (MOMP) (Bertheloot et al., 2021) K MOMP přispívá také iniciační kaspáza 9, která tuto dráhu řídí. Iniciační kaspáza 9, se dokáže vázat na apoptotický proteázový aktivační faktor 1 (APAF-1) po odhalení jeho kaspázové náborové domény (CARD doména). V neapoptotické buňce je obvykle složena tak, že její CARD doména a prokaspáza 9 jsou zablokovány, a tudíž nemůže dojít k jejich navázání. Poté co dojde k indukci apoptózy ať už negativními nebo pozitivními podněty, dochází k navázání a zároveň ke změnám mitochondriální membrány. Tyto změny umožňují vznik MOMP (D'Arcy, 2019).

Jakmile jsou póry otevřeny mohou proapoptotické proteiny (cytochrom c, Smac/Diablo a HtrA2/Omi) unikat z mitochondrií do cytoplazmy a aktivovat apoptózu. Smac a HtrA2 podporují apoptózu tím, že inhibují XIAP (protein inhibující apoptózu). Cyt c indukuje apoptózu vazbou na APAF-1, což vede ke konformační změně APAF-1, která odhalí nukleotid a oligomerizační doménu, která je schopna navázat deoxyATP (dATP) (D'Arcy, 2019). Toto má za následek tvorbu apoptosomu, jedná se o masivní

komplex, který se skládá z cyt c, APAF-1, dATP a prokaspázy 9. Zároveň uvolňování cyt c aktivuje kaspázu 3 a sestavený apoptosom aktivuje kaspázu 9. Kaspáza 9 následně štěpí proformy proteáz kaspázu 3 a 7 (Bertheloot et al., 2021).

Proteiny přispívající k apoptóze neboli senzibilizující proteiny inhibují antiapoptotické faktory. Naopak inhibice tohoto děje probíhá pomocí proteinů skupiny IAP (IAP1/2, XIAP), které aktivují inhibici kaspázy 3 (Bertheloot et al., 2021).



Obrázek 4: Apoptóza, vnější a vnitřní cesta.

APAF1 = proteázový aktivátor apoptózy 1

Zdroj: upravená předloha „Apoptosis Extrinsic and Intrinsic Pathways“ od BioRender.com, 2023

1.3.4 Mitochondriální kalciová homeostáza

Nesmírně důležitou roli hraje akumulace vápníku v mitochondriální matrix. Je to z toho důvodu, že vápník má v mitochondriích spoustu funkcí a jeho akumulace je tak důležitá pro energetický metabolismus. Ca^{2+} v mitochondriích aktivuje tři matrixové enzymy, pyruvátdehydrogenázu, citrátdehydrogenázu a α -ketoglutarátdehydrogenázu (Belosludtsev, 2019). Vápník je totiž nezbytný pro oxidativní fosforylaci (OXPHOS)

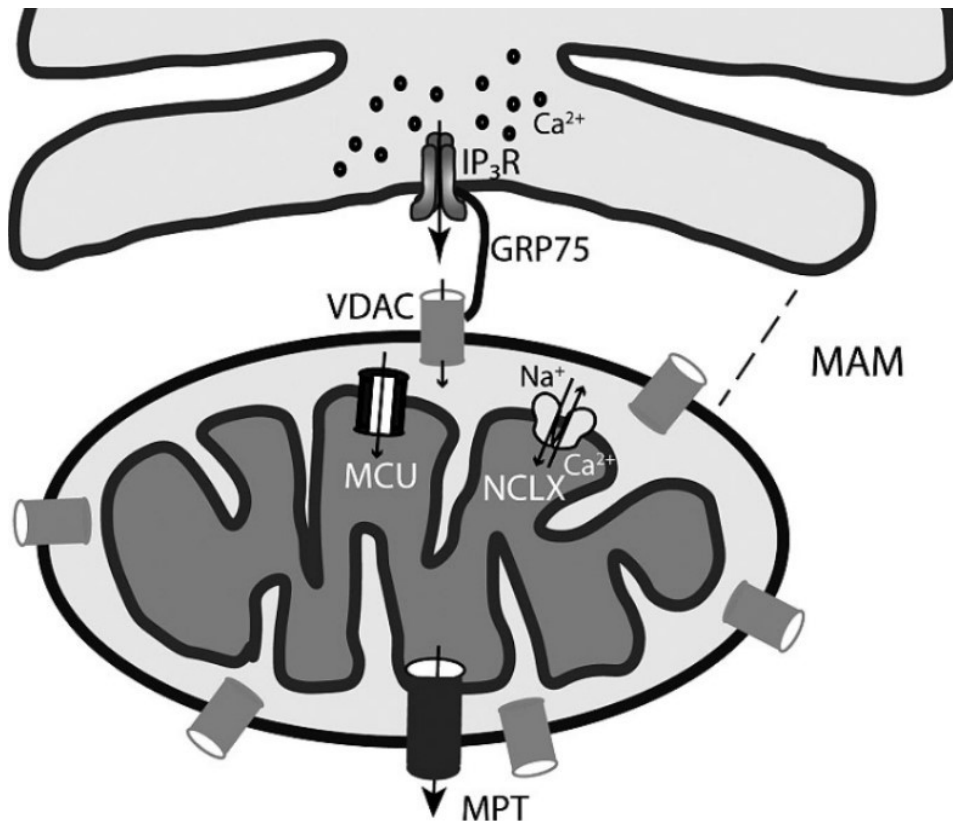
a TCA cyklus, jelikož posiluje aktivitu výše zmíněných mitochondriálních dehydrogenáz. Výsledkem pak je zvýšení mitochondriální produkce ATP. ROS spolu s Ca^{2+} patří k signálním molekulám a účastní se řízení buněčné smrti (Paupe et al., 2018). K té dochází při nadměrné akumulaci Ca^{2+} v mitochondriích. Ta je příčinou otevření dvou typů přechodový pór mitochondriální membrány (MPT pór) a lipidového póru vyvolaného mastnými kyselinami. Takto dlouhodobá nekontrolovaná permeabilizace vede ke kolapsu membránového potenciálu, rozpadu mitochondrií, výskytu proapoptotických proteinů v cytoplazmě a ve svém důsledku k buněčné smrti (Belosludtsev et al., 2019). Mitochondriální akumulace a uvolňování Ca^{2+} rovněž hraje roli v regulaci cytosolické homeostázy a tím ovlivňuje vstup Ca^{2+} z extracelulárního prostředí (EC). Toto ovlivňuje například buněčné funkce, jako jsou svalové kontrakce, excitabilita neuronů a migrace buněk (Paupe et al., 2018).

Regulace intracelulární koncentrace a Ca^{2+} vln probíhá vstupem Ca^{2+} z EC prostředí. Tato regulace intracelulární koncentrace vápníku je důležitým mechanismem intracelulární signalizace. K realizaci této regulace dochází prostřednictvím interakce několika organel, které vycytávají a uvolňují vápník, což zajišťuje koordinovaný a rychlý přenos Ca^{2+} signálu. Mitochondrie hrají v tomto procesu velice důležitou roli, protože fungují jako hlavní nárazníkový systém pro vápenaté ionty a tím slouží jako obrana proti nadbytku Ca^{2+} v cytoplazmě. Mitochondrie jsou totiž schopny snižovat vysoké koncentrace Ca^{2+} iontů v cytoplazmě a akumulovat je v mitochondriální matrix, kde tvoří komplexy s anorganickými a jinými fosfáty (Belosludtsev et al., 2019).

Uvolňování Ca^{2+} probíhá zejména z Golgiho aparátu a endoplasmatického retikula (ER). Krátkodobé prudké uvolnění Ca^{2+} z ER vede ke zvýšení cytosolové koncentrace až na mikromolární úroveň, přitom koncentrace klidového cytosolu $[\text{Ca}^{2+}] \approx 100 \text{ nM}$ (Paupe et al., 2018). Takové zvýšení vede k vycytávání Ca^{2+} mitochondriemi a aktivaci uniporteru Ca^{2+} (Belosludtsev et al., 2019). Vycytávání Ca^{2+} uvolněného z ER pomocí mitochondrií je dáno těsnou blízkostí těchto organel. Bylo totiž zjištěno, že membrána ER a vnější membrána přilehlých mitochondrií tvoří společné vazby, tzv. membrány spojené mitochondriemi (MAM) (Obrázek 5). Uvolňování Ca^{2+} z ER v MAM kontaktech je určováno především inositol-1,4,5-trifosfátovým receptorem (IP3R) a méně ryanodiovým receptorem (RyR). Po stimulaci IP3R se uvolní nahromaděný Ca^{2+} z ER do kontaktní zóny MAM což vede k tvorbě mikrodomén, díky kterým se vápník dostává přes mitochondriální porin ve vnější

mitochondriální membráně až do mezimembránového prostoru (Belosludtsev et al., 2019). Tento vstup přes vnější mitochondriální membránu je možný díky napětově řízenému aniontovému kanálu. Poté dochází k transportu iontů přes mezimembránový prostor pomocí mitochondriálního kalciového uniporteru (MCU) (Paupe et al., 2018). Z elektrofyziologických studií vyplývá, že uniportér je iontový kanál s vysokou vodivostí a selektivitou. Komplex mimo jiné zahrnuje dva proteiny MICU1 a MICU2, které vážou Ca^{2+} v mezimembránovém prostoru. Na úrovni MCU se jedná o podjednotku, která tvoří póry. Podjednotky MICU1/2 kontrolují aktivitu póru na základě cytosolických hodnot Ca^{2+} (Oxenoid et al., 2016). MICU1 je považován za správce brány MCU, který při nízké cytosolové hodnotě Ca^{2+} MICU1 inhibuje aktivitu MCU, a naopak při vysoké cytosolové hodnotě aktivuje MCU (Paupe et al., 2018). Příjem Ca^{2+} přes MCU je závislý na koncentraci iontů v prostředí a probíhá v závislosti na elektrochemickém potenciálovém gradientu, který vzniká oxidací respiračních substrátů nebo aktivací mitochondriální ATPázy (Belosludtsev et al., 2019).

Rovnováha mezi vstupem a uvolňováním vápníku je zodpovědná za udržování intracelulární homeostázy vápníku za fyziologických o patologických podmínkách. Byly zjištěny dva způsoby uvolňování Ca^{2+} z mitochondrií. První je uvolňování závislé na Na^+ a druhý typ je nezávislý. Výměna závislá na Na^+ je $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiport (NCLX), který je využíván v excitačních tkáních (mozek, srdce). Předpokládá se, že výměna $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ je elektrogenní se stechiometrií tři ionty Na^+ na jeden iont Ca^{2+} . Zatímco výměna nezávislá na Na^+ je zprostředkována $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Letm1), která probíhá v neexcitabilních tkáních (játra). Jedná se o elektroneutrální výměnu se stechiometrií, dva protony na jeden Ca^{2+} . Oba systémy provádějí pomalé uvolňování vápníku z mitochondrií. Rychlost transportu vápníku přes ně je výrazně pomalejší než rychlost příjmu vápníku přes Ca^{2+} uniporter (Belosludtsev et al., 2019).



Obrázek 5: MAM kontakty mezi endoplasmatickým retikulem a mitochondriemi.

MAM = membrány spojené mitochondriemi; MCU = mitochondriální kalciový uniporter; MPT = přechodový pór mitochondriální membrány; NCLX = Na⁺/Ca²⁺ antiport; VDAC = mitochondriální porin; IP₃R = inositol-1,4,5-trifosfátový receptor; GRP75 = glukózou regulovaný protein 75

Zdroj: Belosludstev, 2019

1.3.5 Metabolismus lipidů

1.3.5.1 β -oxidace mastných kyselin

Mastné kyseliny jsou důležitým energetickým substrátem, zároveň jsou stavebními kameny pro biosyntézu makromolekul. β-oxidace mastných kyselin je hlavní cestou pro jejich degradaci. Tento proces má zvláštní význam během půstu, kdy je zásobování glukózou omezené. Za těchto podmínek může většina tkání, kromě mozku, využívat mastné kyseliny přímo k výrobě ATP (Houten et al., 2010).

