

## 8 SOUHRN

Kosterní sval představuje hlavní zdroj aminokyselin v různých zátěžových situacích. Závažné a dlouhodobé patologické stavy jako sepse, popáleniny nebo onkologická onemocnění vedou k inhibici svalové proteosyntézy a zejména k aktivaci proteolýzy. Tyto procesy sice zajišťují organizmu přísun aminokyselin nutných k uzdravení, avšak trvají-li příliš dlouho či probíhají-li v nadměrném rozsahu, vedou k progresivním ztrátám svalové hmoty, rozvoji kachexie a v konečném důsledku ke zpomalení rekonvalescence a zvýšení mortality.

Hlavní intracelulární proteolytický mechanismus je ubiquitin-proteazomový systém (UPS). Tento systém je zapojen v regulaci celé řady buněčných pochodů a je zodpovědný za zvýšenou degradaci svalových bílkovin u různých zátěžových stavů. Význam UPS dokládá také fakt, že za jeho objev byla v roce 2004 udělena Nobelova cena.

Snaze farmakologicky ovlivnit UPS se věnuje značná pozornost. Jednu z možností představují inhibitory proteazomu (IP). Nejvýraznějších úspěchů bylo zatím dosaženo u bortezomibu, který je dnes jediným IP běžně používaným v klinické praxi. Fakt, že je indikován při recidivujícím mnohačetném myelomu, koncentruje výzkum v oblasti inhibitorů proteazomu do oblasti onkologie. Méně pozornosti už je věnováno jiným potenciálním efektům IP, mezi něž patří i mírnění nadměrných ztrát svalové hmoty v důsledku závažných, dlouhodobých onemocnění.

Cílem naší práce bylo porovnat syntézu a degradaci proteinů v různých typech kosterních svalů ve dvou odlišných proteokatabolických stavech a posoudit vliv IP belaktosinu A, C a bortezomibu na tyto procesy.

V předkládané práci byla využita metoda inkubace izolovaných svalů laboratorního potkana, která umožňuje posouzení přímého vlivu testovaných látek na kosterní sval. Vzhledem k strukturním a biochemickým rozdílům mezi různými svaly jsme použili m. soleus (SOL), který je složen převážně z oxidativních vláken a m. extensor digitorum longus (EDL) tvořený zejména vlákny glykolytickými. Sledovali jsme aktivitu UPS a katepsinů, celkovou a myofibrilární proteolýzu, proteosyntézu a oxidaci leucinu. Vliv belaktosinů A a C byl sledován pouze *in vitro*, vliv bortezomibu také *in vivo*. Při studiu metabolických rozdílů mezi SOL a EDL jsme indukovali potkanům zánět buď subkutánním podáním terpentýnového oleje nebo intraperitoneální aplikací

endotoxinu, při sledování účinků bortezomibu jsme využili již jen komplexnější endotoxinový model sepse.

Z pohledu přeměny proteinů a aminokyselin byl SOL metabolicky aktivnějším svalem než EDL. Terpentýnem indukovaný zánět provázela inhibice proteosyntézy a aktivity proteolýzy ve sledovaných kosterních svalech. V EDL došlo oproti SOL k výraznější aktivaci CHTLA a inhibici proteosyntézy. Obdobné ale intenzivnější změny jsme pozorovali také po aplikaci endotoxinu s výjimkou CHTLA proteazomu stimulované více v SOL. Tyto rozdíly zřejmě souvisí se strukturálními a biochemickými odlišnostmi mezi EDL a SOL.

Belaktosiny A a C zredukovaly CHTLA proteazomu a celkovou proteolýzu v izolovaných svalech, což poukazuje na zásadní úlohu UPS při degradaci bílkovin. Strukturální odlišnost testovaných belaktosinů se projevila rozdílným účinkem na myofibrilární proteolýzu. Belaktosin A ji snížil, zatímco belaktosin C tento parametr neovlivnil. Lze tedy tvrdit, že rychlost myofibrilární proteolýzy nesouvisí výhradně s činností UPS. Zaznamenali jsme také rozdíly v účinku v závislosti na typu svalu. Belaktosiny stimulovaly oxidaci leucinu jen v SOL a inhibovaly proteosyntézu pouze v EDL.

Bortezomib měl minimální účinky na veškeré sledované parametry ve svalech intaktních potkanů. Na druhou stranu inhiboval zvýšenou CHTLA proteazomu ve svalech septických potkanů jak při podání *in vivo* tak *in vitro*, což dokazuje jeho přímou interakci s UPS. Avšak celková a myofibrilární proteolýza se ve svalech septických zvířat po podání bortezomibu zvýšila, což ukazuje na stimulační účinek na jiné proteolytické mechanismy. Uvážíme-li navíc ambivalentní efekt bortezomibu na proteosyntézu, je zřejmé, že bortezomib v našich podmínkách nemohl zabránit rozvoji negativní proteinové bilance způsobené septickým stavem.