

ABSTRAKT V ČESKÉM JAZYCE

Kandidát: Mgr. Alejandro Carazo Fernández

Školitel: Prof. Petr Pávek, PhD.

Název dizertační práce: Nukleární receptory – stadium nových ligandů a význam genové variability

Nukleární receptory (NR) náleží do superrodiny transkripčních faktorů, které regulují expresi cílových genů. Nukleární receptory se dělí na steroidní receptory, „adopted orphan receptors“ a sirotčí receptory. Receptory, které nemají žádný identifikovaný endogenní ligand, jsou nazývány jako „sirotčí receptory“. Nukleární receptory hrají důležitou roli ve fyziologických procesech a jsou široce distribuovány po celém lidském těle. Jejich role je důležitá například při regulaci adipogeneze, glukoneogeneze, lipolýze, odpovědi na inzulín, oxidativním metabolismu, homeostáze mastných kyselin, homeostáze cholesterolu, homeostáze glykogenu a triglyceridů.

Během své doktorské práce jsem testoval několik sad látek endogenní, přírodní a syntetické povahy na interakce s několika jadernými receptory se zaměřením zejména na konstitutivní androstanový receptor (CAR) a v menší míře na pregnanový X receptor (PXR). Mým hlavním cílem bylo najít nové a spolehlivé ligandy nebo aktivátory lidského CAR. Kromě toho, cílem bylo studovat mechanismus účinku, kterým tyto sloučeniny interagují s CAR receptorem a jakým způsobem regulují jeho cílové geny. Pro tento účel jsem použil *ex vivo*, *in vitro* a *in silico* modely.

V první výzkumném projektu, který jsem prvoautorky publikoval, jsem popsal aktivaci lidského CAR několika flavonoidními látkami prostřednictvím inhibice receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR). Tento způsob nepřímé aktivace CAR receptoru byl popsán pro antiepileptikum fenobarbital (PB). Pro tento účel jsme použili několik metod, včetně tzv. assembly assay a LanthaScreen® TR-FRET metody.

Ve druhém projektu jsem dále optimalizoval metodou TR-FRET, kterou jsem použil v předchozí výzkumné práci. Tato metoda je založena na přenosu fluorescenční

rezonanční energie (FRET) mezi dvěma fluorofory, který mění emisního spektra v přítomnosti ligandu interagujícího vazebnou doménou CAR receptoru. Touto nebuněčnou metodou jsem detailně popsal interakce známých agonistů, antagonistů a inverzních agonistů s lidským CAREm.

Ve třetím výzkumném projektu jsem studoval interakce několika nově vyvinutých acetylovaných a oxidovaných derivátů žlučových kyselin s několika jadernými receptory v HepG2 buňkách. Ukázal jsem, že 3,12-diacetát deoxycholové kyseliny (DCA) je schopen silně aktivovat PXR a regulovat jeho cílové geny. Nicméně jsme nebyli schopni identifikovat tuto látku v lidské nebo myší žluči metodou HPLC, což naznačuje, že sloučenina není endogenní ligand PXR.

V posledním výzkumného projektu jsem pracoval na mechanismu, který se podílí na interakci leflunomidu s lidským CAR. K dnešnímu dni žádné léčivo používané v humánní terapii nebylo identifikováno jako přímý aktivátor CAR receptoru s vysokou afinitou a jen látka CITCO vycházející strukturálně z oximu, je schopna stabilně aktivovat lidský CAR. Význam nalezení ligandů CAR receptoru je rozhodující pro studium aktivace CAR u lidí, jelikož zvířecí ortholog se značně od lidského liší.

Věřím, že naše výsledky nám pomůžou pochopit, jak CAR, PXR a jiné jaderné receptory vykonávají své fyziologické a detoxifikační funkce v lidském organismu. Kromě toho, náš výzkum vrhá trochu světla na pochopení molekulárních mechanismů, kterými jaderné receptory vykonávají svůj účinek a jak se podílejí na metabolismu a fyziologických procesech. Konečně, naše práce se pokusila aplikovat tyto znalosti při vývoji nových ligandů CAR receptoru i jiných nukleárních receptorů pro potenciální aplikaci v léčbě metabolických poruch.