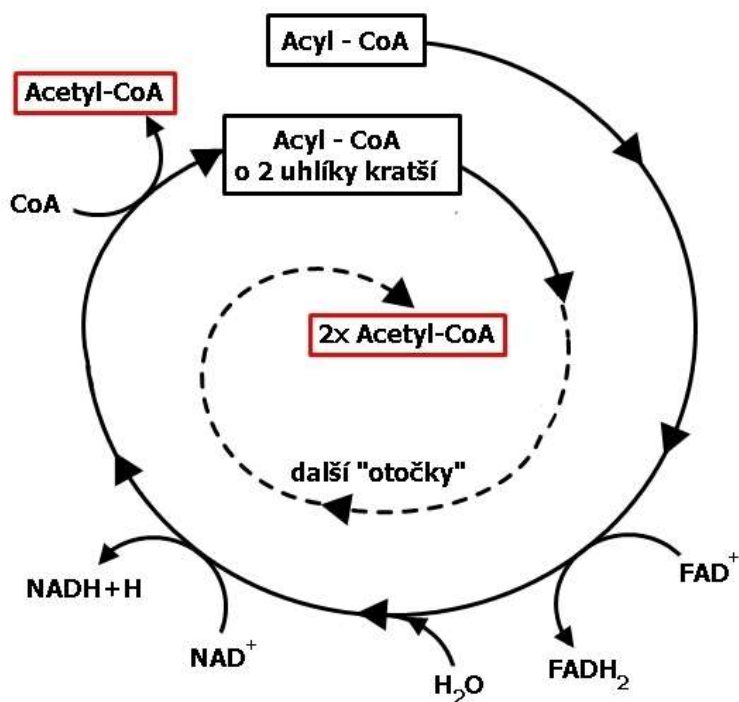
Mitochondriální β-oxidace nasycených mastných kyselin je katabolická dráha, na níž se podílí řada enzymů a při níž z esterů mastných acyl-CoA vzniká acetyl-CoA, NADH⁺ a FADH₂ (Obrázek 6). Nejdříve je nutná thioesterifikace mastných kyselin na CoA, a to za vzniku esterů mastných acyl-CoA. Po této reakci mohou mastné kyseliny vstoupit do různých metabolických drah. Aby mohly estery mastných acyl-CoA

s dlouhým

a středním řetězcem vstoupit přes mitochondriální membránu, je zapotřebí systému L-karnitinu. Karnitin palmitoyltransferáza-1 katalyzuje přenos acylových skupin z esterů acyl-CoA na L-karnitin na vnější mitochondriální membráně. Karnitin acylkarnitin translokáza přenáší acyl-karnitinové estery dovnitř mitochondrie výměnou za volný L-karnitin, který opouští mitochondrii. Karnitin palmitoyltransferáza-2 přenáší acylové skupiny z esterů acylkarnitinu na CoA, čímž vznikají estery acyl-CoA na vnitřní straně vnitřní mitochondriální membrány (Adeva-Andany et al., 2019).

Jakmile jsou acyl-CoA v mitochondriální matrix, dochází k jejich degradaci na jednotky acetyl-CoA prostřednictvím klasické série čtyř enzymových reakcí nazývaných β -oxidace (Obr.6). β -oxidační dráha je cyklický proces, ve kterém jsou acyl-CoA zkráceny, zatímco jsou uvolněny dva uhlíky jako jednotky acetyl-CoA pokaždé, když je cyklus zcela dokončen (Houten et al., 2010).

Prvním krokem je dehydrogenace acyl-CoA-esteru za vzniku trans-2-enoyl-CoA (Houten et al., 2010). Tato reakce je katalyzována acyl-CoA dehydrogenázou. Výsledkem je generování $FADH_2$, který přenáší elektrony na ETF a ten je následně přenáší na CoQ. ETF slouží jako elektronový člunek mezi acyl-CoA dehydrogenázami a dýchacím řetězcem. Následuje hydratace dvojně vazby za katalýzy enoyl-CoA hydratázou. Třetí krok katalyzuje L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenáza, kdy dochází k dehydrogenaci L-3-hydroxyacyl-CoA na 3-ketoacyl-CoA. Při tomto kroku vystupuje jako meziprodukt NADH. K poslednímu kroku dochází za katalýzy thiolasa-3-ketoacyl-CoA (Adeva-Andany et al., 2019). Jedná se o proces thiolýtického štěpení 3-keto-acyl-CoA za vzniku acyl-CoA se zkráceným řetězcem o dva uhlíky a acetyl-CoA. Výsledný acyl-CoA vstupuje do dalšího cyklu β -oxidace, acetyl-CoA může vstoupit do TCA cyklu a elektronové nosiče doručí elektrony do ETC (Houten et al., 2010).



© www.stefajir.cz

Obrázek 6: Schéma β -oxidace nasycené mastné kyseliny se sudým počtem uhlíků.

CoA = koenzym A; FADH₂ = flavinadenindinukleotid;

NADH = nikotinamidadenindinukleotid

Zdroj: Štefánek, 2011

1.3.5.2 Ketogeneze

Ke ketogenezi dochází při vysoké míře β -oxidace mastných kyselin v játrech. Za metabolických podmínek spojených s vysokou rychlostí oxidace mastných kyselin produkují játra značné množství acetoacetátu a 3-hydroxybutyrátu. Acetoacetát neustále podléhá spontánní dekarboxylaci za vzniku acetonu. Tyto tři látky se souhrnně označují jako ketonová tělíska. Acetoacetát a 3-hydroxybutyrát jsou vzájemně přeměňovány mitochondriálním enzymem 3-hydroxybutyrát dehydrogenázou. Cesta ketogeneze zahrnuje syntézu a odbourávání 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA dvěma klíčovými enzymy 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA syntázou a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyázou. Aby mohla ketogeneze probíhat musí být v mitochondriích přítomny oba enzymy. (Murray et al., 2003).

2 Tkáňové rozdíly

Mitochondriální různorodost a rozmanitost je napříč tkáněmi opravdu velká. Tyto odlišnosti závisí na metabolických a energetických požadavcích daných tkání. Proto mitochondriální rozdíly odráží rozdílné metabolické role, které jednotlivé tkáně vykonávají v organismu, a zároveň různý podíl OXPHOS na hlavních metabolických procesech. Významné odlišnosti v metabolismu mitochondrií se podílí na jejich rozdílném počtu, funkci, morfologii, složení lipidů a proteinové výbavě. Mimo jiné má každá mitochondrie specifický režim replikace mtDNA, jelikož tento režim představuje strategii pro danou tkáň k řešení vnitřního oxidačního stresu. Proto se počet kopií mtDNA mění v závislosti na typu buňky a na míře rizika poškození daného orgánu. Zároveň mitochondrie vykazují v závislosti na tkáni rozmanité vzorce v produkci ROS.

2.1 Játra

2.1.1 Metabolismus jater

Játra regulují energetický metabolismus celého těla a jsou hlavním metabolickým orgánem, který propojuje metabolismus různých tkání. Do jater jsou transportovány mastné kyseliny, aminokyseliny a glukóza, tyto látky jsou přijímány z potravy. V játrech pak dochází k celé řadě procesů, jak je uvedeno níže.

Glukóza je v játrech skladována ve formě glykogenu, anebo je přeměněna na pyruvát prostřednictvím glykolýzy v cytoplazmě. Pyruvát je následně oxidován v mitochondriích za vzniku ATP prostřednictvím TCA cyklu a oxidační fosforylace. V případě jejího nadbytku dochází k přeměně na mastné kyseliny či aminokyseliny. Volné mastné kyseliny jsou v hepatocytech esterifikovány s glycerol-3-fosfátem na triacylglycerol (TAG). Ten se buď ukládá do hepatocytů ve formě lipidových kapének nebo je vyloučen do oběhu jako lipoproteinová částice s velmi nízkou hustotou (VLDL).

Aminokyseliny jsou oxidovány nebo se využijí k syntéze bílkovin, glukózy či jiných bioaktivních molekul. Nalačno v játrech probíhá glukoneogeneze nebo glykogenolýza, při kterých vylučují glukózu. Glukoneogenetickými substráty jsou alanin, laktát a glycerol, které se uvolňují ze svalů a rovněž z tukové tkáně při zátěži nebo hladovění. Půst podporuje lipolýzu v tukové tkáni, což vede k uvolňování neesterifikovaných mastných kyselin, které se v jaterních mitochondriích β – oxidací a ketogenezí přeměňují na ketolátky. Tento děj se odehrává v jaterních mitochondriích. Játry generovaná glukóza a ketolátky poskytují základní metabolická paliva pro extrahepatální tkáně během hladovění nebo cvičení (Rui, 2014).

Cholesterol může být v játrech syntetizován *de novo* z acetyl-CoA, jehož dvě molekuly kondenzují a reagují s třetí molekulou acetyl-CoA. Dochází tak ke vzniku 3-hydroxy-3-methylglutaryl koenzymu A. V dalším kroku pak dochází k přeměně této látky na mevalonát. Cesta k cholesterolu pak probíhá přes celou řadu reakcí a podílí se na ní více než 25 enzymů, jedná se o složitou metabolickou dráhu. Při tomto procesu v dílčích reakcích vznikají farnesylpyrofosfát, skvalen, 2,3-epoxiskalen a lanosterol (Chen et al., 2019). Rychlost omezující krok syntézy cholesterolu je katalyzován 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reduktázou (Alamri, 2018). Kromě syntézy *de novo* může buňka získávat exogenní cholesterol z krve a stravy, ve formě lipoproteinů nízké hustoty (LDL) vychytávaných prostřednictvím LDL receptorů. Játra produkují VLDL. Tyto lipoproteiny jsou bohaté na TAG a cholesterol. VLDL se přeměňuje na lipoproteiny střední hustoty a poté na LDL, které jsou výrazně obohacené o cholesterol a estery cholesterolu a nesou specifický apolipoprotein B. LDL jsou vychytávány LDL receptorem na povrchu hepatocytů a lymfocytů (Chen et al., 2019).

Další využití cholesterolu v játrech je při tvorbě žlučových kyselin. Mezi dvě primární žlučové kyseliny tvořené játry patří kyselina cholová a chenodeoxycholová (Alamri, 2018). Biosyntetická cesta od cholesterolu ke dvěma primárním žlučovým kyselinám je přítomna v játrech a skládá se nejméně ze 17 enzymů. Enzymy jsou rozmístěny v několika organelách včetně cytosolu, ER, mitochondriích a peroxisomech (Vaz et al., 2017).

Játra plní i další funkce při odstraňování toxických látek z krve. Játra metabolizují různé typy léčiv s cílem vytvořit z nich ve vodě rozpustné sloučeniny vylučované žlučí, popřípadě močí. Tento proces se nazývá jaterní detoxikace a probíhá ve dvou fázích. První fáze zahrnuje oxidační, redukční a hydrolytické reakce a je zprostředkována cytochromem P450. Cytochrom P450 je rodina enzymů nacházejících se převážně právě v játrech. Je zodpovědná za oxidační a redukční reakce, k nimž dochází během této první fáze. Zvýšení rozpustnosti léčiv ve vodě za současného zlepšení jejich vylučování je dosaženo mimo jiné i využitím železa, které je centrálním atomem porfyrinového kruhu cytochromu P450. Druhá fáze pak je charakteristická tím, že dochází ke konjugační reakci. V játrech probíhá i řada dalších reakcí nezávislých na cytochromu P450, například oxidace dopaminu a alkoholu a hydrolyza amidů a esterů (Alamri, 2018).

2.1.2 Mitochondrie jater

2.1.2.1 Morfologie

Mitochondrie hepatocytů lze považovat za metabolický uzel pro regulaci homeostázy. Jaterní mitochondrie jsou esenciální pro jaterní metabolismus, produkci ATP a regulaci řady signálních drah. Tento orgán obsahuje vysoký počet mitochondrií. Lze bez nadsázky říct, že je jedním z nejbohatších orgánů na počet mitochondrií vůbec (Morio et al., 2021). Nejen jejich počtem, ale i hustotou mitochondrií se dostává na přední příčky v pomyslném žebříčku mezi lidskými orgány. Každá mitochondrie může hostit dvě až deset kopií mtDNA, lze tedy předpokládat, že by se v jednom hepatocytu mohlo vyskytovat 500 až 4000 mitochondrií (Degli Esposti et al., 2012). Na základě výsledků výzkumu vědeckého týmu Benarda v oblasti morfologie jaterních mitochondrií se ukázalo, že jsou špatně rozlišitelné v elektronovém mikroskopu. Hlavním důvodem je sotva postřehnutelný obal, těsně provázaný s Golgiho aparátem. Nepravidelný a téměř nekompaktní tvar mitochondrií vychází z jejich tkáňové architektury. Typickým znakem mitochondrií v játrech je menší počet krist. Při porovnání s mitochondriemi ze srdce, kosterního svalu a mozku se jedná dokonce tkáň s jejich nejmenším počtem. Obsahují totiž pouze 26 ± 4 krist na jednotku povrchu mitochondriálního řezu (nejvyšší hodnoty dosahovalo srdce (124 ± 32)). Dále byla stanovována hustota mitochondriální matrix, která je vyjádřena poměrem denzity v matrix vs cytosolu. Bylo zjištěno, že játra jsou orgán s nejnižší hustotou mitochondriální matrix, která má poměr pouze $1,04 \pm 0,3$, zatímco v srdci dosahovaly hodnoty $1,91 \pm 0,42$ (Benard et al., 2006).

Jaterní mitochondrie obsahují nižší celkový obsah lipidů než svalové mitochondrie, ačkoliv mezi nimi není rozdíl co do počtu zjištěných druhů přítomných lipidů. Tým Kapplera na základě výsledků své studie totiž poukázal na hojnější zastoupení většiny tříd lipidů právě ve svalových mitochondriích. Naopak v mitochondriích jater bylo zjištěno vyšší relativní množství ceramidů, fosfatidylinosilů a fosfatidylcholinů. Zároveň byla pozorována odlišnost ve složení acylových řetězců u kardiolipinů. Řetězcem přítomným v játrech i svalech s nejsilnějším zastoupením byl kardiolipin obsahující čtyři acylové řetězce 18:2. V játrech pak byl nejhojněji se vyskytující kardiolipin obsahující acylové řetězce 20:4 (Kappler et al., 2019).

