

Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

Rigorózní práce

Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Adipokinetic hormone counteracts oxidative
stress elicited in insects by hydrogen peroxide:
in vivo and *in vitro* study**

Rigorózní práce

Mgr. Andrea Bednářová

České Budějovice 2013

BEDNÁŘOVÁ, A., KRISHNAN, N., CHENG, I.-C., VEČEŘA, J., LEE, H.-J. and KODRÍK, D. (2013), Adipokinetic hormone counteracts oxidative stress elicited in insects by hydrogen peroxide: *in vivo* and *in vitro* study. *Physiological Entomology*, 38: 54–62. RNDr. Thesis.

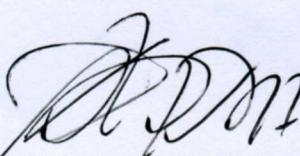
Annotation:

The involvement of members of Adipokinetic hormone (AKH) family in regulation of response to oxidative stress (OS) was investigated in the present study. OS was elicited in the insect body by exogenous application of hydrogen peroxide. *In vivo* experiments reveal that injection of hydrogen peroxide into the haemocoel of the firebug, *Pyrrhocoris apterus*, increases the level of AKH in the central nervous system (CNS) and in the haemolymph. The injection of hydrogen peroxide also increases the mortality of experimental bugs, whereas co-injection of hydrogen peroxide with Pyrap-AKH reduces mortality to control levels. Importantly, an increase in haemolymph protein carbonyl (an OS biomarker) levels is decreased to control levels when hydrogen peroxide is co-injected with Pyrap-AKH. Similar results were obtained using *in vitro* experiments. OS biomarkers such as malondialdehyde and protein carbonyls were significantly enhanced upon exposure of isolated CNS to hydrogen peroxide *in vitro*, whereas co-treatment of the CNS with hydrogen peroxide and Pyrap-AKH reduces their level significantly. Catalase activity was measured as well and the same pattern was observed. The results of the present study provide strong support on the feedback regulation between oxidative stressors and AKH action, and implicate AKH in counteracting OS.

Prohlašuji, že svoji rigorózní práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím parametrů literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47 zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své rigorózní práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, dne 06.06. 2013



.....
Andrea Bednářová


Podíl Andrey Bednářové na přípravě publikaci, které je přiložena jako rigorózní práce:

Stanovisko spoluautorů

Níže uvedený spoluautor a zároveň korespondující autor publikace: “**Adipokinetic hormone counteracts oxidative stress elicited in insects by hydrogen peroxide: *in vivo* and *in vitro* study**” svým podpisem stvrzuje, a to za celý kolektiv autorů, že podíl Andrey Bednářové byl pro vznik práce zcela zásadní, jinak vyjádřeno, bez její spoluautorské účasti by práce nevznikla.

V Českých Budějovicích, dne 06.06. 2013

prof. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.



.....

Adipokinetic hormone counteracts oxidative stress elicited in insects by hydrogen peroxide: *in vivo* and *in vitro* study

ANDREA BEDNÁŘOVÁ^{1,2}, NATRAJ KRISHNAN³, I-CHENG CHENG^{1,4}, JOSEF VEČEŘA^{1,2}, HOW-JING LEE⁵, DALIBOR KODRÍK^{1,2,*}

¹Institute of Entomology, Biology Centre, Academy of Science, České Budějovice, Czech Republic

²Faculty of Science, South Bohemian University, České Budějovice, Czech Republic

³Department of Biochemistry, Molecular Biology, Entomology and Plant Pathology, Mississippi State University, Mississippi State, Mississippi, U.S.A.

⁴Institute of Cellular and Organismic Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan

⁵Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

Keywords: Adipokinetic hormone; catalase; ELISA; hydrogen peroxide; malondialdehyde; oxidative stress; protein carbonyls

The role of adipokinetic hormone (AKH) in counteracting oxidative stress elicited in the insect body is studied in response to exogenously applied hydrogen peroxide, an important metabolite of oxidative processes. *In vivo* experiments reveal that the injection of hydrogen peroxide (8 μ mol) into the haemocoel of the firebug, *Pyrhocoris apterus* L. (Heteroptera: Pyrrhocoridae) increases the level of AKH by 2.8-fold in the central nervous system (CNS) and by 3.8-fold in the haemolymph. The injection of hydrogen peroxide also increases the mortality of experimental insects, whereas co-injection of hydrogen peroxide with Pyrap-AKH (40 μ mol) reduces mortality to almost control levels. Importantly, an increase in haemolymph protein carbonyl levels (i.e. an oxidative stress biomarker) elicited by hydrogen peroxide is decreased by 3.6-fold to control levels when hydrogen peroxide is co-injected with Pyrap-AKH. Similar results are obtained using *in vitro* experiments. Oxidative stress biomarkers such as malondialdehyde and protein carbonyls are significantly enhanced upon exposure of the isolated CNS to hydrogen peroxide *in vitro*, whereas co-treatment of the CNS with hydrogen peroxide and Pyrap-AKH reduces levels significantly. Moreover, a marked decrease in catalase activity compared with controls is recorded when the CNS is incubated with hydrogen peroxide. Incubation of the CNS with hydrogen peroxide and Pyrap-AKH together curbs the negative effect on catalase activity. Taken together, the results of the present study provide strong support for the recently published data on the feedback regulation between oxidative stressors and AKH action, and implicate AKH in counteracting oxidative stress. The *in vitro* experiments should facilitate research on the mode of action of AKH in relation to oxidative stress, and could help clarify the key pathways involved in this process.