

Súhrn

Expresia fenotypu svalových vlákien je výsledkom interakcií medzi vnútornými genetickými faktormi a faktormi vonkajšími, z nich najdôležitejšie sú typ inervácie, mechanické faktory a zmenená hladina tyroidných hormónov. V kostrových svaloch drobných hlodavcov boli popísané izoformy ťažkých reťazcov myozínu (MyHC) 1, 2a, 2x/d a 2b a im odpovedajúce vlákna pomalého typu 1 a tri typy rýchlych svalových vlákien 2A, 2X/D a 2B. Fenotyp jednotlivých svalov odpovedá fyziologickým požiadavkám vyplývajúcich z ich funkcie a je ho možno definovať ako percentuálne zastúpenie typov jednotlivých svalových vlákien. Cieľom tejto dizertačnej práce bolo zistiť účinok zmenenej hladiny tyroidných hormónov na expresiu jednotlivých génov MyHC a to ako na úrovni mRNA tak aj na úrovni ich proteínových izoformiem v pomalom svale m. soleus (SOL) (s prevahou pomalých vlákien typu 1) a v rýchlom svale m. extensor digitorum longus (EDL) (s prevahou rýchlych vlákien) u dvoj-, štvor- a sedemmesačných eutyroidných (EU), hypotyroidných (HY) a hypertyroidných (TH) potkanov inbredného kmeňa Lewis a ďalej u potkanov, u ktorých bola prevedená unilaterálna heterochrónna izotransplantácia. HY stav bol navodený a udržiavaný 0.05% roztokom methimazolu (methyl-mercapto-imidazol, Sigma) a TH stav bol vytvorený podávaním intraperitoneálnej injekcie T₃ (Na₃,3',5-triiodo-L-thyronin, Sigma) trikrát týždenne počas celého experimentálneho obdobia. EU stav bol normálny prirodzený stav u jedincov pochádzajúcich z rovnakých vrhov ako HY a TH zvieratá. Pomerné zastúpenie jednotlivých izoformiem MyHC bolo stanovené pomocou metódy SDS-PAGE a hladina expresie mRNA MyHC pomocou metódy RT-PCR.

V SOL boli detekované iba proteínové izoformy MyHC 1 a 2a. Obsah izoformy MyHC 1 narastal s vekom u EU a HY potkanov, pričom u dvojmesačných HY potkanov bol obsah vyšší než u rovnako starých EU zvierat a maximálny obsah bol dosiahnutý už u štvormesačných HY potkanov oproti EU potkanom, kde bolo maxima dosiahnutého až u sedemmesačných zvierat. Naopak, u dvojmesačných TH bol percentuálny obsah MyHC 1 omnoho vyšší než u EU a HY toho istého veku. U štvor a sedemmesačných TH potkanov však došlo naopak k poklesu obsahu izoformy MyHC 1 a nárastu izoformy 2a. Prekvapujúco však boli detekované všetky štyri mRNA pre MyHC 1, 2a, 2x/d a 2b vo všetkých troch vekových skupinách. Jednotlivé mRNA MyHC nevykazovali systematické zmeny s narastajúcim vekom resp. s dĺžkou aplikácie methimazolu (u HY) alebo T₃ (u TH). Sumárne hodnoty zo všetkých potkanov však potvrdili, že vplyv zmenenej hladiny tyroidných hormónov vyvolal rovnaké zmeny na úrovni mRNA MyHC 1 a 2a a ich proteínových

izoforiem. HY stav zvýšil hladinu mRNA pre MyHC 1 a potlačil expresiu génu pre MyHC 2a. TH stav vyvolal opačné zmeny. Hladina mRNA MyHC 2x/d a 2b sa v SOL EU, HY a TH potkanov nemenila a odpovedajúce izoformy neboli až na nepatrné výnimky detekované. V niektorých prípadoch, u dvojmesačných EU a HY potkanov boli totiž detekované proteínové izoformy MyHC 2x/d (EU $0.9 \pm 0.2\%$, HY $8.0 \pm 2.3\%$) a 2b (HY $5.4 \pm 4.8\%$), hoci svalové vlákna typu 2X/D a 2B neboli histochemickou či imunocytochemickou metódou v SOL týchto zvierat zistené.

Analýza obsahu proteínových izoforiem MyHC a jednotlivých mRNA MyHC v EDL nepreukázala výrazné zmeny v pomernom zastúpení jednotlivých proteínových izoforiem resp. ich mRNA MyHC medzi dvoj-, štvor- a sedemmesačnými EU, HY a TH potkanmi. Priemerné hodnoty zo všetkých troch vekových skupín však naznačili, že zmenená hladina tyroidných hormónov ovplyvnila obdobne zastúpenie ako jednotlivých mRNA, tak aj odpovedajúcich proteínových izoforiem. HY stav zvýšil hladinu mRNA MyHC 1 a 2a a aj obsah ich proteínových izoforiem, zatiaľ čo TH stav vyvolal opačné zmeny. U izoformy MyHC 2x/d viedol TH stav k nárastu obsahu proteínu bez vzostupu hladiny mRNA a u izoformy MyHC 2b spôsobil HY stav redukciiu obsahu proteínu a nárast príslušnej mRNA.

V skupine operovaných EU, HY a TH potkanov sme sledovali vplyv chirurgického (operačného) zákroku, heterochrónnej izotransplantácie, na expresiu proteínových izoforiem MyHC v hostiteľskom (hEDL), kontralaterálnom EDL (klEDL), kontralaterálnom a ipsilaterálnom SOL (klSOL a ilSOL). Percentuálne zastúpenie vo svaloch hEDL, klEDL, klSOL a ilSOL bolo u EU potkanov prakticky rovnaké ako u neoperovaných EU potkanov (bez izotransplantácie) a vplyvom zmeny tyroidného stavu sa obsah proteínových izoforiem MyHC menil podobne ako u neoperovaných potkanov. Z toho vyplýva, že chirurgický zákrok neovplyvnil fenotyp svalov klEDL a klSOL a ani ilSOL, ktoré tak môžu byť použité ako kontrolné svaly pre analýzu izoforiem MyHC v regenerujúcom transplantovanom svale po heterochrónnej izotransplantácií.

Z dosiahnutých výsledkov dizertačnej práce vyplýva, že hormóny štítnej žľazy ovplyvňujú hladinu mRNA MyHC aj ich proteínových izoforiem a tak prispievajú k diferenciácii fenotypu kostrových svalov (za normálnych podmienok, presne udržiavanou hladinou tyroidných hormónov u EU jedincov). Zistené rozdiely v SOL a v EDL medzi hladinou mRNA MyHC a výskytom proteínových izoforiem 2x/d a 2b ďalej naznačujú, že regulácia expresie génov prebieha nielen na transkripčnej úrovni, ale pravdepodobne aj na post-transkripčnej úrovni.