2.1.2.2 Metabolismus

Charakteristická pro játra je jejich metabolická zonace, která se vyznačuje rozdílnými metabolickými funkcemi napříč jaterním lalůčkem. Rozdílnost je způsobena odlišným obsahem enzymů v periportálních a perivenózních hepatocytech obsažených v játrech, což vede k různým metabolickým kapacitám podporujícím buď anabolické (neoglukogeneze, lipogeneze, glutaminogeneze) nebo katabolické (glykolýza, lipolýza, ureageneze) dráhy. V periportální zóně probíhá zejména glukoneogeneze a oxidativní fosforylace, v perivenózní zóně zejména *de novo* lipogeneze, glykolýza, metabolismus xenobiotik (Morio et al., 2021).

V jaterních mitochondriích je lokalizována řada metabolických drah, nebo jejich částí, jak je uvedeno dále.

Glukoneogeneze, první specifická metabolická cesta jaterních mitochondrií, převažuje v periportální oblasti jater. Klíčovými enzymy glukoneogeneze jsou mitochondriální pyruvátkarboxyláza a cytosolická fosfoenolpyruvát karboxykináza (Morio et al., 2021). Pyruvátkarboxyláza je vysoce zastoupena v jaterních mitochondriích (Kappler et al., 2019). Ke glukoneogenezi dochází při delším hladovění, kdy poměr ATP/AMP prudce klesá a zásoby glykogenu už nejsou dostatečné. Glukoneogeneze začíná přeměnou laktátu, glukoneogenních aminokyselin, event. glycerolu na pyruvát a oxaloacetát v mitochondriální matrix (Morio et al., 2021). Tato reakce probíhá za spotřeby 2 molekul ATP z matrix mitochondrií (Kunz, 2003). Oxaloacetát je následně transportován v cytosolu ve formě malátu nebo citrátu, kde následují další reakce vedoucí až ke tvorbě glukózy. Ta je následně přenesena glukózovými transportéry z ER, kde probíhá poslední její syntézy krok a poté volně difunduje ven z buňky (Morio et al., 2021).

Ureageneze, další metabolismus s jaterní specifitou, je metabolickou dráhou, která je striktně lokalizována v periportálních hepatocytech. Zahrnuje pět klíčových reakcí, které probíhají v cytoplasmě a mitochondriích jater. Jsou zde přítomny všechny enzymy potřebné k syntéze močoviny z amoniaku. Počáteční dvě reakce tohoto ornitinového cyklu probíhají v mitochondriích. První z nich je katalyzována karbamoylfosfátsyntetázou-1, dochází ke tvorbě karbamoylfosfátu (Morio et al., 2021). Syntéza karbamoylfosfátu vyžaduje 2 molekuly ATP a představuje hlavní spotřebu ATP v matrix mitochondrií (Kunz, 2003). Druhá z těchto počátečních reakcí se vyznačuje kondenzací karbamoylfosfátu s ornitem za vzniku citrulinu za katalýzy ornitranskarmoylázou. Export citrulinu z mitochondrií do cytosolu zajišťuje

citrulin-ornitinový antiporter, který je umístěn ve vnitřní mitochondriální membráně. Navazující cytosolové reakce vedou až k tvorbě ornitinu a močoviny. Po následném návratu ornitinu do mitochondrií nastává uzavření cyklu a reakce může probíhat znovu od začátku (Morio et al., 2021).

De novo je biochemický proces syntézy mastných kyselin z acetyl-CoA, který probíhá převážně v perivenózní oblasti hepatocytů. Při nadměrné konzumaci glukózy dochází ke zvýšené produkci acetyl-CoA v TCA cyklu, a to vede k zahájení tohoto procesu. Acetyl-CoA je exportován do cytosolu prostřednictvím citrátu s využitím mitochondriálního trikarboxylového transportního proteinu (Morio et al., 2021). Tento protein se vyskytuje v jaterních mitochondriích ve velkém zastoupení, což zapříčiňuje vysokou míru syntézy mastných kyselin a ketogeneze v játrech (Kappler et al., 2019). Celá řada reakcí probíhajících v cytosolu vede od citrátu až k nově syntetizovanému palmitoyl-CoA. Palmitoyl-CoA může dále potkat několik různých osudů, kterými může být prodloužení anebo denaturace uhlíkového řetězce, β -oxidace anebo uložení ve formě TAG, fosfolipidů a esterů cholesterolu (Morio et al., 2021).

β -oxidace mastných kyselin a ketogeneze jsou dalším významným mechanismem metabolismu jaterních mitochondrií. Mastné kyseliny v játrech jsou oxidovány hlavně v mitochondriích peripoertálních hepatocytů, a to reakcemi, jak je uvedeno výše (viz bod 1.3.5 teoretické části). Jaterní mitochondrie mají jedinečnou vlastnost, a sice že mitochondriální cyklus TCA není nutně spojen s β -oxidací (Morio et al., 2021). Tkáňové specifické složení proteinů mitochondrií je v souladu s orgánovou funkcí. Játra se vyznačují nejvyšším procentuálním zastoupením proteinů souvisejících s β oxidací. Konkrétně mitochondriální thiolasa-3-ketoacyl-CoA je druhým nejhojnějším proteinem v jaterních mitochondriích. Stejně tak při porovnání množství ETF v jaterních a ve svalových mitochondriích je jeho množství vyšší u jaterních mitochondrií. ETF totiž zprostředkovává redukci ubiquinonu pomocí FADH₂ pocházející z β -oxidace a degradace aminokyselin (Kappler et al., 2019).

Mitochondrie izolované z jater mají vysoké zastoupení enzymů zapojených do β -oxidace, ale na druhou stranu vykazují nižší obsah enzymů účastnících se TCA a OXPHOS než ostatní tkáně (Benard et al., 2006). Speciálním rysem hepatocelulárního TCA cyklu je, že obsahuje významné anaplerotické a neoxidativní kataplerotické dráhy potřebné pro glukoneogenezi, lipogenezi a ureagenezi. Anapleróza a katapleróza jsou podstatnou cestou v játrech, která je až 5x aktivnější než oxidativní tok cyklu TCA (Morio et al., 2021). Dle Vizzarovy studie vykazují játra

nejnižší specifické hodnoty COX a CS, a to ve srovnání s mozkem, srdcem a kosterním svalem. Naopak poměr COX/CS byl oproti ostatním tkáním nejvyšší. COX byl zvolen jako referenční hodnota pro aktivitu systému OXPHOS, protože tento enzym představuje poslední krok v dýchacím řetězci. Stejně tak CS byl zvolen jako referenční hodnota, jelikož je součástí TCA cyklu. Výsledky této studie potvrzují, že v jaterních mitochondriích je nižší zastoupení enzymů OXPHOS než v ostatních tkáních (Fernández-Vizarra et al., 2011). Jaterní mitochondrie mají i menší množství cyt c–129±12pmol/mg proteinu. Tato hodnota je 4x nižší než ve svalech či srdci, což souvisí s nižší rychlostí TCA cyklu a ETC v játrech (Benard et al., 2006). Při měření mitochondriální respirace se ukázalo, že jaterní mitochondrie dýchaly výrazně více po přidání sukcinátu, který je substrátem komplexu II. Zároveň se při tomto výzkumu zjistilo, že glutamátdehydrogenáza byla pátým nejhojnějším proteinem v jaterních mitochondriích, ale i tak se spotřeba kyslíku zvýšila po přidání glutamátu jen nepatrně. Z výše uvedeného vyplývá, že přísun elektronů prostřednictvím komplexu I do elektronového transportního řetězce má v mitochondriích nízkou kapacitu. Naproti tomu elektrony dodané prostřednictvím komplexu II z oxidace sukcinátu nebo prostřednictvím ETF z β -oxidace na ubichinon silně aktivují dýchání jaterních mitochondrií. Vysoká kapacita jaterních mitochondrií pro oxidaci sukcinátu je dána i tím, že sukcinátdehydrogenáza je nutná nejen pro přísun elektronů z ETC, ale také pro udržení glukoneogeneze (Kappler et al., 2019).

2.1.2.3 Další specifity

Topologie mtDNA poukázala na další rozdíly jaterní mtDNA v porovnání s ostatními tkáněmi. MtDNA z mozku a jater byla převážně v uvolněné konformaci otevřeného kruhu, kde převažují jednoduché kruhové monomery. Játra spolu s ledvinami vykazují vysoké množství klasických intermediátů replikace s asynchronním řetězcem (RITOLS). RITOLS je charakterizován tupým kratším bublinovým obloukem. Jedná se o lépe prozkoumaný řetězec a je tak popsán dostatečně podrobně mechanismus, při kterém se nejprve replikuje těžké vlákno, což vede k vytlačení templátů lehkého vlákna. Toto vytlačené vlákno je nejprve pokryto ribonukleovou kyselinou (RNA), ale až se zpožděním dochází v místě počátku replikace těžkého vlákna k vyústění v rostoucí replikační bublinu. Ta se po dosažení konce restričního fragmentu přemění na vidlicovité formy podobné písmenu Y. A právě ke vzniku replikační bubliny dojde v okamžiku, kdy replikace dosáhne konce

restrikčního fragmentu. Děje se tak v místě počátku replikace těžkého vlákna, jak už bylo výše uvedeno. Následně hybrid RNA:DNA obsahující replikační bubliny vytvoří v důsledku mírné degradace charakteristický otupený bublinový oblouk. Tento oblouk bude dále posuzován i v ostatních tkáních, jelikož je tkáňově specifický (Herbers et al., 2019).

Posledním bodem v rámci mitochondrií jater je signalizace Ca^{2+} . Hladiny mitochondriálního vápníku hrají klíčovou roli v regeneraci jater. Játra totiž skutečně mají jedinečnou schopnost regenerace po fyzickém zranění. K této regeneraci přispívají mitochondrie pomocí zvýšeného pufování Ca^{2+} , které vedlo k urychlené regeneraci jater, pravděpodobně inhibicí apoptózy (Morio et al., 2021). Studie Nuria potvrzuje, že ztráta MICU1 regulátoru mitochondriálního vápníkového uniporteru vede k přetížení mitochondrií vápníkem za fyziologických stresových podmínek a k náchylnosti otevření pórů mitochondriální permeability, což má za následek inhibici proliferace hepatocytů (Oliva-Vilarnau et al., 2018). V hepatocytech je aktivita Na^+ dependentního efluxu Ca^{2+} velmi nízká, zatímco většina efluxu závisí na výměně $\text{H}^+ / \text{Ca}^{2+}$ (Kunz, 2003). Tento výměník $\text{H}^+ / \text{Ca}^{2+}$ je typický pro játra, tento mechanismus efluxních cest je rozdílný napříč tkáněmi (Pizzo et al., 2012).

2.2 Srdce

2.2.1 Metabolismus srdeční svaloviny

Srdce je dalším nepostradatelným orgánem lidského těla, jehož energetické nároky jsou extrémně vysoké. Energie je nezbytná pro zachování jeho správné nepřetržité kontraktilní funkce. Dostát těmto vysokým energetickým požadavkům znamená kontinuální produkci velkého množství ATP. S ohledem na skutečnost, že zásoba vysokoenergetických fosfátů je v kardiomyocytech minimální a postačuje pouze k udržení srdečního rytmu po dobu 2 – 10 sekund, pak není divu, že pro normální srdeční funkci je nezbytné těsné propojení produkce ATP a kontrakce myokardu (Kolwicz et al., 2013). ATP pro zachování činnosti srdce pochází ze dvou hlavních zdrojů. Prvním zdrojem je oxidativní fosforylace. Tento zdroj se postará o více než 95 % ATP (Stanley et al., 2005) a v zajištění energie se pro srdce stává zdrojem číslo jedna. Vzhledem k tomu, že oxidativní fosforylace je aerobní děj, při kterém se spotřebovává významné množství kyslíku, dostává se srdce na čelní pozice nejen ve spotřebě energie, ale i kyslíku. Tato spotřeba kyslíku srdcem je pochopitelně vztažena na jednotku jeho hmotnosti (Lopaschuk et al., 2021). Doplňkovým zdrojem ATP,

hovoříme o zbylých cca 5 %, je glykolýza, dále TCA cyklus, při kterém dochází k tvorbě GTP. A navzdory tomu že produkce ATP z druhého zdroje je minoritní, má specifický a jedinečný význam pro syntézu ATP prostřednictvím oxidační fosforylace. TCA cyklus je pro oxidační fosforylaci esenciální, jelikož ta z TCA využívá elektrony (Stanley et al., 2005). Všechny třídy energetických substrátů zajišťují potřebný acetyl-CoA pro TCA cyklus. Zdravé srdce je totiž metabolicky flexibilní a dokáže pohotově přecházet mezi různými energetickými substráty, aby udrželo produkci ATP. Hlavními palivy srdce jsou glukóza, mastné kyseliny, ketolátky, laktát a aminokyseliny. S ohledem na nízkou schopnost srdce intracelulárního ukládání energetických substrátů je nutné jejich průběžné získávání z krve (Lopaschuk et al., 2021).

