

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO - TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Klára Umová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko - technologická

Feroptóza
Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Ferroptosis
Bachelor Thesis

2025

Klára Umová

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Klára Umová
Osobní číslo: C22262
Studijní program: B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví
Téma práce: Ferroptóza
Téma práce anglicky: Ferroptosis
Zadávající katedra: Katedra biologických a biochemických věd

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši, ve které bude popsána Ferroptóza, jakožto typ buněčné smrti.
2. V hlavní části práce zevrubně popište proces ferroptózy, definujte proces ferroptózy, popište především molekulární mechanismy a srovnajte ferroptózu s ostatními typy buněčné smrti. Dále se věnujte popisu regulace ferroptózy, roli antioxidantů (Glutathion, aj.) v procesu ferroptózy či jejího vztahu k maligní transformaci. V poslední části bakalářské práce popište potenciální terapeutické využití ferroptózy.
3. Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Informace přehledně zpracujte podle pokynů a doporučení školitele.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jan Čapek, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Štěpánka Jelínková**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: 20. prosince 2024
Termín odevzdání bakalářské práce: 1. července 2025

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Ferroptóza jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20.6. 2025

Klára Umová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala Mgr. Janu Čapkovi, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, cenné rady, trpělivost a podporu, kterou mi poskytoval po celou dobu zpracovávání tématu. Jeho vstřícnost, ochota konzultovat jakékoli nejasnosti a schopnost motivovat měly zásadní vliv na dokončení této práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá procesem ferroptózy, specifickým typem programované buněčné smrti, který je závislý na železu a charakterizovaný hromaděním lipidových peroxidů. Cílem práce je shrnout současné poznatky o mechanismech ferroptózy, včetně klíčových molekulárních drah, regulačních faktorů a buněčných komponent, které tento proces ovlivňují. Pozornost je věnována také roli ferroptózy v patogenezi různých onemocnění, zejména rakoviny, neurodegenerativních chorob a ischemicko-reperfuzního poškození. Součástí práce je rovněž přehled potenciálních terapeutických přístupů cílených na indukci nebo inhibici ferroptózy. Práce vychází z aktuálních vědeckých studií a diskutuje možné směry budoucího výzkumu v této oblasti.

KLÍČOVÁ SLOVA

Ferroptóza, lipidová peroxidace, železo, rakovina, molekulární mechanismy

TITLE

Ferroptosis

ANNOTATION

This bachelor's thesis focuses on ferroptosis, a specific form of programmed cell death that is iron-dependent and characterized by the accumulation of lipid peroxides. The aim of the thesis is to summarize current knowledge on the mechanisms of ferroptosis, including key molecular pathways, regulatory factors, and cellular components involved in this process. Special attention is given to the role of ferroptosis in the pathogenesis of various diseases, particularly cancer, neurodegenerative disorders, and ischemia-reperfusion injury. The thesis also provides an overview of potential therapeutic strategies aimed at inducing or inhibiting ferroptosis. The work is based on recent scientific studies and discusses possible directions for future research in this field.

KEYWORDS

Ferroptosis, lipid peroxidation, iron, cancer, molecular mechanisms

OBSAH

| | |
|---|----|
| SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK | 11 |
| SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK..... | 12 |
| 1. ÚVOD | 14 |
| 2. BUNĚČNÁ SMRT..... | 18 |
| 2.1 Typy buněčné smrti..... | 18 |
| 2.1.1 Apoptóza | 18 |
| 2.1.2 Nekróza | 18 |
| 2.1.3 Nekroptóza | 19 |
| 2.1.4 Pyroptóza..... | 19 |
| 2.1.5 Autofagie..... | 19 |
| 2.1.6 Anoikis | 20 |
| 2.1.7 Lysozomální buněčná smrt..... | 20 |
| 2.1.8 Excitotoxicita | 21 |
| 2.1.9 Kornifikace..... | 21 |
| 2.1.10 Entóza | 23 |
| 2.1.11 Mitotická katastrofa..... | 24 |
| 3. FERROPTÓZA | 25 |
| 3.1 Historie objevu ferroptózy | 25 |
| 3.2 Základní charakteristika | 25 |
| 3.3 Molekulární mechanismy ferroptózy | 26 |
| 3.3.1 Metabolismus železa | 26 |
| 3.3.2 Metabolismus cysteinu..... | 27 |
| 3.3.3 Inaktivace GPX4 | 28 |
| 3.3.4 Letalita ferroptických sloučenin v rakovinných buněčných liniích | 28 |
| 3.3.5 Glutaminolýza | 29 |
| 3.3.6 PUFA a buněčné železo | 29 |
| 3.3.7 Induktory ferroptózy s malou molekulou (nízkomolekulární sloučenina)..... | 30 |
| 3.3.8 Lipidová peroxidace | 30 |
| 3.4 Porovnání ferroptózy s dalšími formami buněčné smrti | 31 |
| 4. REGULACE FERROPTÓZY | 33 |
| 4.1 Role organel zapojených do regulace ferroptózy | 33 |
| 4.1.1 Úloha mitochondrií v regulaci ferroptózy | 33 |
| 4.1.2 Úloha lysozomů ve ferroptóze | 33 |
| 4.1.3 Úloha endoplazmatického retikula ve ferroptóze..... | 33 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.2 | Antioxidanty a obranné mechanismy | 33 |
| 4.2.1 | Role glutathionu | 33 |
| 4.2.2 | Role GPX4 | 34 |
| 4.2.3 | Systém xc- | 35 |
| 4.3 | Oxidační stres | 36 |
| 4.4 | Regulace ferroptózy na molekulární úrovni | 37 |
| 4.4.1 | NRF 2 | 37 |
| 4.4.2 | P53 | 38 |
| 4.4.3 | Heme oxygenáza | 38 |
| 4.4.4 | FANCD2 | 38 |
| 5. | FERROPTÓZA V PATOLOGICKÝCH STAVECH | 38 |
| 5.1 | Ferroptóza v procesu kancerogeneze | 39 |
| 5.2 | Ferroptóza v buňkách rakoviny prsu | 39 |
| 5.3 | Ferroptóza v buňkách pankreatického karcinomu | 40 |
| 5.4 | Ferroptóza v lymphomech a renálních rakovinách | 41 |
| 5.5 | Ferroptóza v mozkových nádorech | 41 |
| 5.6 | Ferroptóza v kancerogenezi vaječníků | 42 |
| 5.7 | Role ferroptózy v hepatocelulárním karcinomu | 42 |
| 5.8 | Ferroptóza v rakovině plic | 43 |
| 5.9 | Ferroptóza jako strategie k překonání lékové rezistence u rakoviny | 43 |
| 5.10 | Ferroptóza a neurodegenerativní onemocnění | 44 |
| 5.11 | Ferroptóza v Parkinsonově nemoci | 45 |
| 5.12 | Ferroptóza v Huntingtonově chorobě | 46 |
| 5.13 | Ferroptóza v Alzheimerově chorobě | 46 |
| 5.14 | Ferroptóza v ischemických a reperfučních zraněních | 47 |
| 6. | ZÁVĚR | 48 |
| 7. | POUŽITÁ LITERATURA | 49 |

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

| | |
|---|----|
| Obrázek 1: Tři hlavní stádia apoptózy..... | 18 |
| Obrázek 2: Nekróza vs. Apoptóza..... | 18 |
| Obrázek 3: Proces autofagie..... | 20 |
| Obrázek 4: Kornifikace.. | 22 |
| Obrázek 5: Entóza-tvorba buněk v buňkách. . | 23 |
| | |
| Tabulka 1: Přehled typu buněčných smrtí..... | 18 |
| Tabulka 2: Přehled sloučenin, které vyvolávají ferroptózu..... | 30 |
| Tabulka 3: Regulátory ferroptózy v rakovinných buňkách..... | 37 |
| Tabulka 4: Ferroptóza a její vliv na neurologické poruchy | 45 |

