

---

# SOUHRN

---

Železo patří mezi stopové prvky a jeho role je u člověka nezastupitelná. V těle dospělého člověka může být přítomno až 5 g železa jako součást nejrůznějších sloučenin. Ionty železa jsou tedy esenciální pro veškeré buňky našeho těla a jejich homeostáza tak musí být důsledně kontrolována.

Železo vstupuje do organismu přes enterocytární buňky tenkého střeva, kde je absorbováno jak v hemové tak nehemové formě. Nehemové železo je přijímáno pomocí molekul Dcytb (duodenal cytochrome b), DMT1 (divalent metal transporter 1), ferroportin, hephaestin a ceruloplasmin. Ačkoli se tyto molekuly mohou podílet i na transportu netransferrinového železa přes plasmatickou membránu v rámci celého organismu, mechanismy tohoto transportu nejsou stále plně prozkoumány.

Cílem předložené práce bylo přispět k pochopení molekulárních mechanismů, které se podílejí na transportu netransferinového železa přes plasmatickou membránu v savčích buňkách. Náš projekt byl zaměřen na popis transportu netransferinového železa v lidských buňkách *in vitro* a *in vivo* při nedostatku nebo přetížení železem. Jako experimentální modely jsme použili transformované buněčné linie reprezentujících tři základní typy buněk homeostázy železa a vzorky tkání z duodenálních biopsií.

Expresi DMT1, Dcytb, ferroportinu, hephaestinu and ceruloplasminu jsme testovali v lidských buněčných liniích Caco-2 (kolorektální karcinom), K562 (erytroleukemie) a HEP-G2 (hepatocelulární karcinom). Buněčná linie Caco-2 reprezentuje intestinální buňky zodpovědné za absorpci železa, linie K562 představuje erythroidní, železo-využívající buňky, a linie HEP-G2 je modelem hepatocytů s vysokou schopností železo skladovat. Expresi daných molekul jsme dále testovali ve vzorcích duodenální tkáně pacientů s anemií v důsledku nedostatku železa (IDA, iron deficiency anemia), hereditární hemochromatózou (HHC), alkoholovým jaterním postižením (ALD, alcohol liver disease) a u zdravých kontrol. Míru exprese jsme testovali jak na úrovni mRNA, tak na úrovni proteinů. Ve vzorcích pacientů jsme dále stanovovali hladinu mRNA pro HFE (gen pro hemochromatózu) a TfR1 (transferinový receptor 1) a hladinu sérového hepcidinu.

V rámci *in vitro* experimentů jsme ukázali, že rozdílná dostupnost železa ovlivňuje expresi testovaných molekul v závislosti na buněčném typu. U buněk Caco-2 jsme detekovali změny, které korespondují s předpokládaným mechanismem regulace transportu železa na buněčné úrovni pomocí IRP/IRE interakcí. Za podmínek nedostatku železa jsme zjistili zvýšený příjem železa buňkami K562. Ačkoli byl zvýšený příjem železa závislý na proteosyntéze, nezaznamenali jsme žádné změny v expresi testovaných molekul na úrovni proteinu. Předpokládáme tedy účast dalších zatím neidentifikovaných molekul podílejících se na transportu netransferinového železa do těchto buněk.

Ve studiích *in vivo* jsme zaznamenali snížené hladiny sérového hepcidinu oproti kontrole u všech testovaných skupin pacientů. Nicméně, pouze v případě pacientů s ALD se jednalo o změnu signifikantní. Vliv hepcidinu na testované molekuly transportu železa u našich pacientů jsme však nepotvrdily. Na úrovni mRNA jsme sice zjistili zvýšení exprese DMT1, ferroportinu a TfR1, ale tyto změny nebyly potvrzeny na úrovni proteinu. Důvodem mohou být relativně malé soubory pacientů přispívající k vysoké heterogenitě výsledků. Přesto, určité pozitivní korelace mezi mRNA hladinou Dcytb, hephaestinu, DMT1, ferroportinu a TfR1 u všech skupin pacientů nasvědčují koordinované regulaci těchto genů.

V rámci naší studie jsme přispěli k porozumění regulačních mechanismů vstupu železa do organismu prostřednictvím duodenálních enterocytů pomocí *in vitro* i *in vivo* experimentů. Aktivní transport netransferrinového železa jsme prokázali i v případě neenterocytárních buněk, avšak velmi pravděpodobně za účasti i jiných suspektních molekul.