Nejefektivnějším energetickým substrátem srdce je glukóza, která může vytvářet ATP cytoplazmatickou glykolýzou i následnou mitochondriální oxidací pyruvátu. Glukóza je v kardiomyocytech přijímána glukózovým transportérem 1 (GLUT-1) a 4 (GLUT-4). GLUT-4 je sice zodpovědný za inzulin-dependentní vychytávání glukózy, každopádně jeho translokace je také modulována kontrakcí myokardu. Z tohoto důvodu zůstává kvantitativně hlavním portálem pro příjem glukózy myokardem. Po vstupu glukózy do buňky dojde k její fosforylaci hexokinázou za vzniku glukóza-6-fosfátu (G6PD). G6PD může být následně využit prostřednictvím řady metabolických drah, mezi něž patří tvorba pyruvátu prostřednictvím glykolýzy, syntéza glykogenu, nebo biosyntetická hexosaminová či nebo pentosofosfátová cesta (Lopaschuk et al., 2021). Při glykolytické dráze převádějící G6PD na pyruvát dochází ke vzniku 2 molekul ATP, na každou glukózu (Stanley et al., 2005). Pyruvát vzniklý při glykolýze je buď přeměněn na laktát nebo transportován do mitochondrií pomocí mitochondriálního pyruvátového přenašeče (MPC). Většina pyruvátu je přeměněna na acetyl-CoA pomocí pyruvátdehydrogenázy (Lopaschuk et al., 2021). Metabolismus sacharidů zajišťuje srdci 10 – 40 % acetyl-CoA (Stanley et al., 2005). Menší množství pyruvátu se přeměňuje na oxaloacetát prostřednictvím pyruvátcarboxylázy. Tento oxaloacetát významně přispívá k anapleróze (Lopaschuk et al., 2021).

Dalším substrátem jsou mastné kyseliny, které zajišťují 60 % acetyl-CoA. Mastné kyseliny podléhají β -oxidaci, kdy primárními produkty jsou NADH, FADH₂ a acetyl-CoA. Tyto reakce probíhají převážně v mitochondriích a v malé míře i v peroxizomech (Stanley et al., 2005). Mastné kyseliny se do srdce dostávají buď z krve ve vazbě na albumin nebo ve formě mastných kyselin hydrolyzovaných z TAG obsažených v chylomikronech a VLDL (Lopaschuk et al., 2021). Jakmile mastné

kyseliny vstoupí do srdce, jsou nasměrovány do jedné z několika metabolických drah. Účastní se tak syntézy fosfolipidů, neutrálních lipidů nebo β -oxidace mastných kyselin (Dolinsky et al., 2016). Po vstřebání do kardiomyocytu dochází k jejich esterifikaci za vzniku mastného acyl-CoA. Ten vstupuje do mitochondriální β -oxidace. Vzniklý acetyl-CoA dále pokračuje do TCA cyklu, NADH a FADH₂ a tyto kofaktory vstupují do ETC za vzniku ATP. Oxidace mastných kyselin v srdci je vysoce regulovaný proces. Tato vysoce koordinovaná regulace je klíčová pro schopnost srdce přepínat mezi dostupnými substráty. Mastné kyseliny sice produkují ze všech energetických substrátů největší výtěžek ATP na 2 uhlíkové jednotky, ale zároveň mají nejvyšší nároky na kyslík. V důsledku toho jsou méně účinnými energetickými substráty myokardu (Lopaschuk et al., 2021).

S mastnými kyselinami úzce souvisí i ketolátky, které jsou stále častěji považovány za důležitý energetický substrát srdce. Převládající ketolátkou oxidovanou v srdci je β -hydroxybutyrát. Jeho vychytávání je usnadněno monokarboxylovým transportérem 1, po kterém je transportován do mitochondrie, kde dochází k jeho oxidaci. Nejprve je β -hydroxybutyrát oxidován na acetoacetát za katalýzy β -hydroxybutyrát dehydrogenázou 1. Acetoacetát je následně aktivován CoA transferázou na acetoacetát-CoA. Posledním krokem je thiolýza této sloučeniny za vzniku acetyl-CoA, který následně vstoupí do TCA cyklu. Ketony jsou v srdci snadno metabolizovány. Při zvýšených hladinách cirkulujících ketonů se mohou stát hlavním palivem srdce. Při zohlednění spotřeby kyslíku pro tvorbu ATP jsou ketony energeticky účinnější než mastné kyseliny, ale méně než glukóza.

Dalším energetickým substrátem jsou aminokyseliny. První reakcí katabolismu aminokyselin vzniká alfa-ketokyselina pomocí mitochondriální dehydrogenázy α -ketokyselin s rozvětveným řetězcem. Následuje transaminace a oxidativní dekarboxylace α -ketokyseliny. Produkty této reakce jsou acetyl-CoA, který vstupuje do TCA cyklu nebo sukcinyl-CoA. Využívá se pro anaplerózu (Lopaschuk et al., 2021).

2.2.2 Mitochondrie srdeční svaloviny

2.2.2.1 Morfologie

Kardiomyocyty jsou buňky s největším počtem i největšími mitochondriemi a zaujímají téměř 1/3 buňky (Kolwicz et al., 2013). Nejen že v průřezu srdce zabíraly mitochondrie větší část, ale zároveň byly i početnější. Současně srdce dosáhlo na vrchní příčku v počtu krist na jednotku povrchu mitochondriálního řezu (124 ± 32). Vyšší

počet krist naznačuje vyšší obsah komplexů dýchacího řetězce. Tato informace je v souladu se studii, které ukazují přednostní lokalizaci těchto proteinů v kristách mitochondrií. Vyšší stav respirace v srdečních mitochondriích naznačuje i tmavší matrix s vysokou hustotou. Dokonce mitochondrie lokalizované v srdci dosahují nejvyšší hodnoty hustoty mitochondriální matrix, která má poměr konkrétně $1,91 \pm 0,42$. Ze studie Benarda vyplývá, že mitochondrie izolované ze srdce a svalů obsahovaly více komplexů dýchacího řetězce, než bylo prokázáno v játrech a mozku (Benard et al., 2006).

Srdeční mitochondrie, stejně jako ty svalové, vykazují kvazikrystalickou organizaci (Benard et al., 2006). Tyto mitochondrie jsou dobře pozorovatelné pomocí elektronové mikroskopie. Mitochondrie jsou organizovány mezi myofibrilami, pod sarkolemou nebo blízko jádra. Intermyofibrilární mitochondrie jsou striktně uspořádány mezi řadami kontraktálních proteinů a jsou v těsném kontaktu s myofibrilami a sarkoplasmatickým retikulem (SR), proto se tyto mitochondrie věnují převážně energetickému zásobení myozinu a SR-ATPáz. Subsarkolemální mitochondrie mají nižší stupeň organizace a pravděpodobně se podílejí na iontové homeostáze nebo buněčné signalizaci. Posledním typem jsou perinukleární mitochondrie, které jsou organizovány do shluků a podílí se na procesech transkripce a translace (Piquereau et al., 2013).

2.2.2.2 Metabolismus

Mitochondrie se účastní téměř všech hlavních biologických procesů kardiomyocytů, včetně podpory buněčné morfologie, produkce ATP prostřednictvím elektronového transportního řetězce, regulace intracelulárních vápníkových iontů a hladin ROS (Koshiya et al., 2004).

Úroveň exprese sedmi proteinů dýchacího řetězce ukazuje vyšší obsah komplexů dýchacího řetězce v mitochondriích srdce a svalů, například podjednotka jádra 2 komplexu III měla nejvyšší expresi v srdci, proto její hodnota byla stanovena jako 100 % a ostatní tkáně byly následně dopočítány. Srdce a kosterní sval se prezentují nejvyšší kapacitou OXPHOS. Důkazem pro to je i hodnota koncentrace cyt c, která je v srdci dvakrát vyšší než v mozku (Benard et al., 2006). Dle spektrofotometrického stanovení COX týmem Vizzara se ukázalo že srdce má tuto hodnotu nejvyšší, dokonce jeho hodnoty 5 až 10krát převyšovaly ostatní tkáně (Fernández-Vizarra et al., 2011).

Existuje úzká korelace mezi objemem mitochondrií, srdeční frekvencí a celkovou spotřebou kyslíku v těle. Nedávné studie spojují mitochondriální dynamiku s rovnováhou mezi energetickou potřebou a přísunem živin. To naznačuje, že změny v mitochondriální architektuře jsou mechanismem bioenergetické adaptace na metabolické požadavky. Vzhledem k velké a stálé potřebě energie pro udržení kontraktilní funkce srdce potřebují kardiomyocyty udržovat optimální množství mitochondrií, aby udržely produkci ATP (Taegtmeyer et al., 2016). Kvůli zachování srdeční funkce si mitochondrie udržují svůj tvar a počet prostřednictvím biogeneze, štěpení, fúze a mitofágie. Tento proces se nazývá mitochondriální kontrola kvality. Jedná se o komplexní proces, který zahrnuje tři úrovně. V rámci první úrovně se zabráňuje poškození mitochondrií a udržuje se mitochondriální stabilita prostřednictvím aktivace proteazomu. Druhá úroveň udržuje počet a tvar mitochondrií pomocí mitochondriální biogeneze, štěpení a fúze. Mitochondriální biogeneze je proces, který zvyšuje mitochondriální hmotu. Mitochondriální štěpení a fúze musí být v rovnováze, aby byla zachována mitochondriální integrita. Prostřednictvím štěpení se zajišťuje potřebný počet mitochondrií, izolují se nevratně poškozené mitochondrie a podporuje se pohyb a distribuce mitochondrií. Mitochondriální fúze zajišťuje spojení normálních a poškozených mitochondrií za účelem nahrazení materiálů v poškozených mitochondriích (Koshiba et al., 2004). Fúze je dvoukrokový děj, jehož prvním krokem je spojení vnější mitochondriální membrány prostřednictvím mitofusinů 1 a 2. Poté následuje fúze vnitřní membrány prostřednictvím interakcí mezi proteinem zrakové atrofie 1 a kardiolipinem (Garbern et al., 2021). Kardiolipin je klíčovým fosfolipidem mitochondriální membrány, který je v srdci obohacen o kyselinu linolovou (Dolinsky et al., 2016). Poslední, tedy třetí úroveň mitochondriální kontroly kvality selektivně odstraňuje poškozené mitochondrie, tento proces se nazývá mitofágie.

2.2.2.3 Další specifity

Mitochondrie kardiomyocytů jsou specializované na stálou a efektivní produkci ATP pomocí β -oxidace. Srdce je tkáň s vysokou aktivitou OXPHOS, stejně jako mozek, kosterní sval a hnědý tuk. Používají, proto způsob replikace spojený s vlákny a kombinovaný se zvýšenou úrovní rekombinace. Z nepřímých důkazů vyplývá, že rekombinace by mohla mít ochrannou roli proti poškození mtDNA ve vysoce oxidativních tkáních. Tkáně s aktivním mitochondriálním dýcháním vykazovaly ve studii týmu Herberse vyšší úroveň poškození mtDNA a zároveň obsahovaly molekuly

typické pro rekombinaci DNA. Takové poškození koreluje s replikací spojenou s vlákny a známkami rekombinace, to naznačuje, že rekombinace mtDNA mohla být způsobem opravy oxidačního poškození. Srdce a mozek, na rozdíl od jater, vykazují definovaný, dlouhý bublinový oblouk a absenci pomalu se pohybujících Y-arců typických pro replikaci COSCOFA. V srdci jsou viditelné meziproducty rekombinace ve tvaru x tvořících x-špičku. MtDNA měla konformaci stejnou jako pro kosterní sval a hnědou tukovou tkáň ve formě lineárních molekul mtDNA a dimerů (Herbers et al., 2019). Mimo jiné se v srdci vyskytuje nejvyšší množství mtDNA (Fernández-Vizarra et al., 2011).

V srdci stejně jako játrech je vysoká aktivita katalázy. Ta pomáhá buňkám vypořádat se s ROS, konkrétně s H₂O₂. Kataláza katalyzuje reakci, při které se z peroxidu vodíku uvolňuje molekulární kyslík a voda (Kowaltowski et al., 2009).

Na základě důkazů je možné konstatovat, že v srdečních mitochondriích existují dva mechanismy importu Ca²⁺, přitom oba jsou citlivé na rutheniovou červeň. V rámci metabolické regulace vápníku v srdci byla prokázána přítomnost RyR, která je specifická pouze pro tkáň srdce. Imunobarevné snímky s protilátkami specifickými pro RyR1 odhalily přítomnost zlatých částic v mitochondriální membráně, avšak pouze v srdečních mitochondriích (Pizzo et al., 2012).