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

| | |
|--------------|--|
| ART | artesunát (<i>Artesunate</i>) |
| ATP | adenosintrifosfát (<i>Adenosin Tryphosphate</i>) |
| Bak | apoptický protein (<i>Bcl-2 Homologous Killer</i>) |
| Bax | apoptický protein (<i>Bcl-2 Associated X Protein</i>) |
| Bcl-2 | B-buněčný lymfom 2 (<i>B-cell Lymphoma 2</i>) |
| ECM | extracelulární matrix (<i>Extracellular Matrix</i>) |
| ER | endoplazmatické retikulum (<i>Endoplasmatic reticulum</i>) |
| FANCD2 | Protein skupiny D2 Fanconioho anémie (<i>Fanconi Anemia Group D2 Protein</i>) |
| FasL | fas ligandový protein (<i>Fas Ligand</i>) |
| FINO2 | oxidant vyvolávající ferroptózu (<i>Ferroptosis-Inducing Oxidant 2</i>) |
| FTH1 | těžký řetězec ferritinu (<i>Ferritin Heavy Chain 1</i>) |
| GCL | glutamát cystein ligáza (<i>Glutamate-Cysteine Ligase</i>) |
| GCLC | Katalytická podjednotka glutamát-cystein ligázy (<i>Glutamate-Cysteine Ligase Catalytic Subunit</i>) |
| GCLM | Modifikační podjednotka glutamát-cystein ligázy (<i>Glutamate-Cysteine Ligase Modifier Subunit</i>) |
| GSSG | glutathion disulfid |
| GLUD1 | glutamát dehydrogenáza 1 (<i>Glutamate Dehydrogenase 1</i>) |
| GOT1 | glutamino-oxaloacetátová transamináza 1 (<i>Glutamic-oxalacetic Transaminase 1</i>) |
| GPX4 | glutathion peroxidáza 4 (<i>Glutathione Peroxidase 4</i>) |
| GSH | glutathion (<i>Glutathione</i>) |
| HO-1 | heme-oxygenáza 1 (<i>Hemeoxygenase 1</i>) |
| IL-1 β | interleukin 1 β |
| IRP 1 | regulační protein železa 1 (<i>Iron Regulatory Protein 1</i>) |
| IRP 2 | regulační protein železa 2 (<i>Iron Regulatory Protein 2</i>) |
| KEAP1 | cytoplazmatický inhibitor protein 1 (<i>Kelch-like ECH-Associated Protein 1</i>) |
| K-Ras | Homolog virového onkogenu Kirstenova potkaního sarkomu (<i>Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog</i>) |
| LAMP1 | lyzozomální protein membrány 1 (<i>Lysosomal Associated Membrane Protein 1</i>) |
| MT-1G | metallothionein-1G |
| MLKL | kinázová doména se smíšenou linií (<i>Mixed Lineage Kinase Domain-Like</i>) |

| | | |
|---------------|---|--|
| NADH | nikotinamid-adenin-dinukleotid-hydrid | <i>(Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide)</i> |
| NMDA | N-methyl-D-asparat | |
| NRF1 | jaderný respirační faktor | <i>(Nuclear Respiratory Factor 1)</i> |
| NRF2 | jaderný faktor erytroidů | <i>(Nuclear Factor Erythroid 2)</i> |
| PDAC | pankreatický duktální adenokarcinom | <i>(Pancreatic Ductal Adenokarcinoma)</i> |
| p53 | protein 53 | |
| PUFA | polynenasycené mastné kyseliny | <i>(Polynusaturated Fatty Acid)</i> |
| RAS | protoonkogen vázající guanintrifosfát | <i>(Rat Sarcoma)</i> |
| RIPK1 | receptor interagující se serin-threonin kinázou 1 | <i>(Receptor Interacting Serin-Threonine Protein Kinase 1)</i> |
| RIPK3 | receptor interagující se serin threonin kinázou 3 | <i>(Receptor Interacting Serin-Threonine Protein Kinase 3)</i> |
| ROS | reaktivní sloučeniny kyslíku | <i>(Reactive Oxygen Species)</i> |
| RSL3 | selektivní letální sloučenina 3 | <i>(Ras – Selective Lethal Compound 3)</i> |
| SAS | sulfasalazin | <i>(Sulfasalazine)</i> |
| TCA17 | cyklický asociovaný protein 17 | <i>(Cycle-Associated Protein 17)</i> |
| TFR1 | transferinový receptor 1 | <i>(Transfferin Receptor 1)</i> |
| TNF- α | tumor nekrotizující faktor α | <i>(Tumor Necrosis Factor α)</i> |
| VDAC2 | aniontový kanál závislý na napětí | <i>(Voltage Dependent Anion Channel 2)</i> |
| α KG | α -ketoglutarát | <i>(α-ketoglutarate)</i> |

1. ÚVOD

Programovaná buněčná smrt je nedílnou součástí fyziologických i patologických procesů v lidském organismu. Mezi nejznámější typy buněčné smrti patří apoptóza, nekróza a autofagie. V posledních letech se do popředí vědeckého zájmu dostal nový typ programované buněčné smrti zvaný ferroptóza, která byla poprvé popsána v roce 2012 ve studii nazvané: Na železe závislá forma neapoptické buněčné smrti. Tento proces je unikátní tím, že je závislý na železu a doprovázen akumulací lipidových peroxidů, které vedou k poškození buněčných membrán a následné buněčné smrti. Ferroptóza představuje specifický mechanismus odlišný od ostatních forem buněčné smrti, jak morfologicky, tak biochemicky. Její spuštění je úzce spojeno s poruchou antioxidantní obrany, zejména se sníženou aktivitou enzymu glutathionperoxidázy 4 a s hromaděním reaktivních forem železa. Tyto vlastnosti činí ferroptózu významným předmětem výzkumu v oblasti onemocnění spojených s oxidačním stresem, například v kontextu nádorových onemocnění, neurodegenerativních chorob (např. Alzheimerovy nebo Parkinsonovy nemoci) či ischemicko-reperfuzního poškození. Vzhledem k tomu, že indukce nebo naopak inhibice ferroptózy může potenciálně ovlivnit průběh mnoha závažných onemocnění, stává se tento proces slibným cílem pro vývoj nových terapeutických strategií. Zároveň však zůstává řada otázek ohledně jeho přesné regulace a biologického významu. Cílem této bakalářské práce je poskytnout ucelený přehled o současných poznatcích týkajících se ferroptózy, jejích klíčových molekulárních mechanismů a regulace, dále popsat její úlohu ve vybraných patologických stavech a nastínit možnosti terapeutického využití tohoto procesu. Práce vychází z aktuálních vědeckých poznatků.

2. BUNĚČNÁ SMRT

Buněčná smrt je základním biologickým procesem, který zajišťuje rovnováhu mezi tvorbou nových buněk a eliminací poškozených nebo infikovaných buněk. Buněčná smrt se vyskytuje v celé živočišné říši. U obratlovců byla pozorována téměř ve všech tkáních. U člověka je každou sekundu vytvořeno asi sto tisíc buněk a podobný počet buněk umírá v rámci fyziologického procesu apoptózy [1,2].

Existují dva hlavní typy buněčné smrti: apoptóza a nekróza. Apoptóza je programovaná buněčná smrt, jedná se o fyziologický proces, který probíhá kontrolovaně a je klíčový pro vývoj organismu, imunitní reakce a prevenci nekontrolovaného množení buněk, jako je tomu například u rakoviny. Tento proces je charakterizován specifickými morfologickými změnami, jako je zmenšení buněčného objemu, kondenzace chromatinu a tvorba apoptických tělísek. Nekróza je neřízený proces, kdy se jedná o nenávratné poškození buněčné membrány. Vzniká například při zánětu nebo ischemii a je spojen s uvolněním obsahu buňky do okolí, což může vyvolat zánětlivou odpověď [1,2].

Dalšími typy buněčné smrti, které byly v posledních letech objeveny a popsány jsou: nekroptóza, pyroptóza, autofagie, ferroptóza, anoikis, lysosomální buněčná smrt, excitotoxicita, kornifikace, entóza a mitotická katastrofa. Liší se především mechanismem, regulací a důsledky pro okolní tkáň (viz tabulka 1). Studium těchto procesů je zásadní pro pochopení základních biologických mechanismů a vývoj nových terapeutických přístupů.

Tabulka 1: Přehled typu buněčných smrtí. Převzato a upraveno z [4,7,8,9,10,11,13,15,17,20,22].

| Typ buněčné smrti | Popis | Hlavní rozdíly |
|-------------------|---|--|
| Apoptóza | Programovaná buněčná smrt, která je geneticky řízena. Dochází k ní při stresu nebo při poškození buňky. | Aktivní proces, buňky se scvrkávají a fragmentují na apoptická tělíška, nezpůsobuje zánět-buňky jsou odstraněny makrofágy. |
| Nekróza | Neřízená buněčná smrt způsobená extrémním poškozením buňky. | Pasivní proces, buňky se zvětšují a praskají, vede k zánětu. |
| Autofagie | Buňky „sežerou“ své vlastní poškozené nebo nepotřebné komponenty, aby přežily stresové podmínky. | Ne vždy vede k buněčné smrti, může být mechanismem přežití, buňky se zbavují nepotřebných částí, může být aktivovaná v reakci na nedostatek živin. |

