Abstrakt česky

Látky cílené na mitochondriální elektron transportní řetězec (ETC) vykazují dobrý potenciál v protinádorové terapii, ale molekulární podstata jejich specificity stále není zcela objasněná. S přihlédnutím k tomu, že většina somatických buněk je v klidovém neproliferujícím stavu a je vůči těmto látkám inertní, změny mitochondriálního metabolismu spojené se vstupem do klidového stavu by mohli objasnit resistenci. Z tohoto důvodu jsme v předložené práci analyzovali stav ETC spolu s hlavními důsledky jeho inhibice jako je zvýšená produkce reaktivních kyslíkatých radikálů (ROS) a snížená produkce ATP na pozadí indukce programované buněčné smrt v modelech nádoru prsu a v proliferujících a klidových netransformovaných buňkách.

V první řadě jsme charakterizovali efekt nově vyvinuté protirakovinné látky, mitochondriálně cíleného tamoxifenu (MitoTam), *in vitro* a *in vivo* v modelech nádoru prsu s rozdílnou expresí onkogenu Her2. Ukázali jsme, že podstatou protinádorového účinku látky MitoTAM je efektivní inhibice respiračního komplexu I provázená vysokou mírou produkce ROS a to zejména v nádorech se zvýšenou hladinou Her2, které vykazují vyšší míru uspořádanosti ETC do superkomplexů spojenou s vyšší mírou respirace. Tyto výsledky naznačily, že nádory s vyšší mitochondriální respirací jsou citlivější k eliminaci inhibitory ETC v důsledku zvýšené produkce ROS a následném rozpadu vyšších respiračních struktur.

Dále jsme zjišťovali, zda bioenergetické rozdíly mezi proliferujícími a klidovými buňkami, které reprezentují nádorové, respektive somatické buňky, mohou vysvětlit specificitu látek cílených na ETC. Endoteliální (EA.hy926) a epiteliální (MCF10A) buněčné linie byly vystaveny činidlům působících oxidační stres nezávisle na ETC, inhibitorům ETC či inhibitorům mitochondriální produkce ATP. Jedním z testovaných parametrů byla dostupnost glukózy v médiu. Koncentrace 4.5 g/L představovala dostatek a 1 g/L nedostatek tohoto sacharidu. Význam ETC ve studovaném jevu jsme ověřili na linii zbavené mtDNA s defektním ETC. Sledovali důležité metabolické parametry spojené s bioenergetikou, zejména buněčnou respiraci, antioxidační ochranu, ale též úroveň glykolýzy a syntézy ATP. Výsledky jsme poté ověřili na modelu FVB/c-neu myšího spontánního nádoru prsu.

Překvapivě jsme zjistili, že navzdory zvýšené míře uspořádanosti ETC a respirace v klidových buňkách, tyto buňky byly v případě dostatku glukózy méně citlivé k buněčné smrti indukované všemi testovanými látkami, což bylo provázeno nižší produkcí ROS. Klidové buňky měly zvýšenou proteinovou i aktivitní úroveň antioxidační ochrany (SOD2, TRX2, PRX3 a GPX) a genové utlumení SOD2 a TRX2 bylo provázeno zvýšenou mírou buněčné smrti specificky v klidových buňkách. Tyto výsledky naznačují, že zvýšená schopnost detoxifikovat ROS určuje citlivost klidových buněk k inhibici ETC v situaci, kdy glukóza není limitující. Oproti tomu nedostatek glukózy signifikantně zvýšil citlivost klidových buněk vůči inhibitorům ETC a mitochondriální syntézy ATP, zatímco citlivost vůči induktorům ROS nezávislým na ETC zůstala nezměněna. V případě inhibitorů ETC a ATP syntézy jsme zaznamenali souvislost s letálním úbytkem ATP, což bylo umocněno neschopností klidových buněk zvýšit příjem glukózy a doplnit tak ztrátu ATP v glykolýze. Pokusy s buňkami deficientním na ETC ukázaly, že funkční ETC doplňuje ochrannou úlohu antioxidantů v klidových buňkách. Tento zajímavý aspekt bude dále detailněji prošetřen v navazujícím projektu.

Závěrem naše data naznačují, že inhibice ETC s následným vyčerpáním ATP je spouštěcím faktorem buněčné smrti v situaci nedostatečné glukózy, zatímco ROS indukované blokádou ETC iniciují buněčnou smrt, když je glukóza v dostatku. Kombinace antioxidační ochrany a dostupnosti glukózy proto spolu-určuje molekulární specificitu buněčné smrti vyvolané inhibicí ETC. V důsledku toto vysvětluje, jak inhibice ETC může účinně zamezit rakovinné proliferaci bez významného vedlejšího poškození normální tkáně.