

ABSTRAKT

Adenosin hraje kritickou roli v srdeční signalizaci, kde ovlivňuje srdeční tep, kontraktilitu nebo krevní oběh. Doposud jsou známy 4 podtypy adenosinových receptorů, které se vyskytují téměř ve všech tkáních a buňkách lidského těla: A_1 , A_{2A} , A_{2B} a A_3 . Jedná se o receptory spřažené s G proteiny, které po aktivaci primárně ovlivňují aktivitu adenylcyklázy a tvorbu druhého posla cAMP. Cílem této diplomové práce byla charakterizace adenosinových receptorů v myokardu potkana, studium jejich distribuce, vazebných vlastností a signalizace. Pomocí metod elektroforézy a Western blottingu byl studován možný rozdíl v expresi jednotlivých receptorových podtypů v levé a pravé komoře. Použitím těchto metod bylo měřeno množství adenosinových receptorů ve frakci lipidových raftů versus solubilní frakci izolované pomocí Tritonu X-100. Výsledky nepotvrdily odlišnou distribuci receptorů v pravé a levé komoře a stejně tak nebyl pozorován přednostní výskyt adenosinových receptorů v lipidových raftech. Vazebné vlastnosti receptorů byly měřeny v saturačních studiích za použití radioaktivně značeného selektivního antagonisty A_1 receptoru [H^3]DPCPX. Koncentrace A_1 receptoru se mezi oběma frakcemi signifikantně nelišila, obecně byla nízká, a toto pozorování se shoduje s výsledky Western blottingu. Nakonec byla stanovena aktivita adenylcyklázy s použitím radioaktivně značeného [α - ^{32}P]ATP. Adenylcykláza byla stimulována forskolinem, isoprenalinem a CGS-21680 (agonista A_{2A} receptoru) a inhibována pomocí CPA (agonista A_1 receptoru). Výrazná stimulace byla pozorována u forskolinu, avšak u isoprenalinu a CGS byla stimulace prakticky zanedbatelná. Stejně tak inhibice CPA nevykazovala signifikantní snížení tvorby cAMP. Studium adenosinových receptorů na srdci může být problematické kvůli jejich nízké koncentraci, avšak vzhledem k rozšířenému výskytu adenosinu a jeho funkcím ve fyziologických i patologických stavech buněk je znalost jejich exprese a signalizace základem pro vývoj nových účinných léčiv.