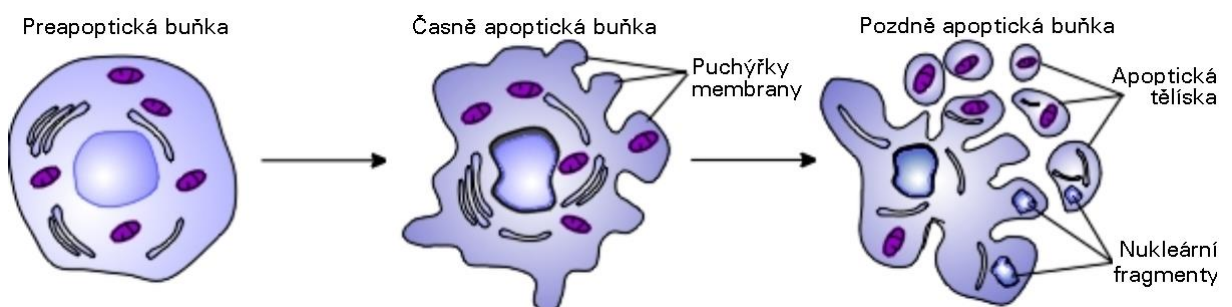
| | | |
|--------------------------|---|--|
| Pyroptóza | Inflammatorní forma buněčné smrti spojená s aktivací specifických kaspáz a zánětlivých signálů. | Aktivována infekcí nebo poškozením, vyvolává zánět a poškození okolních tkání. |
| Ferroptóza | Typ buněčné smrti závislé na železe charakterizované akumulací peroxidových lipidů. | Aktivována nerovnováhou železa a peroxidací lipidů, dochází k poškození membrán buněk. |
| Nekroptóza | Programovaná forma nekrotické buněčné smrti řízena specifickými signálními dráhami. | Aktivována zánětlivými signály (tumor necrosis faktor), buňky se zvětšují, ale proces je řízený, provází ji zánět, ale na rozdíl od nekrózy je řízena geneticky. |
| Anoikis | Typ buněčné smrti spojený s odloučením buňky od extracelulární matrix (ECM). | Buňky, které nemají správné spojení s ECM podstupují anoikis, často se vyskytuje u rakovinných buněk, které ztrácejí schopnost připojit se k ECM. |
| Lysosomální buněčná smrt | Smrt buňky způsobená uvolněním lysosomálních enzymů, které degradují intracelulární komponenty. | Aktivováno oxidačním stresem nebo hromaděním škodlivých metabolitů, zahrnuje degradaci buněčných struktur pomocí lysosomálních enzymů. |
| Excitotoxicita | Nadměrné působení excitačních aminokyselin, které vedou k nadměrnému vstupu vápníku do buňky a následné buněčné smrti. | Primárně postihuje neurony, zvyšuje se extracelulární vápník, poškozují se mitochondrie a mění se celková buněčná struktura. |
| Kornifikace | Proces diferenciací keratinocytů v epidermis. Zahrnuje zesíťování proteinů transglutaminací a lipidy vyplňujícími mezibuněčné prostory. | Programovaná buněčná smrt, buňky ztrácejí organely, vytváří zrohovatělý obal, keratinová vlákna se shromažďují v cytoplazmě. |
| Entóza | Proces, kdy buňky internalizují do sousedních buněk a tvoří struktury „buňka v buňce“. | Morfologické změny spojené s lysosomálním poškozením, acidifikace cytosolu. |
| Mitotická katastrofa | Buněčná smrt nastávající během nebo po mitóze v důsledku selhání regulace kontrolních bodů buněčného cyklu, což vede k abnormální segregaci chromozomů. | Může vést k chromozomální nestabilitě, tvorbě mikrojader nebo mnohojaderosti, permeabilizaci mitochondrií a acidifikaci cytosolu. |

2.1 Typy buněčné smrti

2.1.1 Apoptóza

Apoptóza je typ programované buněčné smrti, který hraje důležitou roli v raném vývoji a růstu dospělých tkání. Probíhá kontrolovaně, bez zánětlivé odpovědi a je klíčová pro udržení homeostázy. Na rozdíl od nekrózy se jedná o fyziologický proces buněčné smrti. Během apoptózy se buňky nejprve smršťují a jejich jádra kondenzují a poté se rozpadají na dobře uzavřená apoptická tělíska, které jsou vyčištěny fagocytózou, aniž by vyvolaly zánětlivou reakci. Klíčovými efektorovými složkami apoptózy jsou kaspázy, skupina intracelulárních cysteinových proteáz, které štěpí své substráty na zbytcích kyseliny asparagové. Existuje asi dvanáct savčích kaspáz, které existují v buňkách jako neaktivní zymogeny. Jakmile jsou kaspázy aktivovány štěpí velké množství proteinů v buňce, což způsobuje její zánik a vede k morfologickým změnám apoptózy [3,4].

Apoptóza je řízena dvěma hlavními cestami: vnitřní (mitochondriální) a vnější (receptorovou) signální dráhou. Ve vnitřní dráze je klíčovým faktorem propustnost mitochondriální membrány, kterou regulují proteiny, které působí proti apoptóze (*Bcl-2*, *B-cell lymphoma*). Proapoptické proteiny, jakou jsou *Bax* (*Bcl-2 associated X protein*) a *Bak* (*Bcl-2 homologous killer*), zvyšují propustnost membrány, což umožňuje uvolnění cytochromu *c*. Cytochrom *c* následně aktivuje kaspázu-9, která spouští kaskádu efektorových kaspáz, například kaspázy-3. Naopak vnější dráha začíná vazbou specifických ligandů, jako jsou Fas ligandy (*FasL*, *fas ligand*) nebo tumor nekrotizující faktor alfa (*TNF- α* , *tumor necrosis factor*) na receptory smrti, což vede k aktivaci kaspázy-8 [3,4].

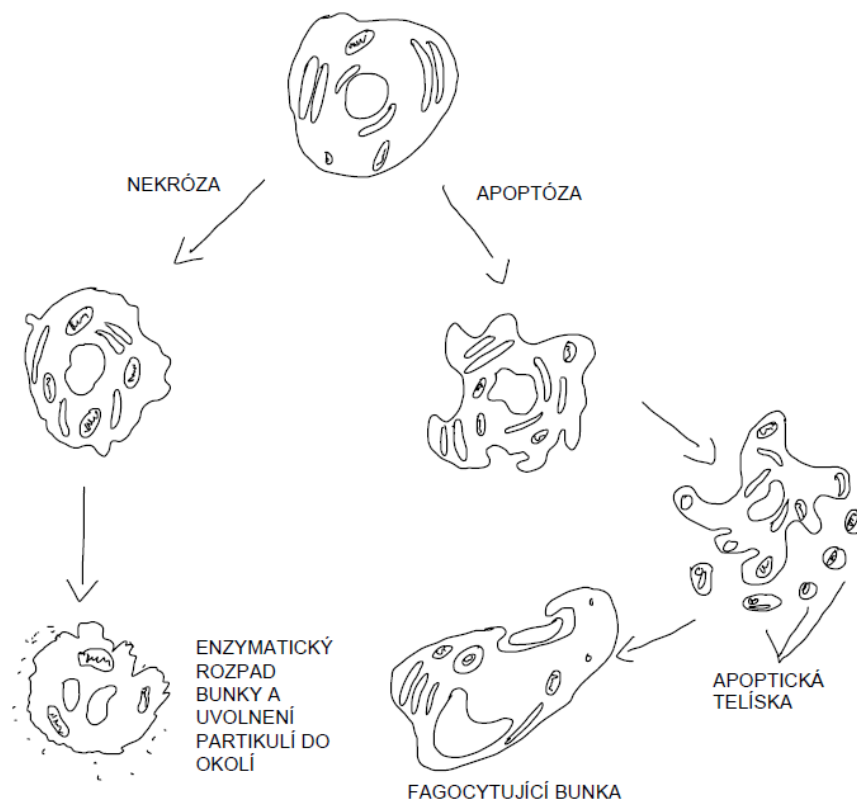


Obrázek 1: Tři hlavní stádia apoptózy. Převzato a upraveno z [5].

2.1.2 Nekróza

Nekróza je neprogramovaná buněčná smrt způsobená akutním nevratným poškozením, například ischemickým nebo toxickým, a často vyvolává zánět kvůli uvolnění buněčného obsahu do okolí. Má výrazné morfologické rysy a je doprovázena rychlou permeabilizací plazmatické membrány. Morfologicky je nekróza zcela odlišná od klasické apoptózy. Během procesu nekrózy buňky nejprve nabobtnají a poté plazmatická membrána zkolabuje a buňky jsou rychle lyzovány [6].

Bylo zjištěno, že výskyt a průběh nekrózy mohou být ve skutečnosti regulovány. Po poškození nebo signálních podnětech může nekróza zahrnovat některé kontrolované procesy, jako je dysfunkce mitochondrií, zvýšená tvorba reaktivních kyslíkových druhů, pokles hladiny adenosintrifosfátu (ATP), proteolýza kapaliny a časné prasknutí plazmatické membrány. Navíc inhibice specifických proteinů, které regulují apoptózu nebo autofagii, může vést k tomu, že buněčná smrt přechází na nekrózu. Vzhledem k tomu, že nekróza je přítomná například při ischemii, traumatech a možná i některých formách neurodegenerace, hlubší biochemické porozumění a jasná molekulární definice tohoto procesu mohou mít důležité klinické důsledky [7,8].



Obrázek 3: Nekróza vs. Apoptóza. Převzato a upraveno z [9].

2.1.3 Nekroptóza

Nekroptóza je forma nekrózy, která však probíhá regulovaným způsobem za účasti specifických signálních drah, jako je aktivace serin-threonin kinázy receptorem interagujícím se serin – threonin kinázou 1 (RIPK 1, *receptor interacting serin-threonine protein kinase 1*) která aktivuje receptor interagující se serin – threonin kinázou 3 (RIPK3 *receptor interacting serin-threonine protein kinase 3*) a aktivace kinázového proteinu se smíšenou linií (MLKL, *mixed lineage kinase domain-like*). Obecně se nekroptóza projevuje morfologickými rysy nekrózy. Umírající buňka praskne a uvolní intracelulární složky, které mohou vyvolat vrozenou imunitní odpověď. Nekroptóza může být vyvolána extracelulárními podněty, o kterých je známo, že aktivují zánět a buněčnou smrt [10].

