

## Abstrakt

Železo je esenciálním stopovým prvkem nezbytným pro mnoho životně důležitých procesů v buňce, včetně syntézy DNA a progresu buněčného cyklu. Kromě toho je zásadní pro buněčné dýchání v mitochondriích. Vzhledem ke zvýšené rychlosti proliferace nádorových buněk jsou rakovinné buňky více závislé na železe a odebrání tohoto prvku pomocí chelátorů u nich vede k inhibici ribonukleotid reductázy, zastavení buněčného cyklu a apoptotické buněčné smrti. V nedávné době byl vedle těchto účinků navržen alternativní mechanismus zahrnující zvýšenou expresi N-myc downstream regulated gene 1 (*NDRG1*) a jeho inhibiční působení na proteiny c-MET, EGFR či NF- $\kappa$ B, které mohou v určitém kontextu působit jako onkogeny.

*NDRG1* je nádorový supresor, jehož exprese je snížena u mnoha typů nádorových buněk a tato nižší exprese koreluje s progresí nádoru, nižším stupněm diferencovanosti a vyšším metastatickým potenciálem. Ukazuje se, že expresi *NDRG1* lze regulovat přítomností železa v buňce, tedy, že pokles intracelulárního železa vede ke zvýšení *NDRG1* na úrovni mRNA i proteinu a to HIF-1 dependentním mechanismem, který je závislý na inhibici buněčných enzymů prolylhydroxyláz.

V nedávné době jsme představili koncept chelátorů cílených do mitochondrií, které fungují jako protirakovinné látky a v této práci jsme se zaměřili na zhodnocení efektu mitochondriálně cíleného deferoxaminu (mitoDFO) a deferasiroxu (mitoDFX) na indukci *NDRG1* v MCF7 buňkách rakoviny prsu a tento účinek jsme porovnali s nemaligními fibroblasty MRC5. Naše výsledky ukazují, že indukce *NDRG1* nekoreluje s cytostatickou a cytotoxickou aktivitou daného chelátoru. Dále jsme zhodnotili efekt testovaných chelátorů na vybrané signálních dráhy (EGFR, NF- $\kappa$ B a c-MET), které jsou ovlivněny *NDRG1*, a zjistili jsme, že hladina jaderného proteinu p-NF $\kappa$ B Ser<sup>536</sup> byla snížena v MCF7 buňkách, zatímco v MRC5 fibroblastech došlo k poklesu EGFR a c-MET. Ve snaze lépe porozumět roli *NDRG1* v nádorových buňkách jsme zkonstruovali MCF7 *NDRG1* knockout klony a ukázali, že delece genu *NDRG1* změnila fenotyp MCF7 buněk, nicméně nezměnila odpověď na působení testovaných chelátorů. Nakonec jsme zjistili, že mitochondriálně cílené chelátory zvýšily procento pozitivních buněk na kalretikulin, což by mohlo ukazovat na možnost navození imunogenní buněčné smrti. V souhrnu můžeme říci, že indukce *NDRG1* po působení chelátorů na buňky MCF7 není klíčovým mechanismem, který by ovlivňoval účinnost těchto chelátorů a spíše může reflektovat jejich schopnost vytvářet „pseudohypoxii“ pomocí nedostatku železa.

Klíčová slova: *NDRG1*, MCF7, MRC5, železo, chelátory železa, signální dráhy, knockout