2.3 Svaly

2.3.1 Metabolismus kosterního svalstva

Kosterní svalstvo představuje u dospělého člověka 40 – 50 % tělesné hmoty a je klíčovým determinantem bazálního a energetického metabolismu celého těla (Maurya et al., 2018). Jedná se o jednu z nejdynamičtějších a nejplastičtějších tkání lidského organismu. Svalová hmota vyžaduje rovnováhu mezi syntézou a odbouráváním bílkovin. Kosterní svalstvo obsahuje 50 – 75 % všech tělesných bílkovin. Z mechanického hlediska je hlavní úlohou kosterního svalu přeměna chemické energie na mechanickou, která zajišťuje sílu a výkon a udržuje nebo zlepšuje zdraví (Frontera et al., 2015). Kromě fyzické aktivity svaly vynakládají značné množství energie na udržení svalové hmoty prostřednictvím proteinové syntézy, opravy a regenerace. Kosterní svalstvo zajišťuje i řadu dalších funkcí, mezi které patří například regulace elektrolytů a pH. (Maurya et al., 2018).

Kosterní svalstvo má z metabolického hlediska více funkcí. Asi nejvýznamnějšími a typickými jsou základní energetický metabolismus a produkce tepla pro udržování tělesné teploty. Tyto funkce nabývají na významu během fyzické

aktivity a cvičení, kdy dochází ke značné spotřebě kyslíku a energetických substrátů. Z důvodu nadměrné spotřeby je nezbytné vytvoření zásob důležitých substrátů (aminokyseliny, karbohydráty), k čemuž je kosterní svalstvo uzpůsobeno a dané látky jsou zde skladovány. V případě aminokyselin se nejedná o typickou zásobní formu, ale za určitých podmínek opravdu mohou sloužit i jako jejich zásobní místo. Nehledě na vlastní spotřebu, je zvláště zajímavou funkcí kosterního svalu jeho role jako zásobárny aminokyselin pro potřebu jiných tkání (kůže, mozek a srdce). Díky tomu je umožněno syntetizovat orgánově specifické proteiny. Uvolňování aminokyselin ze svalu také přispívá k udržování hladiny glukózy v krvi, pokud organismus čelí hladovění (Frontera et al., 2015).

Způsob získávání energie se liší podle typu svalových vláken. Vyšší podíl energie získaný bez využití kyslíku anaerobní glykolýzou probíhající v cytoplasmě je typický pro tzv. rychlá svalová vlákna. Ta se vyznačují nižším počtem mitochondrií. Svaly tohoto typu se sice snadno unaví, ale jsou schopny krátkého a vysokého výkonu. V tomto případě anaerobní glykolýza poskytuje pouze 2 molekuly ATP z jedné molekuly glukózy, v případě, kdy je zdrojem glykogen může tento proces poskytnout 3 molekuly ATP. Protipólem jsou pomalá svalová vlákna, která mají vyšší počet mitochondrií a s tím i spojený zisk energie pomocí oxidativní fosforylace. Při ní z jedné molekuly glukózy nebo dvou molekul laktátu vznikne až 36 molekul ATP. Zvýšení produkce ATP oxidativní fosforylací je stimulováno zvýšenou koncentrací vápenatých iontů a nastupuje s určitým zpožděním za počátkem svalové činnosti (Žurmanová, 2014).

Kromě kontraktilní funkce je sval primárním orgánem produkce tepla u většiny savců prostřednictvím třesové a netřesové termogeneze, která vyžaduje značné množství energie (Maurya et al., 2018). Všechny svalové činnosti vyžadují energii ve formě ATP. Jediným přímo využitelným zdrojem energie pro pracující sval je ATP. Jelikož jsou zásoby ATP ve svalu velmi omezené, potřebují svaly metabolické dráhy, které ATP účinně doplňují. Jsou to kreatinfosfátový systém, anaerobní glykolýza a oxidační fosforylace. Systémy se liší v substrátech, produktech, maximální rychlosti produkce ATP, kapacitou a příspěvkem k únavě. Z důvodu malého množství zásob ATP a CP podporují pouze činnost s vysokou intenzitou a krátkým trváním (několik sekund). Pokud je potřeba udržet svalovou činnost po dobu několika minut, využívá se anaerobní glykolýzy, při které se ATP uvolňuje rychle, ale konečné produkty (H^+ , laktát) zhoršují funkci svalů a jsou spojeny se svalovou únavou. Poslední energetickou

dráhou je oxidativní fosforylace, která dodává konečnou energii pro intenzivní cvičení, které lze udržet po delší dobu (v rámci minut až hodin). Síť kapilár dopravuje kyslík k aktivním svalovým vláknům. Rozsah této sítě koreluje s metabolickými nároky na svalové vlákno. V závislosti na intenzitě námahy se během jednoho cvičení dráhy různě překrývají a aktivují (Frontera et al., 2015).

Pro tvorbu ATP svalová buňka využívá dvě hlavní paliva. Prvním jsou sacharidy ve formě plazmatické glukózy a svalového glykogenu (Frontera et al., 2015). Sval je důležitý i pro homeostázu glukózy, jelikož se jedná o největší inzulin senzitivní tkáň, která po stimulaci inzulinem využívá až 80 % glukózy (Maurya et al., 2018). Druhým typem paliva jsou tuky ve formě plazmatických volných mastných kyselin a svalových TAG. K celkové produkci energie může malým dílem přispívat i metabolismus aminokyselin. Výběr konkrétního paliva opět závisí na intenzitě a délce cvičení. Svalový glykogen pohání především svalové činnosti o vysokých intenzitách. Na druhou stranu, při cvičení nižší intenzity o dlouhém trvání se většina energetické potřeby zajišťuje z volných mastných kyselin. V praxi většina činností aktivuje různé dráhy v různých časových okamžicích a využívá kombinaci paliv k produkci ATP potřebného pro svalové činnosti (Frontera et al., 2015).

ATPázy jsou enzymy schopné štěpit ATP. Ve svalových vlákních jsou součástí myozinové hlavy. Konkrétně se tam nachází ATPáza a SERCA pumpa na SR a Na/K ATPáza na sarkolemě. O udržení hladiny ATP se stará kreatinkináza pomocí Lohmannovi reakce. Při této reakci kreatinkináza katalyzuje přenos Pi z CP na ADP za vzniku ATP a kreatinu, jedná se o vratnou reakci, která oběma směry probíhá podobnou rychlostí. V kosterním svalstvu se kreatinkináza vyskytuje ve dvou izoformách, mitochondriální a cytosolické. Izoformy se v buňce nacházejí v místě spotřeby energie i její produkce (Žurmanová, 2014).

2.3.2 Mitochondrie kosterní svaloviny

2.3.2.1 Morfologie

Jak bylo zmíněno výše, pomalý typ svalového vlákna obsahuje více mitochondrií než ten rychlý. U obou typů jsou mitochondrie obsaženy v membránových kompartmentech po celé délce myofibril a působí velmi kompaktně (Benard et al., 2006). Mitochondrie tvoří trojrozměrnou síť v celé buňce, která vytváří ATP potřebnou pro svalovou činnost za přístupu kyslíku. Mitochondrie se ve svalech vyskytují na dvou možných místech. První typ se nachází blíže u sarkolemy, což snižuje difúzní

vzdálenost pro kyslík přenášený kapilárním zásobením. Toho se nejvíce využívá zejména při aerobním nebo vytrvalostním cvičení, kdy se zvyšuje potřeba kyslíku. Další populace mitochondrií se nachází v intermyofibrilárním prostoru. Počet i velikost mitochondrií se zvyšuje při tréninkových programech vytrvalostního/aerobního typu cvičení (Frontera et al., 2015).

Mitochondrie kosterního svalu vykazují vyšší hladiny celkového počtu fosfolipidů než játra. Zároveň ve svalech bylo zjištěno vyšší množství fosfatidyletanolaminů a lysofosfatidylcholinů nežli v játrech. Jak bylo uvedeno výše v bodu 1.4, velký rozdíl mezi tkáněmi se týká kardiolipinu. V kosterním svalu bylo oproti játrům i vyšší zastoupení prekurzorů kardiolipinu. Jelikož se kardiolipiny nacházejí zejména ve vnitřní mitochondriální membráně, usnadňují skládání membrány a tím i tvorbu krist. Proto se vyšší obsah kardiolipinu odráží i na vyšší hustotě krist (Kappler et al., 2019). Konkrétně sval obsahoval 107 ± 11 krist na jednotku povrchu mitochondriálního řezu, čímž skončil v rámci Benardovy studie na druhém místě hned za srdcem (Benard et al., 2006). Kardiolipiny mají odlišné složení acylových řetězců napříč tkáněmi. Nejhojněji zastoupeným kardiolipinem ve svalu je s obsahem čtyř acylových řetězců 18:2. Nápadným rozdílem bylo vyšší množství acylových řetězců 22:6 v kardiolipinech kosterního svalu oproti játrům. Zároveň bylo prokázáno, že cvičení zvyšuje obsah kardiolipinu ve svalech a tvorbu superkomplexů. To jen podtrhuje důležitost kardiolipinu ve svalech, jelikož při zvýšení množství kardiolipinu dojde ke zvýšení množství krist a v úzké souvislosti s tím dojde k navýšení OXPHOS aktivity ve svalech (Kappler et al., 2019).

2.3.2.2 Metabolismus

Mitochondrie kosterního svalu při fyzické aktivitě čelí velkým výkyvům v nárocích na ATP, s tím souvisí větší rozdíly v metabolismu než v jiných tkáních. Kosterní sval je zodpovědný za více než 80 % postprandiální odstranění glukózy. Vzhledem k jeho relativní velikosti je považován za hlavní orgán v utilizaci mastných kyselin. V souladu s orgánovou funkcí obsahují svalové mitochondrie vyšší procento proteinů souvisejících s oxidativní fosforylací, syntézou ATP a dekarboxylací pyruvátu. 17 % z celkového množství proteinů ve svalových mitochondriích zaujímaly dvě podjednotky ATP syntázy a ADP/ATP translokáza 1. Hojněji zde byly zastoupeny i enzymy TCA cyklu. Oproti játrům zde byl pozorován vyšší výskyt téměř všech podjednotek komplexu I a několika podjednotek komplexů III, IV a V. Proteomické

analýzy odhalily vyšší početnost proteinů pyruvátdehydrogenázového komplexu. I v případě citrát syntázy je ve svalových mitochondriích jejich množství vyšší nežli v jaterních. Pomocí respirometrie prováděné týmem Kapplera se ukázalo, že po přidání pyruvátu dýchaly svalové mitochondrie o poznání více. Tato informace je v souladu s vyšším množstvím proteinů pyruvátdehydrogenázy ve svalech, který spojuje glykolytickou dráhu s TCA cyklem a poskytuje NADH pro komplex I. Svalové mitochondrie vykazovaly vysokou respiraci při utilizaci pyruvátu a glutamátu, substráty vázané na komplex I. Tyto výsledky jasně naznačují, že je ve svalech pyruvát využíván hlavně k produkci ATP závislé na komplexu I. Z této studie zároveň vyplývá dominantní funkce svalových mitochondrií při tvorbě ATP, která je potřebná zejména během fyzické aktivity kvůli vysoké spotřebě ATP při kontrakci svalu (Kappler et al., 2019).

V místě oxidativní fosforylace ve vnitřní mitochondriální membráně působí kreatinkináza ve prospěch syntézy CP. Difúze ATP z místa produkce k místům spotřeby probíhá rychle, jelikož molekula CP je podstatně menší než molekula ATP. Z tohoto důvodu je CP systém považován za energetický pufr, sloužící k rychlému transportu ATP z mitochondrií do místa potřeby. Dalším plusem je, že CP využívá kreatin z cytosolu a ATP z mitochondrií v prostoru vnitřní mitochondriální membrány k produkci ADP. Ta je zde okamžitě využita k tvorbě ATP prostřednictvím ATP syntázy, která je díky tomu udržována ve vysokém výkonu. Dokonce bylo prokázáno, že tato přímá stimulace snižuje tvorbu ROS. Závěrem je třeba zdůraznit, že kreatinkinázová reakce v mitochondriích produkuje i vodíkové protony, které zvyšují elektrochemický potenciál vnitřní membrány pro syntézu ATP (Žurmanová, 2014)

2.3.2.3 Další specifity

Kosterní sval, stejně jako srdce, obsahuje nejvyšší množství mtDNA (Fernández-Vizarra et al., 2011), a její replikace je stejná jako u srdečních mitochondrií, kdy vykazuje převážně intermediáty RITOLS, viditelné jako tupý bublinový oblouk a pomalu se pohybující Y-oblouk, ale navíc má zřetelný x-špičák, který ukazuje na rekombinaci mtDNA (Herbers et al., 2019).

Franzini-Armstrong tvrdil, že v kosterním svalstvu jsou mitochondrie těsně přimknuty k terminálním cisternám SR. RyR jsou lokalizovány v určité vzdálenosti od mitochondrií (cca 100 nm), protože tyto kanály pro uvolňování Ca^{2+} jsou umístěny na povrchu SR směrem k T tubulům. Jelikož SR odděluje RyR od vnějšího povrchu mitochondrie, je znemožněno přímé molekulární spojení mezi RyR a mitochondrií.