Bylo prokázáno, na savčích modelech, že inhibice nekroptózy zmírňuje patologii mnoha onemocnění zahrnujících buněčnou smrt a zánět, jako je akutní ischemioperfuzní poškození mozku, srdce, sítnice a ledvin, traumatické poranění mozku, věkem podmíněná makulární degenerace, ateroskleróza a zánětlivé onemocnění střev. Inhibice nekroptózy může být přínosem pro léčbu mnoha lidských onemocnění zahrnujících zánět a buněčnou smrt [10,11].

2.1.4 Pyroptóza

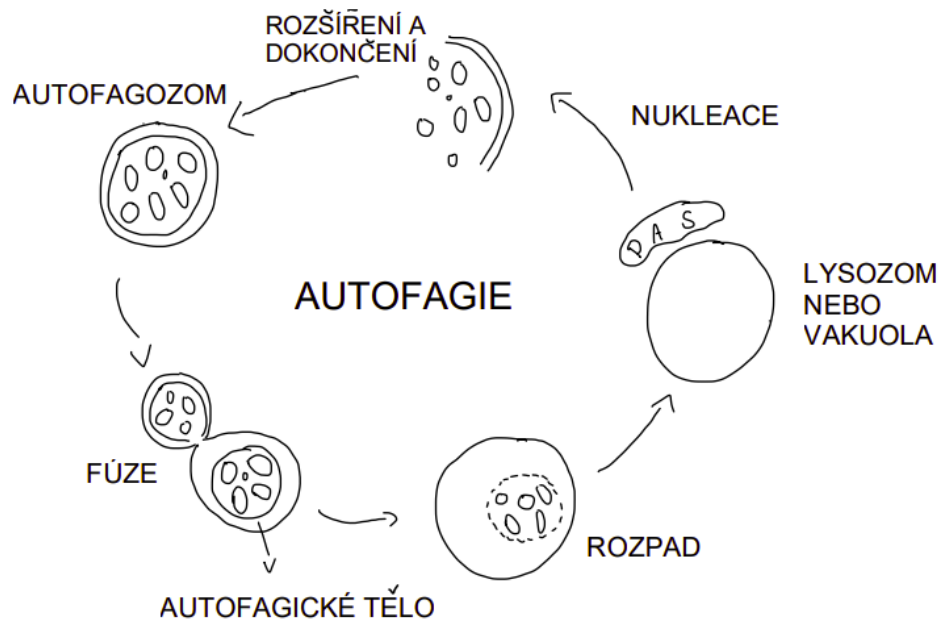
Pyroptóza je zánětlivá forma regulované buněčné smrti spojená s aktivací zánětlivých proteáz, které patří do skupiny asparátově specifických proteáz závislých na cysteinu, a uvolněním protizánětlivých cytokinů, například IL-1 β (interleukin). Pyroptóza byla zaznamenána především u fagocytů myeloidní linie, jako jsou makrofágy, dendritické buňky a neutrofilů, i když byla pozorována také u CD4⁺ T buněk, keratinocytů, epitelálních buněk, endotelálních buněk a neuronů. Pravděpodobným důvodem je schopnost těchto buněk produkovat vyšší množství zánětlivých kaspáz, které pyroptózu způsobují [12].

2.1.5 Autofagie

Autofagie je intracelulární degradační systém, který probíhá v několika krocích – zahrnuje izolaci materiálu, jeho transport do lysozomů, následný rozklad a využití vzniklých produktů. Každý z těchto kroků přitom může plnit specifickou úlohu [13].

Při autofagii vzniká v cytosolu dvojmembránový váček nazývaný autofagozom, který zachytí část cytoplazmy nebo cílené buněčné struktury. Autofagozom se následně spojí s lysozomem, čímž se jeho vnitřní váček, tzv. autofagické tělo, uvolní do nitra. Uvnitř lysozomu dochází k rozkladu zachyceného materiálu pomocí enzymů, přičemž vzniklé molekuly jsou recyklovány (viz obrázek 3). Autofagie je obvykle považována za proces bez specifického

zaměření, i když existují případy cílené autofagie, například při odstraňování nadbytečných peroxizomů [14,15].



Obrázek 3: Proces autofagie. Převzato a upraveno z [14].

2.1.6 Anoikis

Anoikis je specifická forma apoptózy, která je vyvolána neadekvátními nebo nevhodnými interakcemi mezi buňkou a extracelulární matricí. Tento proces hraje klíčovou roli v udržování homeostázy tkání, jejich vývoji a regulaci různých onkogenních procesů. Interakce buněk s extracelulární matrix (ECM) je klíčová a je zprostředkována integriny, které přenášejí signály z matrix do nitra buňky. Když jsou tyto interakce poškozené nebo neúplné, spustí se signály vedoucí k apoptóze, čímž se chrání organismus před buněčnými abnormalitami, jako jsou například buňky, které by mohly vést k rakovinnému růstu [16].

Anoikis byla poprvé zdokumentována jak v epiteliálních buňkách, prekuzorech většiny lidských rakovin, tak v endoteliálních buňkách. Bylo prokázáno, že exprese určitých onkogenů činí normální epiteliální buňky rezistentními vůči anoikis. Novější zprávy potvrzují, že rozpad anoikis významně přispívá k malignitě rakoviny mléčné žlázy a tlustého střeva [17].

2.1.7 Lysozomální buněčná smrt

Lysozomy fungují jako buněčné recyklační centrum, obsahující řadu hydroláz, které jsou schopné degradovat většinu buněčných makromolekul a organel. Materiál určený k degradaci vstupuje do lysozomů primárně prostřednictvím endocytózy, autofagie a

fagocytózy a je degradován koordinovaným působením více než 50 lysozomálních hydroláz. Když dojde k permeabilizaci lysozomální membrány a úniku jejího obsahu do cytosolu, nastává proces známý jako lysozomální buněčná smrt. Tato forma buněčné smrti je primárně řízena lysozomálními katepsinovými proteázami a může vykazovat nekrotické, apoptické nebo apoptóze podobné rysy, v závislosti na rozsahu a kontextu buňky [18,19].

Koncept lysozomální buněčné smrti byl poprvé představen Christianem de Duve, který v roce 1974 získal Nobelovu cenu za objev a charakterizaci lysozomů jako buněčných recyklačních nádob. Díky silné hydrolytické kapalině lysozomálních enzymů je de Duve také definoval jako sebevražedné vaky, které mohou způsobit autolýzu buněk a tkání při jejich prasknutí [20].

2.1.8 Excitotoxicita

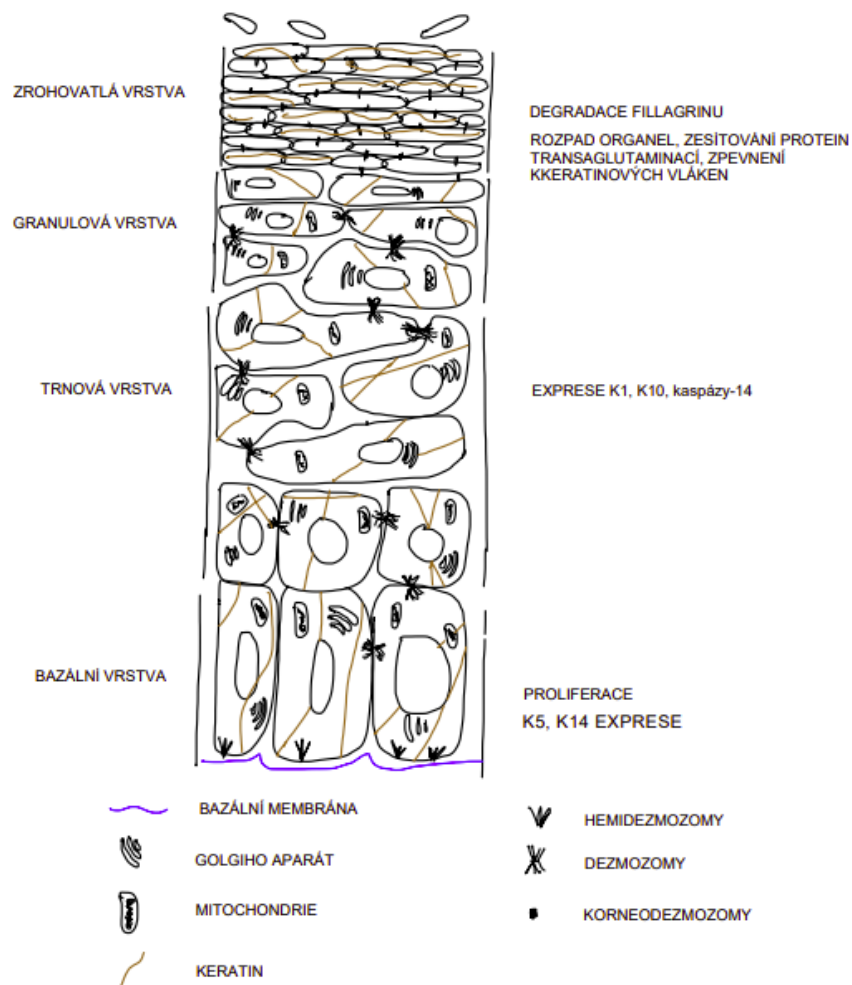
Excitotoxicita je forma buněčné smrti, která se vyskytuje v neuronech, když excitační aminokyseliny, jako je glutamát, vedou k otevření N-methyl-D-asparátového vápníkového kanálu (NMDA, *N-methyl-D-asparat*). To způsobí zvýšení hladiny cytosolického vápníku, což následně vede k buněčné smrti [21].

