

1. Abstrakt

Cílem této práce bylo zhodnotit vliv nízkých dávek (0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 1 mg/kg na den po dobu 28 dní + 7 dní abstinence) a vysokých dávek (10 mg/kg na den po dobu 10 dní) morfinu na signalizaci, která je zprostředkována receptory spřaženými s G-proteiny (GPCRs) v myokardu potkana. Mezi významné receptory z této skupiny patří opioidní receptory (OR) a hlavně β -adrenergní receptory (β -AR).

Nejpočetnějšími OR v srdeční tkáni jsou δ -OR a κ -OR. Výsledky studie těchto dvou OR v této diplomové práci naznačují, že v myokardu po ovlivnění morfinem nedochází k signifikantním změnám v expresi δ -OR ani κ -OR při podání žádné ze studovaných dávek.

Srdeční tkáň obsahuje všechny tři dosud známé typy β -AR (β_1 -AR, β_2 -AR a β_3 -AR). Důraz byl v diplomové práci kladen hlavně na studium exprese β_1 -AR a β_2 -AR, neboť bylo zjištěno, že právě tyto dva podtypy β -AR se podílejí na většině signalizačních drah ovlivňujících kardiovaskulární systém. Použitím techniky imunoblotu nebyly nalezeny žádné výraznější změny v expresi β_1 -AR a exprese β_2 -AR se poněkud snížila po použití dávky 10 mg/kg po dobu 10 dní. Senzitivnější saturační vazebné pokusy s použitím neselektivního β -antagonisty [3 H]CGP 12177 odhalily signifikantní nárůst specifické vazby při podání morfinu v dávce 1 mg/kg/den po dobu 28 dní a po následné 7-denní abstinenci byl detekován naopak významný pokles. Signalizace těchto dvou podtypů receptorů se liší na úrovni G-proteinů. Zatímco β_1 -AR působí svůj účinek pouze přes $G\alpha_s$ proteiny, β_2 -AR se mohou spřahovat i s pertusis toxin citlivými $G\alpha_i$ proteiny. Při detekci $G\beta$, $G\alpha_{i1/2}$, a $G\alpha_{q/11}$ proteinů nebyla nalezena žádná signifikantní změna v jejich expresi působením morfinu, pouze u $G\alpha_{i3}$ podjednotky došlo ke zvýšení exprese.

Pomocí čtyř různých solubilizačních činidel (Triton X-100, CHAPS, cholát sodný, uhličitan sodný) se podařilo izolovat membránové mikrodomény. Ve vzorcích tkáně kontrolních zvířat i u zvířat po podání morfinu (10 mg/kg/den) byla pozorována výrazně odlišná membránová lokalizace β_1 -AR a β_2 -AR. Zatímco β_1 -AR byly přítomny jak v supernatantu (solubilizované proteiny) tak v peletě (lipidové rafty), β_2 -AR byly přítomny téměř výhradně v peletě.

Klíčová slova: β -adrenergní receptor, G-protein, GPCRs, morfin