Z uvedeného vyplývá, že mitochondriální příjem Ca^{2+} ve svalu závisí na difúzi Ca^{2+} uvolněného ze SR na povrch mitochondrie. Efluxní cesta vápníku v kosterním svalstvu využívá výměníku $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ (Pizzo et al., 2012).

2.4 Tuková tkáň

2.4.1 Metabolismus tukové tkáně

Tuková tkáň reguluje energii v živém organismu a lze s trochou nadsázky říct, že jde o hlavního hráče systémové metabolické regulace. Tuková tkáň je jednak hlavním zásobním orgánem metabolického paliva ve formě TAG a významně se podílí na tepelné izolaci. Nelze opominout ani další významnou funkci, neboť tuková tkáň řídí mobilizaci lipidů (Luo et al., 2016).

U savců existují dva typy tukové tkáně, bílá (WAT) a hnědá (BAT). Oba typy se odlišují nejenom zabarvením, ale hlavně svou funkcí. První typ tukové tkáně, tzv. WAT, ukládá přebytečnou energii jako TAG, zatímco BAT se specializuje na přeměnu energie na teplo pro udržení tělesné teploty za současné spotřeby energie (Lee et al., 2019). Hnědá a béžová tkáň jsou specializovány pro udržení eutermie. TAG skladované v adipocytech jsou štěpeny na glycerol a mastné kyseliny prostřednictvím lipolytické dráhy v případě nedostatku potravy. Uvolněný glycerol a mastné kyseliny mohou být transportovány krví a následně vstupují do svalů, jater a dalších orgánů. Tuková tkáň tak řídí distribuci lipidů a moduluje energetickou rovnováhu celého těla. Přebytečná energie je účinně ukládána ve formě neutrálních TAG v tukové tkáni prostřednictvím lipogenní dráhy (Luo et al., 2016). Dobře známou roli při ukládání energie hrají adipocyty ve WAT, které obsahují jednu velkou kapku lipidů. Přebytečná energie z potravy se ukládá ve formě TAG v četných depech WAT po celém těle (Schulz et al., 2013).

Lipogeneze je proces, který zahrnuje *de novo* syntézu mastných kyselin z acetyl-CoA a biosyntézu TAG. Glukóza poskytuje acetyl-CoA jako substrát pro *de novo* syntézu mastných kyselin. Acetyl-CoA indukuje expresi enzymu limitního enzymu lipogeneze acetyl-CoA karboxylázy. Glukóza také podporuje lipogenezi tím, že stimuluje uvolňování pankreatického inzulínu. Mastné kyseliny používané pro biosyntézu TAG v adipocytech pochází zejména z krve, kde cirkulují TAG v chylomikronech a VLDL. Klíčovým enzymem hydrolyzujícím jednu mastnou kyselinu z TAG je lipoproteinová lipáza (LPL). Ta hraje zásadní roli při usnadnění vstupu

mastných kyselin do adipocytů. LPL se po vyloučení z adipocytů přesune do lumen kapilár WAT a tam uvolňuje mastné kyseliny z cirkulujících TAG (Luo et al., 2016).

Lipolýza je katabolickým procesem, který vede k rozkladu TAG uložených v adipocytech a následnému uvolnění mastných kyselin a glycerolu. Lipolýza je indukována hladověním a dodává glycerol pro jaterní glukoneogenezi a volné mastné kyseliny pro oxidaci podle potřeby do jiných orgánů. Lipolýza spočívá v rozkladu tri-, di- a monoglycerolů na jednotlivé mastné kyseliny katalyzované lipázami. Prvními dvěma primárními lipázami, které jsou zodpovědné za rozklad TAG na diglyceridy a následnou hydrolýzu diglyceridů na monoglyceridy, jsou adipocytová triglyceridová lipáza a hormon-senzitivní lipáza (Luo et al., 2016).

Tuková tkáň není jen pasivním zásobníkem paliva, ale také se jedná o endokrinní orgán. Tyto bioaktivní faktory vylučované z tukové tkáně cirkulují a předávají informace dalším metabolicky aktivním orgánům, jako jsou svaly, játra, slinivka a mozek prostřednictvím endokrinních mechanismů, čímž moduluje systémový metabolismus (Luo et al., 2016).

2.4.2 Mitochondrie tukové tkáně

2.4.2.1 Morfologie

Množství mitochondrií se liší v závislosti na typu adipocytu. Bílé adipocyty jsou přítomny převážně ve WAT, obsahují málo mitochondrií (Luo et al., 2016). Bílé adipocyty jsou kulovité buňky různých velikostí v závislosti na velikosti jedné kapičky lipidu. Mitochondrie bílých adipocytů jsou protáhlé a tenké, vyskytují se ve variabilním množství. Jsou spíše menší, elipsoidní a je jich tam méně. V hnědých adipocytech jsou mitochondrie početnější, větší a obsahují sbalené krysty ve srovnání s mitochondriemi bílých adipocytů. Mitochondrie hnědých adipocytů se v elektronovém mikroskopu zdají být nahnědlé, což je způsobeno přítomností hemu cytochromoxidázy obsahujícím železo. Rozdílný počet mitochondrií v adipocytech WAT a BAT souvisí i s rozdílnou expresí enzymů souvisejících s oxidací mastných kyselin, jako je acyl-CoA dehydrogenáza (Lee et al., 2019).

2.4.2.2 Metabolismus

Mitochondrie mají v adipocytech různé role. Patří mezi ně diferenciace adipocytů, homeostáza lipidů, citlivost na inzulín, oxidační kapacita, adaptivní termogeneze a hnědnutí WAT (Lee et al., 2019). Během adipogeneze dochází

k nárůstu koncentrace četný mitochondriálních proteinů 20 až 30krát (Boudina et al., 2014).

Tuková tkáň je hlavním místem přeměny sacharidů na tuk nebo lipogeneze. Mitochondrie jsou nezbytné pro anaplerotickou tvorbu metabolických meziproduktů nezbytných pro lipogenezi. Biosyntéza mastných kyselin z glukózy a pyruvátu tukovou tkání zahrnuje procesy v mitochondriích i mimo ně. V mitochondriích probíhá oxidativní dekarboxylace pyruvátu na acetyl-CoA a následně probíhá syntéza mastných kyselin z acetyl-CoA mimo mitochondrie. Klíčovým enzymem lipogeneze je pyruvátkarboxyláza, jejíž koncentrace je ve WAT trojnásobná ve srovnání s játry. Mitochondrie hrají zásadní roli i v esterifikaci mastných kyselin a glycerolneogenezi. Při mitochondriální glycerolneogenezi dochází k produkci glycerol-3-fosfátu, v případě nedostatku glukózy není zapotřebí jen ATP, ale i meziproduktů TCA, jako je pyruvát či malát. Jedním z důležitých regulátorů tohoto procesu je pyruvátdehydrogenáza, která funguje jako metabolický přepínač mezi utilizací glukózy a mastných kyselin, její inhibice pyruvátdehydrogenázou kinázou 4 umožňuje použití pyruvátu pro glyceroneogenezi, v případě nízké hladiny glukózy. Esterifikace mastných kyselin a lipolýza jsou těsně propojeny. Rychlost lipolýzy určuje mitochondriální tvorba ATP. Lipolýza ve WAT uvolňuje volné mastné kyseliny a glycerol, ty se následně uvolní do krve a jsou transportovány do jiných tkání. Lipolýza a mitochondriální syntéza ATP jsou těsně propojeny, protože inhibitory ETC inhibují lipolýzu stimulovanou katecholaminy. Další možností je metabolismus aminokyselin s rozvětveným řetězcem. K jejich degradaci dochází primárně v extrahepatálních místech. Katabolismus těchto aminokyselin probíhá přes transaminaci na příslušné 2-oxokyseliny, po které následuje mitochondriální oxidativní dekarboxylace katalyzována dehydrogenázou 2-oxokyselin s rozvětveným řetězcem. Ke zvýšení tohoto procesu dochází během adipogeneze, při které se zároveň zvyšuje mitochondriální hmota (Boudina et al., 2014).

Charakteristickým znakem hnědých adipocytů je přítomnost termogeninu (UCP1-uncoupling protein-1). Jedná se o mitochondriální protein, který hraje hlavní roli v termogenní funkci hnědých a aktivovaných béžových adipocytů. UCP1 se nachází ve vnitřní mitochondriální membráně a zvyšuje její propustnost pro protony. Tím přeměňuje elektrochemickou energii na teplo (Lee et al., 2019). UCP1 rozpřahuje mitochondriální dýchání od syntézy ATP. Při aktivaci indukuje únik protonů, což rozptyluje elektrochemický protonový gradient, který vzniká během oxidace mastných

kyselin v BAT. Tento elektrochemický protonový gradient pohání přeměnu ADP na ATP pomocí ATP syntázy. V důsledku toho UCP1 ruší zpětnovazebnou inhibici, kterou vyvolává vysoká hladina ATP nebo nízká hladina ADP na TCA cyklus a ETC. Tím UCP1 přispívá k velmi vysoké rychlosti oxidace mastných kyselin, která přímo produkuje teplo (Carpentier et al., 2018). Produkce tepla závisí na UCP1 v hnědých a aktivovaných béžových adipocytech. Zároveň je tato produkce indukována mastnými kyselinami, které jsou generovány lipolýzou po termogenní aktivaci, jako je expozice chladu. Další oxidace acetyl-CoA, konec β -oxidace prostřednictvím TCA cyklu a ETC poskytují díky UCP-1 přímo energii ve formě tepla (Lee et al., 2019). Díky velkému množství UCP1 je tak BAT jediným orgánem, který dokáže doslova "spalovat" tuk. K aktivaci UCP1 dochází pomocí mastných kyselin s dlouhým řetězcem. UCP1 je anion/ H^+ symportér, který váže mastné kyseliny s dlouhým řetězcem a funguje jako protonový přenašeč. Uvolňování noradrenalinu stimuluje intracelulární TAG lipolýzu BAT, při níž se uvolní mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, ty následně aktivují UCP1 a s tím spojenou termogenezi BAT (Carpentier et al., 2018). Na rozdíl od UCP1 se zdá, že jiné UCP (2,3) se podílejí spíše na snižování hladin volných radikálů než na adaptivní termogenezi.

2.4.2.3 Další specifity

Mitochondriální ROS produkované komplexem III OXPHOS jsou nezbytné pro zahájení diferenciací adipocytů lidských mezenchymálních kmenových buněk, zatímco inhibice adipogeneze je zprostředkována antioxidanty cílícími na mitochondrie (Lee et al., 2019).

Pokud budeme porovnávat replikaci mtDNA, v hnědé tukové tkáni se používá oproti předchozím tkáním jak RITOLS tak COSCOFA replikace. Jsou zde totiž detekovány jak tupé, tak i ostré bublinové oblouky. Tato tkáň obsahuje vysoký podíl rekombinujících meziproductů mtDNA. Na závěr mohu říci, že BAT se může pyšnit nejvyšším počtem kopií mtDNA na buňku (Herbers et al., 2019).

2.5 Mozek

2.5.1 Metabolismus mozkové tkáně

Energetické požadavky mozku jsou vysoké, jeho nároky jsou nejméně v rozsahu 20 % celkové spotřeby těla. Na buněčné úrovni jsou aerobní glykolýza a produkce laktátu metabolickými rysy astrocytů. Různorodost buněk v mozku předurčuje, že různé typy buněk mají výrazné metabolické profily. Hlavní buňky jsou

neurony. Jejich oxidativní povaha je odlišuje od astrocytů, u kterých převládá aerobní glykolýza. Astrocyty také ukládají glykogen a obsahují velké množství mitochondrií (Magistretti et al., 2015).

Hlavním palivem pro mozek je glukóza. Jejím úkolem je zajištění kritických funkcí, včetně produkce ATP, regulace redoxní rovnováhy a syntézy neurotransmiterů. Glykolýza je přednostně zvýšená v případě aktivace mozku (Dienel, 2019). Glukóza vstupuje do buněk glukózové transportéry (GLUT) (Magistretti et al., 2015). Dochází k reverzibilnímu transportu glukózy z arteriální krve přes endoteliální membrány do mozkových buněk prostřednictvím GLUT1 v endotelu a astrocytech a GLUT3 a GLUT4 v neuronech. Hnací silou vstupu glukózy do mozku je koncentrační gradient (Dienel, 2019). Po vstupu glukózy do buněk dojde k její fosforylaci hexokinázou na G6PD. Glukóza pak může být využita v různých metabolických drahách. Může být metabolizován prostřednictvím glykolýzy za vzniku dvou molekul pyruvátu, NADH a ATP. Pyruvát následně může vstoupit do mitochondrií, kde je metabolizován TCA cyklem a OXPHOS. Za hypoxických podmínek může být pyruvát redukován na laktát pomocí laktátdehydrogenázy. Ten se poté může uvolňovat v extracelulárním prostoru (Magistretti et al., 2015).