Excitotoxicita se týká schopnosti glutamátu a dalších excitačních aminokyselin vyvolat smrt centrálních neuronů za určitých podmínek, například při intenzivní expozici. Tento typ neuronální smrti může hrát roli v patogenezi poranění mozku nebo míchy spojených s různými lidskými onemocněními. Excitotoxicita je buněčně specifická a většinou je zprostředkována glutamátovými receptory. Aktivace NMDA receptorů může způsobit rychlejší letální poškození než aktivace α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionátu nebo kainátových receptorů, což může být způsobeno větší schopností těchto receptorů indukovat příliv vápníku a následné přetížení buněk vápníkem. Je možné, že mechanismy excitotoxické smrti se mohou překrývat s mechanismy jiných forem neuronální smrti [21,22].

2.1.9 Kornifikace

Kornifikace je velmi specifická forma programované buněčné smrti, probíhající v epidermis, při níž epidermální keratinocyty podléhají terminální diferenciaci s následnou buněčnou smrtí. Vede k vytvoření zrohovatělého obalu neboli korneocyty, mrtvého keratinocyty obsahujícího amalgám specifických proteinů (např. loricrin, involucrin) a lipidů (např. mastné kyseliny, ceramidy), nezbytných pro funkci zrohovatělého obalu (mechanická odolnost, elasticita, vodoodpudivost, strukturální stabilita). Kornifikace se také méně často nazývá keratinizace nebo tvorba zrohovatělého obalu [23].

Různé geny jsou exprimovány v koordinovaných vlnách, které poskytují strukturální a regulační složky potřebné pro kornifikaci. Intramediární filamenta keratinu, která se spojují s diferenciací tvoří komplexní lešení v cytoplasmě, jež po odstranění buněčných organel vyplňuje celý vnitřek buňky, čímž zajišťuje její mechanickou pevnost. Dále je definovaný soubor proteinů zesíťován transglutaminací na periferii buňky, což vede k vytvoření zrohovatělého obalu. Extracelulární modifikace zahrnují degradaci těsných spojení mezi korneocyty, kterou zajišťují proteázy, což umožňuje odlupování korneocytů deskvamací. Také dochází ke skládání a modifikaci lipidů vylučovaných buňkami, které vyplňují mezibuněčné prostory mezi korneocyty a vytvářejí voděodolnou bariéru. Existují různé důkazy o roli dezintegrace organel, proteáz, nukleáz a transglutamináz, které přispívají k procesu buněčné smrti. Nicméně mnoho mechanických aspektů smrti keratinocytů během tohoto procesu zůstává stále nejasných. Nedávno bylo prokázáno, že keratinocyty aktivují antiapoptické a antinekroptické dráhy, aby zabránily předčasné buněčné smrti během terminální diferenciace [23,24].

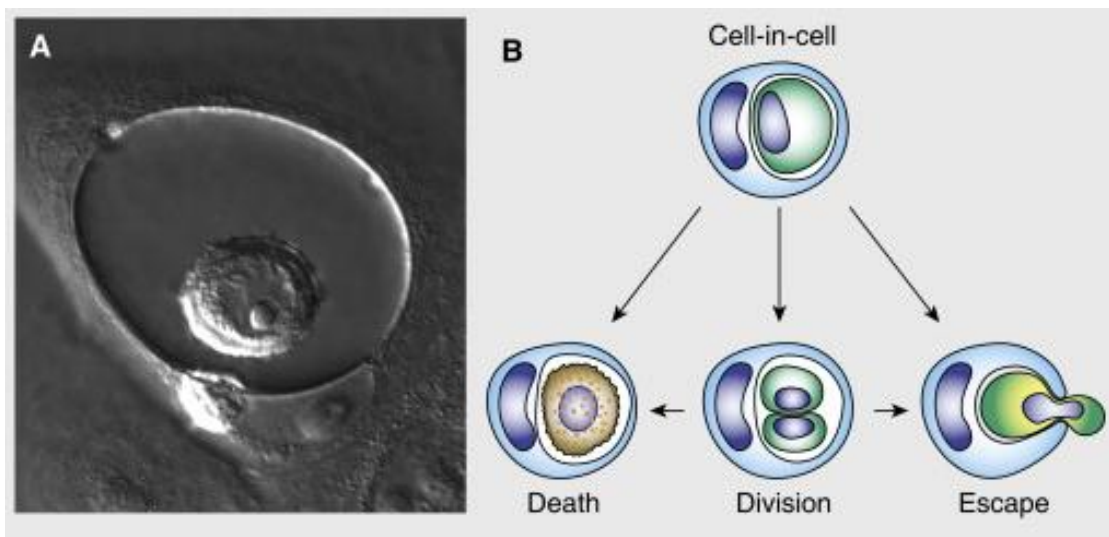


Obrázek 4: Kornifikace. Převzato a upraveno z [23].

2.1.10 Entóza

Entóza je proces, při kterém se buňky internalizují do sousedních buněk, čímž vytvářejí struktury zvané buňka v buňce. Tento proces je závislý na kontaktech mezi buňkami, kde E-kadherin hraje klíčovou roli v lokalizaci v místech, kde jedna buňka vstupuje do druhé a jeho blokování inhibuje tvorbu těchto struktur. Důležitá je také kontrakční síla spojená s tvorbou adhezivních spojů, přičemž aktivita Rho GTPázy je nezbytná v buňce, která se internalizuje. Entózu může indukovat odchlípení matrice v kultuře, přičemž adheze matrice vyvažuje adhezi mezi buňkami a může inhibovat tento proces [25].

Tvorba struktur buňka v buňce může být homotypická (mezi buňkami stejného typu) nebo heterotypická (mezi buňkami různého typu), přičemž heterotypické struktury se mohou vytvářet různými mechanismy, například mezi hematopoetickými, epiteliálními nebo nádorovými buňkami. Entóza byla pozorována v různých buněčných liniích jako jsou epiteliální buňky prsu, buňky karcinomu prsu a lidské embryonální ledvinové buňky. Internalizované buňky se zpočátku jeví jako zdravé a životaschopné, některé dokonce pokračují v dělení, ale po 20 hodinách většina buněk zemře, přičemž část se dokáže uvolnit. Buňky, které zemrou vykazují známky specializované formy buněčné smrti, která neobsahuje typické znaky apoptózy, jako je štěpení kaspázy-3 nebo kondenzace jádra. Místo toho se v nejranějších fázích smrti kolem těchto buněk lokalizuje protein lyzozomální membrány (LAMP1, *Lysosomal-associated membrane protein*) a dochází k acidifikaci, což naznačuje poškození lyzozomů [26,27].



Obrázek 5: Entóza-tvorba buněk v buňkách. Převzato z [26].

2.1.11 Mitotická katastrofa

Mitotická katastrofa je buněčná smrt, ke které dochází během nebo krátce po neregulované nebo neúspěšné mitóze a může být doprovázena morfologickými změnami, jako jsou mikrojádra, což jsou často chromozomy nebo fragmenty chromozomů, které nebyly rovnoměrně rozděleny mezi dceřiná jádra, a mnohojaderná, což znamená přítomnost dvou nebo více jader v důsledku separace heterokinezí s podobnými velikostmi [28].

Mitotická katastrofa je výsledkem bodů buněčného cyklu, zejména kontrolních bodů struktury DNA a kontrolního bodu sestavení vřetena, a poškození buněk. Tento proces není vždy spojen s defekty cytokineze nebo segregace chromozomů, ale může být vyvolán apoptickými podněty během mitózy. Buněčná smrt, ke které dochází během přechodu metafáze/anafáze, je charakterizována aktivací kaspázy-2, která může být aktivována v reakci na poškození DNA, nebo permeabilizací mitochondriální membrány s uvolněním efektorů buněčné smrti, jako je faktor indukující apoptózu a aktivátor kaspázy-3 a-9 cytochrom c. Pokud buňky nezahájí apoptózu v reakci na mitotické selhání, mohou se dělit asymetricky a vytvářet aneuploidní buňky, což vede k chromozomální nestabilitě. Mitotická katastrofa tak může být pojímána jako molekulární zařízení, které brání aneuploidizaci, která se může podílet na onkogenezi. Mitotická katastrofa je řízena řadou molekulárních faktorů, zejména kinázami specifickými pro buněčný cyklus, proteiny kontrolních bodů buněčného cyklu, survivinem, p53, kaspázami a Bcl-2 [29, 30].

