

## Abstrakt

Signalizace spojená s aktivací receptoru pro tyreoliberin (TRH-R) má svou nezastupitelnou úlohu v řadě buněčných procesů. Tyreoliberin (TRH) má důležitou roli v regulaci sekrece ostatních hormonů a existují také zmínky o jeho možných antiapoptotických a neuroprotektivních účincích. Na druhou stranu je TRH velice rychle degradován a také jeho další vlastnosti, jako jsou srdeční a endokrinní vedlejší účinky a nízká lipofilita, znevýhodňují terapeutické aplikace tohoto hormonu oproti jeho různým analogům. Díky svým účinkům na centrální nervový systém představují TRH i jeho analogy potenciální možnost pro terapii různých neurologických onemocnění, neurodegenerativní choroby nevyjímaje. Molekulární mechanismy zodpovědné za prospěšné působení TRH a jeho analogů zatím nejsou zcela objasněny. Dosud se také jen málo ví o zapojení TRH, popřípadě jeho analogů, v regulaci energetického metabolismu a vlivu na buněčný fosfoproteom.

V první části práce jsme se zaměřili na výzkum vlivu TRH a interakčních partnerů TRH-R na laterální pohyblivost tohoto receptoru v membráně buněčné linie TRY-1 stabilně exprimující TRH-R na C-konci značený žlutým fluorescenčním proteinem (YFP). Z výsledků těchto experimentů je patrné, že nejen stimulace ligandem, ale také přítomnost vazebných partnerů přispívá k modulaci parametrů laterální pohyblivosti receptoru.

Ve druhé části práce jsme se věnovali rozsáhlé analýze funkčního stavu TRH-R. Byl sledován zejména vliv jednotlivých signalizačních molekul na hladiny intracelulárních druhých posílů, jako jsou vápenaté ionty, inositol-1,4,5-trifosfát (IP<sub>3</sub>) a cyklický adenosinmonofosfát (cAMP), po aktivaci TRH-R. Ukázalo se, že tento receptor pravděpodobně kromě svého působení přes G<sub>q/11</sub>α protein se může za určitých podmínek spřahovat také s G<sub>s</sub>α, popřípadě i G<sub>i</sub>α proteiny, a regulovat tak rozmanité buněčné procesy. Prokázán byl také vliv TRH i jeho analogu taltirelinu (TAL) na fosforylaci kináz ERK1/2 a Akt.

V další části práce jsme sledovali vliv aktivace TRH-R na hladiny volných radikálů, na procesy buněčné bioenergetiky, na funkci mitochondriálního dýchacího řetězce. Aplikace TRH i TAL odhalila jisté antioxidační vlastnosti těchto látek a mírný protektivní účinek proti oxidačnímu stresu indukovanému *tert*-butyl hydroperoxidem (*t*-BHP). Ani jeden z ligandů neprokázal žádný vliv na procesy oxidativní fosforylace, ani na spotřebu kyslíku u buněčné linie GH1.

V poslední části této práce jsme zkoumali vliv β-arrestinu2 na fosfoproteom u GH1 buněčné linie po stimulaci TRH-R. Aktivace TRH-R pomocí TRH nebo TAL a také snížení exprese β-arrestinu2 odhalily rozsáhlé změny ve fosforylaci proteinů souvisejících se signalizací malých GTPáz, mitogenem aktivovaných proteinkináz (MAPK), serin/threoninových a tyrozinových proteinkináz, Wnt/β-kateninu a proteinů z dalších signalizačních drah. TRH a TAL navíc vykazovaly mnohé odlišnosti ve fosforylaci velkého počtu proteinů, což by mohlo poukazovat na schopnost těchto dvou ligandů působit jako usměrňovací agonisté na TRH-R.