

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: **Uday Kumar Killi, M.Sc.**

Školitel: **Prof. Ing. Vladimír Wsól, Ph.D.**

Konzultant: **Prof. Gunnar Tobin, D.D.S., Ph.D.**

Název disertační práce: **Interakce muskarinových receptorů a cholinesterasy: Studie funkcí inhibitorů esterasy u potkana.**

Parasympatický nervový systém reguluje životně důležité tělesné funkce přes cholinergní přenos. Acetylcholin, fylogeneticky starý neurotransmitter, působí na nikotinové receptory v gangliích a muskarinové receptory nacházející se na žlázách a hladkém svalstvu. Muskarinové receptory patří do velké skupiny receptorů spřažených s G proteinem. Existuje celkem pět subtypů muskarinových receptorů (M1-M5), které v závislosti na typu působí excitaci nebo inhibici. V synaptické štěrbině je acetylcholin hydrolyzován acetylcholinesterasou. Právě inhibice této acetylcholinesterasy, např. pomocí pesticidů, způsobuje akumulaci acetylcholinu v synaptické štěrbině vedoucí k nadměrné stimulaci cholinceptorů.

Muskarinové receptory a acetylcholinesterasy jsou důležité terapeutické cíle v mnoha onemocněních, jakými jsou neurodegenerativní poruchy, poruchy dolních močových cest, kardiovaskulární poruchy, nebo onemocnění dýchacích cest. V lékové terapii jsou občas používány antagonisté muskarinových receptorů, ale díky vysoce konzervované orthosterické doméně muskarinových receptorů ztrácí selektivitu vůči jednotlivým podtypům, což by mohlo být prospěšné z pohledu možných nežádoucích účinků. Vyvíjeny jsou alosterické (sekundární vazebná místa) modulátory, které působí selektivně na jednotlivé muskarinové subtypy receptorů, a které poskytují nové možnosti ve vývoji nových léčiv. Jedním takovým alosterickým modulátorem je obidoxim, který kombinuje účinek antimuskarinový s inhibicí esterasy.

V této práci byly studovány tři typy sloučenin - silný inhibitor cholinesterasy

(fysostigmin), slabý inhibitor cholinesterasy vykazující antagonismus vůči muskarinovému receptoru (např. obidoxim) a "selektivní" antagonist muskarinového M2 receptoru (methoktramin). Obidoxim má "selektivní" antagonistický profil k M2 receptoru. Cílem práce bylo zjistit funkční význam muskarinových M2/M3 receptorů ve vztahu k inhibici acetylcholinesterasy. Častý výskyt muskarinových M2 receptorů na hladkém svalstvu dýchacích cest a dolních močových cest mátl vědce po mnoho let. Současné farmakologické přístupy využívané v této práci nám umožnily studovat a objevovat nové interakční mechanismy M2 a M3 muskarinových receptorů, které mohou mít zásadní význam pro toxicitu ve farmakoterapii využívající inhibici esterasy.

Metodika: Funkční studie byly prováděny na izolovaných orgánech (potkaní atrium a proužky močového měchýře) s použitím orgánové lázně *in vitro*. V *in vivo* experimentech byly u anestezovaných potkanů studovány srdeční frekvence a tlak v močovém měchýři.

Klíčová zjištění: Výsledky potvrzují, že obidoxim vykazuje antimuskarinové účinky a že inhibiční profil vykazuje selektivitu k M2 receptoru. Antimuskarinový účinek je pak mnohem menší než účinek vyvolaný atropinem. Výsledky rovněž ukazují, že se inhibice esterasy a antagonismus muskarinových receptorů projeví v závislosti na koncentraci a dávce studované látky.

Dosavadní výsledky také objevují novou roli M2 muskarinových receptorů, a to že, alespoň při nízké intenzitě cholinergní stimulace, stabilizují močový měchýř způsobem málo citlivým vůči acetylcholinu. Tato zjištění bychom měli mít na paměti při podávání látek, které zvyšují cholinergní účinky současně s projevem antagonismu vůči muskarinovému M2 receptoru. V důsledku toho, při použití reaktivátorů acetylcholinesterasy, je důležité podávat oximové reaktivátory, které vykazují nižší afinitu k M2 muskarinovému receptoru.

Závěr: Tato disertační práce prokazuje, že stimulace muskarinových M2 receptorů při nízké hladině acetylcholinu v synaptické štěrbině inhibuje kontrakční odezvy vyvolané muskarinovým M3 receptorem. Toxicita reaktivátorů cholinesteras může být spojena s dříve popsaným antimuskarinovým profilem receptoru M2. Propojení muskarinového M2 a M3 receptoru by tak mohlo vyvolat protichůdný mechanismus v léčbě využívající inhibici acetylcholinesterasy, pokud budou použity reaktivátory typu obidoximu.

Klíčová slova: atrium, močový měchýř, cholinoceptory, acetylcholinesterasa, muskarinové receptory, inhibitory acetylcholinesterasy, physostigmin, obidoxim, antagonisté muskarinu, atropin, methoktramin, přeslech, agonisté muskarinu, metacholinu, acetylcholin.