3. FERROPTÓZA

3.1 Historie objevu ferroptózy

Buněčná smrt, včetně náhodné buněčné smrti a regulované buněčné smrti je úzce spojena s oxidačním stresem a hraje zásadní roli v organismech. V poslední době se zvýšil počet nových typů regulované buněčné smrti, z nichž každý vykazuje odlišné charakteristiky, pokud jde o zahrnuté molekulární mechanismy a signály, které jsou modulovány. Původní myšlenka konceptu ferroptózy vzešla z hledání nových terapeutických léků zaměřených na nádorové buňky nesoucí mutaci v genu rodiny RAS (*RAS*, *rat sarcoma virus*), který se často podílí na rakovině. Tyto studie identifikovaly dvě sloučeniny erastin a selektivní letální sloučeninu, která indukuje ferroptózu (*RSL3*, *Ras-Selective Lethal compound 3*), jako selektivně toxické pro rakovinné buňky exprimující onkogenní RAS [31,32].

Je důležité zmínit, že buněčná smrt indukovaná erastinem nebo RSL 3 je odlišná od apoptózy (regulovaná forma buněčné smrti), nekrózy (buněčná smrt se zánětlivými procesy), a autofagie (degradační proces závislý na lysozomech regulující buněčnou homeostázu a buněčný osud). Termín ferroptóza byl vytvořen pro popis neapoptické buněčné smrti závislé na železe, protože tato buněčná smrt závislá na RAS může být inhibována chelátorem železa deferoxaminem a antioxidanty [32,33].

V roce 2012 Brent Stockwell oficiálně označil tento typ zániku jako ferroptózu kvůli jeho charakteristickým rysům jako jsou: proces buněčné smrti, který se opírá o železo a nesouvisí s apoptózou, charakterizovaný akumulací reaktivních forem kyslíku v buňkách. Mechanicky erastin inhibuje vychytávání cystinu přes cystin glutamátový transportní receptor (systém xc-) a to vede k vyčerpání GSH (glutathion) [33].

3.2 Základní charakteristika

Ferroptóza představuje formu neapoptické programované buněčné smrti, která je spuštěna malými molekulami nebo stavy, které inhibují biosyntézu GSH nebo glutathion dependentní antioxidační enzym glutathion peroxidázu 4 (*GPX 4*, *glutathion peroxidase*). Tento letální proces, který je závislý na přítomnosti železa je definován akumulací lipidových reaktivních forem kyslíku, neomezenou peroxidací lipidů a úbytkem polonenasycených mastných kyselin plazmatické membrány a tím pádem následné poškození membrány. Ferroptóza má potenciál způsobit poškození normálních buněk a přispět k rozvoji různých onemocnění, včetně kardiovaskulárních onemocnění a neurodegenerativních poruch. Na

druhou stranu má inhibiční účinky na proliferaci nádorových buněk a brání migračním a invazivním schopnostem nádorových buněk [33,34].

3.3 Molekulární mechanismy ferroptózy

3.3.1 Metabolismus železa

Železo je základní mikroživinou pro organismy, rostliny, zvířata a lidi. Přetížení železem však může poškodit organismus různými mechanismy, včetně indukce buněčné smrti. Ferroptóza může být spuštěna buď vnější nebo vnitřní cestou. Vnější dráha je iniciována regulací transportérů jako je inhibice aminokyselinového antiporterového systému xc- nebo aktivace transportérů železa transferinu a laktotransferinu. Zatímco vnitřní dráha je indukována hlavně blokováním exprese nebo aktivity intracelulárních antioxidantních enzymů, jako je GPX 4. Kromě sloučenin a léčiv s malými molekulami vyvolávají ferroptickou buněčnou smrt určité stresy jako je vysoká nebo nízká teplota, hypoxie a radiace [33].

Železo slouží jako základní složka mnoha enzymů zapojených do syntézy DNA, metastáz, progresu buněčného kruhu, fyziologických drah nebo angiogeneze. Železo je však také redoxně aktivní činidlo a podporuje produkci reaktivních sloučenin kyslíku (ROS, *reactive oxygen species*) prostřednictvím Fentonovy reakce. Potřeba volného železa je základní vlastností ferroptózy. Na metabolismu železa se podílí řada genů. Regulační protein železa 1 (IRP 1, *iron regulatory protein*) a regulační protein železa 2 (IRP 2, *iron regulatory protein 2*) jsou senzory intracelulárního železa a řídí transport, skladování a přeměnu železa prostřednictvím řízení exprese řady genů metabolismu železa. IRP 1 a IRP 2 kontrolují expresi svých cílových genů vazbou na strukturu stonku se smyčkou umístěnou v 3'- nebo 5'-nepřekládané oblasti mRNA podle intracelulární hladiny železa. Vazba IRP 1 a IRP 2 na mRNA ji stabilizuje a zvyšuje její expresi nebo mění její lokalizaci [33,35].

Transferin je protein, který slouží jako přenašeč železa. Z extracelulárního prostředí transportuje železo do buňky tím, že se váže na transferinový receptor (TFR 1, *transferrin receptor 1*) na buněčném povrchu, který tento komplex rozpozná a umožní jeho vstup do buňky. Jak transferin, tak TFR 1 jsou cíle IRP 1 a IRP 2 a jsou nezbytné pro indukci ferroptózy. Feritin je také cílem IRP 1 a IRP 2, ale váže se na volné železo a činí ho nedostupným, a proto funguje jako prevence ferroptózy. Chelátory železa se již dlouho používají při vývoji protinádorových strategií. Budoucí studie jsou stále potřebné k ověření strategií chelace železa v terapii rakoviny za různých podmínek [32,35].

3.3.2 Metabolismus cysteinu

Metabolismus cysteinu hraje zásadní roli při iniciaci ferroptózy. Jedním z prvních a nejvíce studovaných induktorů ferroptózy je malá molekula zvaná erastin, která sehrála klíčovou roli při objasňování molekulárních mechanismů tohoto typu buněčné smrti. Erastin patří mezi malé molekuly identifikované v chemickém screeningu, které indukují ferroptózu v buněčných liniích s onkogenní mutací RAS. Průzkum cílů erastinu spojuje metabolismus cysteinu s iniciací ferroptózy. Glutamát-cystinový antiportový systém xc- je nejdůležitějším cílem erastinu během erastinem indukované ferroptózy. Systém xc- transportuje cystin, hlavní formu cysteinu v atmosféře, do buněk s výměnou glutamátu v poměru 1:1. Inhibice systému xc- odstraňuje buněčný cystein, takže je nedostupný pro syntézu GSH. GSH hraje hlavní roli v obraně buněčných antioxidantů. Deplece GSH vede k akumulaci lipidových ROS, poškození proteinů nebo membrán a následně ferroptické buněčné smrti [35,36].

β -merkptoethanol mění cystein na cystin, který je transportován do buňky a obchází systémem xc-. Léčba β -merkptoethanolem potlačuje buněčnou smrt vyvolanou inhibicí systému xc- a deprivací cysteinu. Některé typy buněk jsou odolné vůči buněčné smrti vyvolané erastinem, nejspíše proto, že tyto buňky mohou získat cystein alternativními způsoby. Například knockdown cysteinyl- tRNA syntetázy aktivuje transsulfurační cesty, kterými buňky biosyntetizují cystein z methioninu a odolávají ferroptóze vyvolané erastinem [35].

Při afinitní purifikaci byly identifikovány také některé další cíle erastinu SLC7A5 (gen kódující latifický přenašeč, *solute carrier family 7 member 5*) byl také identifikován jako protein vázající erastin pomocí afinitních testů. SLC7A5 může také vázat SLC3A2 (gen kódující aktivní přenašeč, *solute carrier family 3 member 2*) za vzniku aminokyselinových transportérů (systém L) velkých neutrálních aminokyselin. Inhibice příjmu aminokyselin zprostředkovaného systémem L erastinem však nepřispívá přímo k ferroptóze. Erastin může cílit na mitochondriální rezidentní napěťově závislý aniontový kanál-2 (VDAC2, *voltage dependent anion channel 2*). Knockdown VDAC2 pomocí RNAi zeslabuje erastinem indukovanou ferroptózu. Interakce erastin – VDAC2 inhibuje permeabilitu VDAC2 pro endogenní substráty, jako je nikotinamid-adenin-dinukleotid-hydrid (NADH, *nicotinamide-adenine-dinucleotide*) a snižuje oxidaci NADH v rakovinných buňkách, což vyvolává mitochondriální dysfunkci a uvolňování oxidativních druhů. Nicméně VDAC2 je nezbytné, ale ne dostatečné pro erastinem indukovanou buněčnou smrt, jak se již ukázalo ve studiích [35, 36].