Mezi méně významné oxidační substráty mozku patří také mastné kyseliny a aminokyseliny. Mозek může oxidovat mastné kyseliny stejně jako aminokyseliny přijaté z krve nebo syntetizované v mozku, ale jejich přínos k celkovému energetickému metabolismu mozku je oproti glukóze minimální (Dienel, 2019).

2.5.2 Mitochondrie mozkové tkáně

2.5.2.1 Morfologie

Z morfologického hlediska mitochondrie v mozku vypadaly jako soubor malých a početných vejčitých úseků. V mozku byly úseky mitochondrií více rozptýleny po celém cytosolu, přičemž byla výrazná variabilita profilů úseků. Ve studii Benarda byla pozorována silná heterogenita intracelulární distribuce mitochondrií v rámci tkáně. V mozku je v okolí jádra a v bazálních gangliích mitochondrií málo, zatímco podél axonu jsou všudypřítomné a dosahují až centrimetrové délky (Benard et al., 2006).

Mitochondrie mění dynamicky svůj tvar prostřednictvím regulovaných procesů fúze a štěpení. Tím se organely nejen prodlužují/zkracují, ale zároveň se díky tomu pohybují mezi jednotlivými částmi buňky. Mitochondrie těmito změnami reagují na metabolické prostředí. Charakteristickým znakem mitochondriálního stresu jsou

donutové mitochondrie. Donutové mitochondrie jsou indukovány inhibitorem rotenonem mitochondriálního ETC. (Picard et al., 2014).

2.5.2.2 Metabolismus

Oxidační metabolismus v mitochondriích je primárně poháněn pyruvátem, mastnými kyselinami, ketolátkami a glutaminem/glutamátem. Pyruvát generovaný z glykolýzy je aktivně transportován do mitochondrií pomocí MPC, kde je následně dekarboxylován a kombinován s CoA. Tato oxidační dekarboxylace pyruvátu vede až na acetyl-CoA. Dekarboxylace pyruvátu je primárním zdrojem uhlíku pro TCA cyklus. Odhaduje se, že 3-10 % využití glukózy v mozku je prostřednictvím pyruvátkarboxylázy (hlavní anaplerotický enzym v mitochondriích) a v astrocytech je 33-50 % pyruvátu vstupujícího do mitochondrií využito pro anaplerotické reakce namísto produkce ATP (Rose et al., 2020).

Mitochondrie neuronů mají nízkou kapacitu pro β -oxidaci kvůli absenci thiolázy I a ETF. Neurální mitochondrie však mohou využívat acetoacetát prostřednictvím thiolázy II, což umožňuje podstatnou metabolizaci ketolátek v mozku (Kunz, 2003). Během hladovění může být až 70 % energie mozku dodáváno z ketolátek. Ty jsou v jaterních mitochondriích produkovány z acetyl-CoA (Rose et al., 2020).

Co se týče exprese proteinů dýchacího řetězce, mozek vykazoval nízké hodnoty. Exprese byla 25 ± 7 %, což je pouhá čtvrtina oproti srdci, u něhož byla exprese stanovena na 100 %. Toto platí pro všechny analyzované proteiny. Mozek má obsah proteinů OXPHOS uprostřed mezi játry, které měly nejméně, a srdcem a svaly, které vykazovaly nejvyšší hodnoty (Benard et al., 2006).

2.5.2.3 Další specifity

Ve studii Herberse vykazoval mozek extrémně vysoké množství meziproductů rekombinace ve tvaru x tvořících x-špičku. Stejně jako v játrech byla i zde mtDNA přítomna převážně v uvolněné konformaci otevřeného kruhu (Herbers et al., 2019). Zároveň se zjistilo, že mozek je vůči defektům mtDNA nejzranitelnější, což naznačuje že neurony jsou obzvláště citlivé na bioenergetické výkyvy (Picard et al., 2014).

Nedávný výzkum prokázal fyziologické role zvýšené mitochondriální produkce ROS. Ukázalo se, že tato zvýšená produkce reguluje metabolismus glutathionu a potlačuje metabolismus glukózy prostřednictvím pentozofosfátové dráhy (Rose et al., 2020).

Signalizace Ca^{2+} významně reguluje funkci astrocytů a je velmi důležitá pro komunikaci mezi astrocytem a neuronem. Hladiny Ca^{2+} přímo korelují s uvolňováním glutamátu a změna pufrovací kapacity Ca^{2+} mitochondrií může ovlivnit tento jev. Schopnost pufrování v astrocytech je důležitá nejen z hlediska funkčnosti astrocytů, ale i z hlediska nervové signalizace (Stephen et al., 2014).

ZÁVĚR

Tato práce byla věnována tkáňově specifickým rozdílům mitochondrií. V první části jsem se pokusila shrnout obecný popis původu, struktury a funkce mitochondrií. Jejich funkce je velice rozmanitá. Zabývala jsem se různými procesy, které v mitochondriích probíhají, včetně tvorby ATP pomocí Krebsova cyklu a elektronového transportního řetězce, β -oxidace mastných kyselin, schopnosti spouštět apoptózu nebo jejich hospodaření s vápníkem.

V hlavní části jsem se zaměřila na mitochondriální rozdíly ve vybraných tkání. Tyto rozdíly závisí na úloze jednotlivých orgánů. Zvolenými orgány byla játra, srdeční a kosterní svalovina, tuková tkáň a částečně také tkáň mozková. Mitochondrie těchto tkání byly porovnávány zejména z morfologického a metabolického hlediska. V práci jsem se zabývala lokalizací mitochondrií v daných tkáních, jejich počtem v buňce a množstvím krist. Dále jsem se věnovala rozdílům v TCA cyklu, OXPHOS či metabolismu jednotlivých energetických substrátů. Posledním bodem porovnávání pak byly další rozdílnosti, například způsob replikace mtDNA.

Všechny informace byly čerpány především z aktuálních, převážně zahraničních zdrojů.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ADEVA-ANDANY, M. M., N. CARNEIRO-FREIRE, M. SECO-FILGUEIRA, C. FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al.: Mitochondrial β -oxidation of saturated fatty acids in humans. *Mitochondrion*. **2019**, 46, 73-90 [cit. 2023-06-11]. ISSN 15677249. Dostupné z: doi:10.1016/j.mito.2018.02.009.
2. ALABDULADHEM T., B. BORDONI.: Physiology, Krebs Cycle. **2022**, *StatPearls*. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*; 2023 Jan–. PMID: 32310492.
3. ALAMRI, Z. Z.: The role of liver in metabolism: an updated review with physiological emphasis. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. **2018**, 7(11), 2271-2276 [cit. 2023-06-14]. ISSN 2279-0780. Dostupné z: doi:10.18203/2319-2003.ijbcp20184211.
4. ALBERTS, B.: *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. 2. vyd. Přeložil Arnošt KOTYK, přeložil Bohumil BOUZEK, přeložil Pavel HOZÁK. Ústí nad Labem: Espero, c**2005**, 121-199. ISBN 80-902906-2-0.
5. BELOSLUDTSEV, K. N., M. V. DUBININ, N. V. BELOSLUDTSEVA a G. D. MIRONOVA.: Mitochondrial Ca^{2+} Transport: Mechanisms, Molecular Structures, and Role in Cells. *Biochemistry (Moscow)*. **2019**, 84(6), 593-607 [cit. 2023-06-10]. ISSN 0006-2979. Dostupné z: doi:10.1134/S0006297919060026.
6. BENARD, G., B. FAUSTIN, E. PASSERIEUX, et al.: Physiological diversity of mitochondrial oxidative phosphorylation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. **2006**, 291(6), C1172-C1182 [cit. 2023-06-14]. ISSN 0363-6143. Dostupné z: doi:10.1152/ajpcell.00195.2006.
7. BERG, J. M., J. L. TYMOCZKO, G. J. GATTO a L. STRYER.: *Biochemistry*. 9. edition. New York: W.H. Freeman/Macmillan Learning, **2019**. ISBN 9781319114671.
8. BERTHELOOT, D., E. LATZ a B. S. FRANKLIN.: Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cellular & Molecular Immunology*. **2021**, 18(5), 1106-1121 [cit. 2023-05-13]. ISSN 1672-7681. Dostupné z: doi:10.1038/s41423-020-00630-3.
9. BOUDINA, S. a T. E. GRAHAM.: Mitochondrial function/dysfunction in white adipose tissue. *Experimental Physiology*. **2014**, 99(9), 1168-1178 [cit. 2023-06-26]. ISSN 09580670. Dostupné z: doi:10.1113/expphysiol.2014.081414.

10. CARPENTIER, A. C., D. P. BLONDIN, K. A. VIRTANEN, D. RICHARD, et al.: Brown Adipose Tissue Energy Metabolism in Humans. *Frontiers in Endocrinology*. **2018**, 9 [cit. 2023-06-26]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: doi:10.3389/fendo.2018.00447.
11. D'ARCY, M. S.: Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*. **2019**, 43(6), 582-592 [cit. 2023-05-13]. ISSN 1065-6995. Dostupné z: doi:10.1002/cbin.11137.
12. DEGLI ESPOSTI, D., J. HAMELIN, N. BOSSELUT, R. SAFFROY, et al. Mitochondrial Roles and Cytoprotection in Chronic Liver Injury. *Biochemistry Research International*. **2012**, 1-16 [cit. 2023-06-14]. ISSN 2090-2247. Dostupné z: doi:10.1155/2012/387626.
13. DIENEL, G. A.: Brain Glucose Metabolism: Integration of Energetics with Function. *Physiological Reviews*. **2019**, 99(1), 949-1045 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00062.2017.
14. DOLINSKY, V. W., L. K. COLE, G. C. SPARAGNA a G. M. HATCH.: Cardiac mitochondrial energy metabolism in heart failure: Role of cardiolipin and sirtuins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. **2016**, 1861(10), 1544-1554 [cit. 2023-06-22]. ISSN 13881981. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bbalip.2016.03.008.
15. EWALD, P. W.: Host – parasite relations, Vectors, and the Evolution of Disease Severity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **2003**, 14: 465-485. Dostupné z: doi: 10.1146/annurev.es.14.110183.002341.
16. FERNÁNDEZ-VIZARRA, E., J. A. ENRÍQUEZ, A. PÉREZ-MARTOS, J. MONTOYA P. et al.: Tissue-specific differences in mitochondrial activity and biogenesis. *Mitochondrion*. **2011**, 11(1), 207-213 [cit. 2023-06-14]. ISSN 15677249. Dostupné z: doi: 10.1016/j.mito.2010.09.011.
17. FONTANA, J., J. TRNKA, P. MAĎA, P. IVÁK, et al.: Dýchací řetězec a tvorba ATP. 20. In: *Funkce buněk a lidského těla: multimediální skripta pro výuku lékařské biochemie, fyziologie a histologie člověka*. Bratislava: Slovenská spoločnosť klinickej biochemie, **2015**, 39-40 [cit. 2023-06-26]. ISSN 1335-2644.
18. FREY, T. G. a C. A. MANNELLA.: The internal structure of mitochondria. *Trends in Biochemical Sciences*. **2000**, 25(7), 319-324. ISSN 09680004. Dostupné z: doi:10.1016/S0968-0004(00)01609-1.

19. FRONTERA, W. R. a J. OCHALA.: Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Calcified Tissue International*. **2015**, 96(3), 183-195 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0171-967X. Dostupné z: doi:10.1007/s00223-014-9915-y.
20. GARBERN, J. C. a R. T. LEE.: Mitochondria and metabolic transitions in cardiomyocytes: lessons from development for stem cell-derived cardiomyocytes. *Stem Cell Research & Therapy*. **2021**, 12(1) [cit. 2023-06-22]. ISSN 1757-6512. Dostupné z: doi:10.1186/s13287-021-02252-6.
21. GRIPARIC, L. a A. M. VAN DER BLIEK.: The Many Shapes of Mitochondrial Membranes. *Traffic*. **2001**, 2(4), 235-244. ISSN 13989219. Dostupné z: doi:10.1034/j.1600-0854.2001.1r008.x.
22. HENRIQUES, B. J., R. K. J. OLSEN, C. M. GOMES a P. BROSS.: Electron transfer flavoprotein and its role in mitochondrial energy metabolism in health and disease. *Gene*. **2021**, 776 [cit. 2023-05-25]. ISSN 03781119. Dostupné z: doi: 10.1016/j.gene.2021.145407.
23. HERBERS, E., N. J. KEKÄLÄINEN, A. HANGAS, J. L. POHJOISMÄKI a S. GOFFART.: Tissue specific differences in mitochondrial DNA maintenance and expression. *Mitochondrion*. **2019**, 44, 85-92 [cit. 2023-06-14]. ISSN 15677249. Dostupné z: doi: 10.1016/j.mito.2018.01.004.
24. HEWITT V., F. ALCOCK., T. LIGHGOW.: Minor modifications and major adaptations: The evolution of molecular machines driving mitochondrial protein import. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, **2011** (1808), 947-954. ISSN 0005-2736. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bbamem.2010.07.019.
25. HOLEČEK, M.: *Regulace metabolismu základních živin u člověka*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, **2016**, 251. ISBN 978-80-246-2976-6.
26. HOUTEN, S. M. a R. J. A. WANDERS.: A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β -oxidation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. **2010**, 33(5), 469-477 [cit. 2023-06-11]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-010-9061-2.
27. CHABAN, Y., E. J. BOEKEMA a N. V. DUDKINA.: Structures of mitochondrial oxidative phosphorylation supercomplexes and mechanisms for their stabilisation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. **2014**, 1837(4), 418-426 [cit. 2023-05-04]. ISSN 00052728. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bbabbio.2013.10.004.