3.3.3 Inaktivace GPX4

Inaktivace GPX4 je příčinou akumulace peroxidů lipidů, nastává například kvůli vyčerpání glutathionu nebo inhibicí molekulou RSL3. RSL3 je další molekula pro iniciaci ferroptózy nalezená v chemickém screeningu. Cíl pro RSL3 byl zkoumán proteomickou analýzou afinitního pull-down testu a bylo zjištěno, že GPX 4 je přímým cílem RSL3. Vazbou s GPX4 to vede k akumulaci lipidových peroxidů. Ferroptóza vyvolaná léčbou RSL3 je podobná jako při inaktivaci GPX4, což dále podporuje, že RSL3 indukuje ferroptózu prostřednictvím inhibice GPX4. GSH slouží jako kofaktor enzymu GPX4, který katalyzuje přeměnu peroxidů lipidů na méně škodlivé alkoholy. Deplece GSH způsobená deprivací cysteinu přímo inaktivuje GPX4 a vede k následné indukci ferroptózy [35,37].

3.3.4 Selektivní letalita ferroptických sloučenin v rakovinných buněčných liniích

Ferroptóza byla původně definována v RAS mutovaných rakovinných buňkách. Mnoho různých typů rakovinných buněk s mutací RAS vykazuje citlivost na indukci ferroptózy. Jedním z vysvětlení úzkého vztahu mezi signalizací RAS a ferroptózou může být to, že aktivace RAS může zvýšit intracelulární železo prostřednictvím aktivace TFR 1 a suprese zásobních proteinů železa. Mutovaný gen RAS je pro iniciaci ferroptózy nepostradatelný. Některé typy rakoviny bez mutace genu RAS jsou také citlivé na indukci ferroptózy. Kromě toho RAS upravený tak, aby exprimoval mutovaný RAS dokonce propůjčuje rezistenci k buněčné smrti indukované erastinem nebo RSL3. Leukemické buňky bez mutace RAS také vykazovaly velkou citlivost na indukci ferroptózy [35].

Další studie ukázaly různou citlivost k ferroptóze v rakovinných buňkách z různých tkání prostřednictvím rozsáhlého profilovacího experimentu, který testoval čtyři ferroptická činidla (erastin, RSL3, ML210 a ML162) proti panelu 860 rakovinných buněk. Výzkumníci dospěli k závěru, že linie rakovinných buněk pocházejících z hematopoetických a lymfoidních tkání, centrální nervové soustavy, autonomních ganglií, vaječnicků, měkkých tkání, ledvin a kostí tkáně byly nejcitlivější na čtyři ferroptická činidla. Buněčné linie pocházející z jícnu, horních cest dýchacích, žaludku, slinivky břišní, prsu, kůže a tlustého střeva byly obecně na tyto ferroptická činidla necitlivé. Nádorové buněčné linie neepiteliálního původu byly citlivější na ferroptická činidla než rakovinné buněčné linie epitheliálního původu. U rakovinných buněk ve vysoce mezenchymálním stavu byla větší pravděpodobnost že podstoupí ferroptózu [35].

3.3.5 Glutaminolýza

Nedávné studie ukázaly, že glutaminolýza hraje nepostradatelnou roli při iniciaci ferroptózy v myších embryonálních fibroblastech. Glutamin je degradován glutaminolýzou a cyklem trikarboxylových kyselin. Další důkazy ukazují, že metabolit glutaminolýzy α -ketoglutarátu (α KG, *α -ketoglutarate*) nebo jeho následné metabolity jsou vyžadovány během cyklu-1 optózy proteinu v mitochondriální membráně (TCA17, *cycle associated protein 17*). Bylo zjištěno, že enzymy zapojené do glutaminolýzy hrají důležitou roli při iniciaci ferroptózy. Transamináza přeměňuje glutamát na α KG prostřednictvím transaminačního procesu. Dále bylo zjištěno, že inhibitor transamináz, amino-oxyacetát, inhibuje ferroptózu v myších embryonálních fibroblastech. *Knockdown* glutamino-oxaloacetátové transaminázy 1, (GOT 1, *glutamate oxaloacetate transaminase 1*) by také mohl inhibovat ferroptózu indukovanou cysteinovou deprivací v myších embryonálních fibroblastech. Role glutaminolýzy v regulaci ferroptózy je však složitější. Glutamátdehydrogenáza 1 (GLUD 1, *glutamate dehydrogenase 1*) přeměňuje glutamát na α KG prostřednictvím deaminace glutamátu. *Knockdown* GLUD 1 zprostředkovaný RNAi však nedokázal inhibovat iniciaci ferroptózy. Glutaminázy 1 i glutaminázy 2 katalyzují přeměnu glutaminu na glutamát. Studie prokázaly, že pouze glutaminázy 2 se účastní regulace ferroptózy [35,37,38].

Další studie ukázala, že glutamináza 2 je transkripční cíl p53 a je regulován během ferroptózy závislé na p53. Navíc pouze v kombinaci s glutaminem může deprivace cysteinu indukovat akumulaci ROS, peroxidaci lipidů a ferroptózu. Při nedostatku cysteinu bude glutaminolýza indukovat mitochondriální dýchání a rychlé vyčerpání GSH působením GPX4, což vyvolá silnou ferroptózu. Když je však glutaminolýza inhibována, rychlost vyčerpání GSH se zpomalí a ferroptóza není indukována, ani když je nedostatek cysteinu [38,39].

Zvýšená glutaminolýza byla pozorována u většiny rakovinných buněk, kde slouží k uspokojení jejich bioenergetických potřeb. Tato vysoká míra glutaminolýzy však také odhaluje zranitelnost rakovinných buněk, zejména v souvislosti při podpoře ferroptózy. Kombinace glutaminolýzy a deprivace cysteinu vede k silné ferroptické buněčné smrti. Tento objev by mohl znamenat průlom v protinádorových léčebných strategiích [40,41].

3.3.6 PUFA a buněčné železo

Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA, *polyunsaturated fatty acid*) zvyšují fluiditu membrány a jsou důležité pro přizpůsobení původního života prostředí. PUFA však mohou být oxidovány intracelulárními ROS a produkovat peroxidy lipidů, které podporují indukci

ferroptózy. Aktivita lipoxygenáz katalyzuje fosfolipidy obsahující PUFA na proferroptické regulátory lipidů peroxidace a to acyl transferáza 3 a acyl-CoA syntetáza, které podporují ferroptózu indukovanou inhibicí GPX 4 v buňkách KBM7. Katalyzované funkce acyl-CoA syntetázy a acyltransferázy 3 jsou zodpovědné za inzerci fosfolipidů do membrány a za remodelaci polynenasycených mastných kyselin [42,43].

3.3.7 Induktory ferroptózy s malou molekulou (nízkomolekulární sloučenina)

Ferroptóza byla původně definována během chemického screeningu pro léčbu rakoviny. S rostoucím výzkumem ferroptózy bylo identifikováno více sloučenin, které vyvolávají ferroptózu. V tabulce 2 můžeme vidět přehled jednotlivých sloučenin.

Tabulka 2: Přehled sloučenin, které vyvolávají ferroptózu Převzato a upraveno z [43].

| Sloučenina | Cíl | Důsledek |
|--|------------|--|
| Erastin | Systém xc- | Nedostatek cysteinu |
| RSL3 | GPX4 | Inaktivace GPX4, deplece GSH |
| Sulfasalazin | Systém xc- | Nedostatek cysteinu |
| Sorafenib | Systém xc- | Nedostatek cysteinu |
| Siramesin | Transferin | Zvýšené železo v buňkách |
| Cisplatina | GSH | Inaktivace GPX4, snížené hladiny GSH |
| FINO2 (Ferroptosis-Inducing Oxidant 2) | GPX4 | Inaktivace GPX4, akumulace peroxidových lipidů |

3.3.8 Lipidová peroxidace

Peroxidace lipidů probíhá dvěma základními mechanismy: neenzymatickou spontánní autoxidací a enzymově zprostředkovanými procesy katalyzovanými několika enzymy, může být potlačena chelátory železa jako je deferoxamin. Při neenzymatických autoxidacích reaguje volný železný iont s peroxidem vodíku a vytváří železnatý iont a hydroxylový radikál. Hydroxylový radikál iniciuje proces peroxidace lipidů tím, že odstraňuje vodík na *bis-allylové* pozici PUFA. Vitamin E a koenzym Q10 reagují s peroxylovými radikály a produkují peroxidy, a poté mohou být tyto oxidované lipidové druhy detoxikovány GSH a GPX4 a dalšími komponenty buněčné antioxidantní obranné sítě [42].

Akumulace produktů lipidové peroxidace v buněčné membráně může vést k narušení membrány a úmrtí buněk zprostředkované ferroptózou. Buněčné struktury však využívají endogenní lipofilní antioxidanty jako je GPX4 a proteiny potlačující ferroptózu, aby se snížila

hladina lipidových peroxidů a tím se chránily buňky před ferroptózou za normálních podmínek [42,43].