28. CHEN, L., X. CHEN, X. HUANG, B. SONG, et al.: Regulation of glucose and lipid metabolism in health and disease. *Science China Life Sciences*. **2019**, 62(11), 1420-1458 [cit. 2023-06-14]. ISSN 1674-7305. Dostupné z: doi:10.1007/s11427-019-1563-3.
29. CHINNERY, P. F. a G. HUDSON.: Mitochondrial genetics. *British Medical Bulletin*. **2013**, 106(1), 135-159 [cit. 2023-05-09]. ISSN 0007-1420. Dostupné z: doi:10.1093/bmb/ldt017.
30. KAPPLER, L., M. HOENE, CH. HU, et al.: Linking bioenergetic function of mitochondria to tissue-specific molecular fingerprints. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. **2019**, 317(2), E374-E387 [cit. 2023-06-14]. ISSN 0193-1849. Dostupné z: doi:10.1152/ajpendo.00088.2019.
31. KOLWICZ, S. C., S. PUROHIT a R. TIAN.: Cardiac Metabolism and its Interactions With Contraction, Growth, and Survival of Cardiomyocytes. *Circulation Research*. **2013**, 113(5), 603-616 [cit. 2023-06-22]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCRESAHA.113.302095.
32. KOSHIBA, T., S. A. DETMER, J. T. KAISER, H. CHEN, et al.: Structural Basis of Mitochondrial Tethering by Mitofusin Complexes. *Science*. **2004**, 305(5685), 858-862 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1099793.
33. KOWALTOWSKI, A. J., N. C. DE SOUZA-PINTO, R. F. CASTILHO a A. E. VERCESI.: Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine*. **2009**, 47(4), 333-343 [cit. 2023-05-05]. ISSN 08915849. Dostupné z: doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.004.
34. KUNZ, W. S.: Different Metabolic Properties of Mitochondrial Oxidative Phosphorylation in Different Cell Types: Important Implications for Mitochondrial Cytopathies. *Experimental Physiology*. **2003**, 88(1), 149-154 [cit. 2023-06-15]. ISSN 09580670. Dostupné z: doi:10.1113/eph8802512.
35. KURLAND, C. G. a S. G. E. ANDERSSON.: Origin and Evolution of the Mitochondrial Proteome. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **2000**, 64(4), 786-820. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.64.4.786-820.2000.
36. LEE, J. H., A. PARK, K. OH, S. LEE, et al.: The Role of Adipose Tissue Mitochondria: Regulation of Mitochondrial Function for the Treatment of

- Metabolic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. **2019**, 20(19) [cit. 2023-06-26]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20194924.
37. LOPASCHUK, G. D., Q. G. KARWI, R. TIAN, A. R. WENDE, et al.: Cardiac Energy Metabolism in Heart Failure. *Circulation Research*. **2021**, 128(10), 1487-1513 [cit. 2023-06-22]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCRESAHA.121.318241.
38. LUO, L. a M. LIU.: Adipose tissue in control of metabolism. *Journal of Endocrinology*. **2016**, 231(3), R77-R99 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0022-0795. Dostupné z: doi:10.1530/JOE-16-0211.
39. MAGISTRETTI, P. J. a I. ALLAMAN.: A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging. *Neuron*. **2015**, 86(4), 883-901 [cit. 2023-06-26]. ISSN 08966273. Dostupné z: doi: 10.1016/j.neuron.2015.03.035.
40. MAURYA, K., J. L. HERRERA, S. K. SAHOO, F. C. G. REIS, et al.: Sarcolipin Signaling Promotes Mitochondrial Biogenesis and Oxidative Metabolism in Skeletal Muscle. *Cell Reports*. **2018**, 24(11), 2919-2931 [cit. 2023-06-22]. ISSN 22111247. Dostupné z: doi: 10.1016/j.celrep.2018.08.036.
41. MORIO, B., B. PANTHU, A. BASSOT a J. RIEUSSET.: Role of mitochondria in liver metabolic health and diseases. *Cell Calcium*. **2021**, 94 [cit. 2023-06-14]. ISSN 01434160. Dostupné z: doi: 10.1016/j.ceca.2020.102336.
42. MRÁČEK, T., E. HOLZEROVÁ, Z. DRAHOTA, N. KOVÁŘOVÁ, et al.: ROS generation and multiple forms of mammalian mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. **2014**, 1837(1), 98-111 [cit. 2023-05-25]. ISSN 00052728. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bbabi.2013.08.007.
43. MURRAY, R. K., D. K. GRANNER, P. A. MAYES a V. W. RODWELL.: *Harper's Illustrated Biochemistry* 26. edition, New York: McGraw-Hill, **2003**, 173-192. ISBN 0-07-138901-6.
44. NICHOLLS, D. G.: *Bioenergetics*. 4. edition, Academic Press, **2013**, 434. ISBN 9780123884251.
45. NOLFI-DONEGAN, D., A. BRAGANZA a S. SHIVA.: Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biology*. **2020**, 37 [cit. 2023-04-10]. ISSN 22132317. Dostupné z: doi: 10.1016/j.redox.2020.101674.

46. OLIVA-VILARNAU, N., S. HANKEOVA, S. U. VORRINK, S. MKRTCHIAN, et al.: Calcium Signaling in Liver Injury and Regeneration. *Frontiers in Medicine*. **2018**, 5 [cit. 2023-06-14]. ISSN 2296-858X. Dostupné z: doi:10.3389/fmed.2018.00192.
47. OWEN, O. E., S. C. KALHAN a R. W. HANSON.: The Key Role of Anaplerosis and Cataplerosis for Citric Acid Cycle Function. *Journal of Biological Chemistry*. **2002**, 277(34), 30409-30412 [cit. 2023-05-04]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.R200006200.
48. OXENOID, K., Y. DONG, CH. CAO, T. CUI et al.: Architecture of the mitochondrial calcium uniporter. *Nature*. **2016**, 533(7602), 269-273 [cit. 2023-05-17]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature17656.
49. PAUPE, V. a J. PRUDENT.: New insights into the role of mitochondrial calcium homeostasis in cell migration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2018**, 500(1), 75-86 [cit. 2023-05-17]. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.039.
50. PEKARČÍKOVÁ, L., L. KNOPFOVÁ, E. ONDROUŠKOVÁ a J. ŠMARDA.: Využití průtokové cytometrie pro analýzu mitochondriální buněčné smrti. *Klinická onkologie*. **2014**, 27(Suppl 1), 15-21 [cit. 2023-05-05]. ISSN 0862495X. Dostupné z: doi:10.14735/amko20141S15.
51. PICARD, M. a B. S. MCEWEN.: Mitochondria impact brain function and cognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2014**, 111(1), 7-8 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1321881111.
52. PITERKOVÁ, J., K. TOMÁNKOVÁ, L. LUHOVÁ, M. PETŘIVALSKÝ, et al.: Oxidativní stres: Lokalizace tvorby aktivních forem kyslíku a jejich degradace v rostlinném organismu. *Chemické Listy*, **2005**, 99: 455-466.
53. PIQUEREAU, J., F. CAFFIN, M. NOVOTOVA, CH. LEMAIRE, et al.: Mitochondrial dynamics in the adult cardiomyocytes: which roles for a highly specialized cell?. *Frontiers in Physiology*. **2013**, 4 [cit. 2023-06-22]. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2013.00102.
54. PIZZO, P., I. DRAGO, R. FILADI a T. POZZAN.: Mitochondrial Ca²⁺ homeostasis: mechanism, role, and tissue specificities. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*. **2012**, 464(1), 3-17 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0031-6768. Dostupné z: doi:10.1007/s00424-012-1122-y.

55. QUINLAN, C. L., I. V. PEREVOSCHIKOVA, R. L. S. GONCALVES, M. HEYMOGENSEN, et al.: The Determination and Analysis of Site-Specific Rates of Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production. *Methods in Enzymology*. **2013**, 189-217 [cit. 2023-05-25]. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-405883-5.00012-0.
56. ROGER, A. J., S. A. MUÑOZ-GÓMEZ a R. KAMIKAWA.: The Origin and Diversification of Mitochondria. *Current Biology*. **2017**, 27(21), 1177-1192 [cit. 2023-03-05]. ISSN 09609822. Dostupné z: doi: 10.1016/j.cub.2017.09.015.
57. ROSE, J., CH. BRIAN, A. PAPPA, M. I. PANAYIOTIDIS, et al.: Mitochondrial Metabolism in Astrocytes Regulates Brain Bioenergetics, Neurotransmission and Redox Balance. *Frontiers in Neuroscience*. **2020**, 14 [cit. 2023-06-26]. ISSN 1662-453X. Dostupné z: doi:10.3389/fnins.2020.536682.
58. RUI, L.: Energy Metabolism in the Liver. *Comprehensive Physiology*. **2014**, 177-197 [cit. 2023-05-25]. PMID: 24692138. Dostupné z: doi: 10.1002/cphy.c130024.
59. RUIZ, M.: Animal mitochondrion diagram. *Public domain*. **2006**, překlad MAÑAS M., 2008, [cit. 2023-06-26]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Animal_mitochondrion_diagram_cs.svg
60. SEARCY, D. G.: Metabolic integration during the evolutionary origin of mitochondria. *Cell Research*. **2003**, 13(4), 229-238. ISSN 1001-0602. Dostupné z: doi:10.1038/sj.cr.7290168.
61. SCHULZ, T. J. a Y. TSENG.: Brown adipose tissue: development, metabolism and beyond. *Biochemical Journal*. **2013**, 453(2), 167-178 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0264-6021. Dostupné z: doi:10.1042/BJ20130457.
62. STANLEY, W. C., F. A. RECCHIA a G. D. LOPASCHUK.: Myocardial Substrate Metabolism in the Normal and Failing Heart. *Physiological Reviews*. **2005**, 85(3), 1093-1129 [cit. 2023-05-25]. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00006.2004.
63. STEPHEN, T., S. GUPTA-AGARWAL a J. T. KITTLER.: Mitochondrial dynamics in astrocytes. *Biochemical Society Transactions*. **2014**, 42(5), 1302-1310 [cit. 2023-06-26]. ISSN 0300-5127. Dostupné z: doi:10.1042/BST20140195.

64. ŠTEFÁNEK, J.: Schéma beta-oxidace nasycené mastné kyseliny se sudým počtem uhlíků. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK*, **2010**, [cit. 2023-06-26]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/beta-oxidace>.
65. TAEGTMEYER H. L. T., G. DAVOGUSTTO.: *Comprehensive Physiology. Cardiac Metabolism in Perspective*. **2016**,6(4),1675-1699. Dostupné z: doi: 10.1002/cphy.c150056. PMID: 27783856.
66. VAN DER LAAN, M., M. BOHNERT, N. WIEDEMANN a N. PFANNER.: Role of Minos in mitochondrial membrane architecture and biogenesis. *Trends in Cell Biology*. **2012**, 22(4), 185-192 [cit. 2023-05-25]. ISSN 09628924. Dostupné z: doi: 10.1016/j.tcb.2012.01.004.
67. VAZ, F. M. a S. FERDINANDUSSE.: Bile acid analysis in human disorders of bile acid biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. **2017**, 56, 10-24 [cit. 2023-06-14]. ISSN 00982997. Dostupné z: doi: 10.1016/j.mam.2017.03.003.
68. VOET, D., J. G. VOET a CH. W. PRATT.: *Fundamentals of biochemistry: life at the molecular level*. 5. edition. New York, N.Y.: Wiley, **2016**. ISBN 978-1-118-91840-1.
69. WALKER, J. E.: The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown. *Biochemical Society Transactions*. **2013**, 41(1), 1-16 [cit. 2023-05-05]. ISSN 0300-5127. Dostupné z: doi:10.1042/BST20110773.
70. WANG, CH. a R. J. YOULE.: The Role of Mitochondria in Apoptosis. *Annual Review of Genetics*. **2009**, 43(1), 95-118 [cit. 2023-05-13]. ISSN 0066-4197. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-genet-102108-134850.
71. ZOROV, D. B., M. JUHASZOVA a S. J. SOLLOTT.: Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews*. **2014**, 94(3), 909-950 [cit. 2023-05-05]. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00026.2013.
72. ŽURMANOVÁ, J.: Kreatinkinázový systém v kosterním svalu. *Živa*. Praha: Divize Nakladatelství Academia, **2014**, (1), 4, [cit. 2023-06-20]. ISSN 0044-4812.