3.4 Porovnání ferroptózy s dalšími formami buněčné smrti

Na rozdíl od apoptózy nebo nekrózy je ferroptóza charakterizovaná akumulací ROS a oxidací polyenových mastných kyselin v buněčných membránách. Klíčovým mechanickým rysem je vyčerpání glutathionu a inhibice aktivity enzymu GPX4, což vede k nevratnému poškození membrán. Tento proces je často indukován oxidačním stresem, který je způsoben narušením homeostázy železa nebo účinkem sloučenin jako je erastin nebo RSL 3. Železo v buňce podporuje Fentonovu reakci, při níž vznikají hydroxylové radikály, které dále zvyšují oxidační stres. Homeostáza železa se narušuje, když dochází k nadbytku volného železa (Fe^{2+}), které může vstupovat do Fentonovy reakce. Mezi morfologické charakteristiky patří zmenšení mitochondrií, kondenzace mitochondriálních kryst a ztráta membránového potenciálu. Ferroptóza je spojována s patogenezí různých onemocnění, včetně neurodegenerativních poruch, rakoviny a ischemicko-reperfuzního poškození. Díky svému specifickému mechanismu je předmětem intenzivního výzkumu zaměřeného na terapeutické intervence, které by mohly tento proces regulovat například pomocí antioxidantů nebo železo chelátujících látek [44,45].

4. REGULACE FERROPTÓZY

4.1 Role organel zapojených do regulace ferroptózy

Organely jsou důležitými složkami buňky a fungují při udržování intracelulární homeostázy. Nicméně dysfunkce buněčných organel za stresových podmínek podpoří proces buněčné smrti. Bylo prokázáno, že mitochondrie, lysozom a endoplazmatické retikulum (ER) hrají významnou roli v regulaci ferroptózy [44].

4.1.1 Úloha mitochondrií v regulaci ferroptózy

Mitochondrie jsou poskytovatelem energie buňky a dlouho byly považovány za úzce související s procesem programované buněčné smrti. Role mitochondrií ve ferroptóze však zůstává vysoce kontroverzní. Ze studie Dixon et al. (2012) je jasné, že k ferroptóze může dojít v buňkách, kterým chybí funkční mitochondriální elektronový transportní řetězec v buňkách HT-1080 (fibrosarkomová buněčná linie) [46].

Gao et al. (2018) však ukázali, že deplece mitochondrií prostřednictvím mitofágie zprostředkované parkinem dramaticky snížila citlivost buněk k ferroptóze vyvolané cysteinovou deprivací. Inhibice mitochondriálního cyklu nebo řetězce transportu elektronů zeslabuje ferroptózu vyvolanou deprivací cysteinu. Navzdory glutaminolýze a mitochondriálního cyklu v mitochondriích se mitochondriální lipidy zdají být také důležitými zdroji pro produkci peroxidů lipidů během ferroptózy. Ukázalo se však, že mitochondrie hrály roli pouze ve ferroptóze indukované cysteinovou deprivací, ale ne ve ferroptóze indukované inhibicí GPX4. S největší pravděpodobností je to tím, že mitochondrie podporují vyčerpání GSH při nedostatku cysteinu [47,48].

Důležitá role mitochondrií v regulaci ferroptózy byla potvrzena také v kardiomyocytech. Při ferroptóze myokardu vyvolané doxorubicinem byly peroxidace lipidů a nehemové železo specificky zvýšeny v mitochondriích, ale ne v cytoplazmě. Dále bylo zjištěno, že geny pro metabolismus mastných kyselin v mitochondriích včetně citrátsyntázy a acyl-CoA syntetázy jsou nutné pro ferroptastin. Všechny tyto zjištění spojují mitochondrie s indukcí ferroptózy [48,49].

4.2.1 Úloha lysozomů ve ferroptóze

Lysozomy hrají také důležitou roli v indukci ferroptózy. Lysozom je hlavním buněčným zdrojem ROS ve ferroptóze indukované erastinem nebo RSL3 v buňkách HT-1080. Kromě toho by inhibitory aktivity lysozomů mohly zabránit jak lysozomálnímu ROS, tak výbuchu ROS spojeného se smrtí ferroptických buněk. Aktivita lysozomů ovlivňuje intracelulární zásobování železem tím, že zeslabuje intracelulární transport transferinu nebo autofagickou degradaci feritinu [46].

4.2.2 Úloha endoplazmatického retikula ve ferroptóze

Primární organela zodpovědná za koordinaci vnějších výzev a vnitřních požadavků buněk je endoplazmatické retikulum a progresse zánětlivých onemocnění může vyvolat stres endoplazmatického retikula. Stres endoplazmatického retikula je buněčný jev, který vzniká jako odpověď na akumulaci chybně poskládaných proteinů v ER. Tento proces spouští aktivaci signální dráhy jako odpověď na rozložený protein, jejímž cílem je obnovit homeostázu ER snížením syntézy proteinů, zvýšením degradace proteinů a podporou správného skládání proteinů [46].

Nadměrný stres ER však může narušit normální buněčnou funkci a přispět k rozvoji různých patologických stavů, jako je právě ferroptická buněčná smrt. V posledních letech přibývá důkazů, které naznačují, že ferroptóza se vyskytuje u muskuloskeletálních poruch, přičemž se objevují poznatky o komplexním vztahu mezi ER stresem a ferroptózou [46,50].

4.3 Antioxidanty a obranné mechanismy

4.3.1 Role glutathionu

GSH je klíčový antioxidant v organismech, vykazuje různorodé biologické funkce a je zásadní pro ochranu buněk před oxidačním poškozením prostřednictvím detoxikace reaktivních forem kyslíku a udržování stabilního redoxového prostředí. Zatímco za fyziologických podmínek působí GSH protektivně, u maligních nádorů jeho zvýšená aktivita často přispívá k progresi onemocnění a rezistenci na léčbu [41].

GSH je tripeptid, který se skládá z glutamátu, cysteinu a glycinu. Za fyziologických podmínek jsou pro syntézu GSH důležité dva klíčové enzymy glutamát-cystein ligáza (GCL, *glutamate-cysteine ligase*) a glutathion syntetáza (GS, *glutathion syntetase*) a dostupnost cysteinu. GCL se skládá z katalytické podjednotky glutamát-cystein ligázy (GCLC, *Glutamate-cysteine ligase catalytic subunit*) a modifikační podjednotky (GCLM, *Glutamate-cysteine ligase modifier subunit*). Genetické potlačení GCLC zvyšuje náchylnost k ferroptóze v

důsledku metabolického stresu, například při nedostatku cystinu. Enzym GCL váže cystein a glutamát (Glu) a vytváří γ -glutamylcystein, který je následně katalyzován glutathion syntetázou na glutathion. Z tohoto důvodu látky jako erastin nebo sulfasalazin, které inhibují aktivitu systému xc-, dokážou zabránit biosyntéze GSH tím, že vyčerpávají zásoby cystinu. Nedostatek aminokyselin, zejména cystinu, vede rovněž k poklesu hladiny GSH [43,45].

GSH, jako hlavní kofaktor GPX4, funguje jako donor elektronů přecházející mezi redukovanou formou GSH a jeho oxidovanou formou, glutathion disulfidem (GSSG, *glutathion disulfid*), což je klíčové pro ochranu buněk před oxidačním stresem. Hranice GSH/SLC7A11/GPX4 je nejdůležitější obrannou osou ferroptózy, a SLC7A11, jakožto element ferroptóзовé dráhy, slouží jako substrát pro syntézu GSH prostřednictvím příjmu cystinu, zatímco GSH působením GPX4 dokáže redukovat lipidové peroxidy na plazmatické membráně na lipidy a alkoholy, čímž chrání buňky před ferroptózou. Kromě toho se GSH podílí také na regulaci metabolismu buněk, proliferace a genové exprese. GSH se také podílí na posttranslační modifikaci určitých intracelulárních proteinů, což reguluje přenos signálů a redoxovou rovnováhu [27, 43].

4.3.2 Role GPX4

GPX4 slouží jako zásadní intracelulární regulační faktor, který se podílí na různých fyziologických procesech a hraje významnou roli jako antioxidant a při udržení redox homeostázy, jeho redoxová aktivita závisí na aminokyselině selenocysteinu. GPX4 je hlavní regulátor v procesu ferroptózy a jeho jedinečná funkce je přerušit oxidaci lipidů transformací lipidových hydroperoxidů na netoxické lipidové alkoholy [27,40].

Společně GPX4 a ferroptóza přispívají k patofyziologii několika onemocnění, včetně sepse, onemocnění nervového systému, ischemicko-reperfučního poškození, kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny. Biosyntéza GSH a normální funkce GPX4 jsou klíčové pro kontrolu ferroptózy a inhibice GPX4 může zvýšit citlivost buněk na ferroptózu. Akumulace železa produkuje specifické fosfolipidové hydroperoxidy, které jsou endogenně neutralizovány buňkami prostřednictvím systému xc-. Po vstřebání cystinu systémem xc- bude redukován na cystein, aby syntetizoval GSH, který udržuje aktivitu GPX4. Pokud je jakýkoli krok tohoto procesu narušen, dojde k poklesu aktivity GPX4, což vede k akumulaci intracelulárních peroxidů, které přispívají k ferroptóze [42,45].

V dráze ferroptózy závislé na GPX4 hraje transkripční faktor Cap'n'collar (CNC) jaderný faktor erytroidů-2 (NRF 2, *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), zásadní

regulační roli v tomto procesu. Může inhibovat ferroptózu aktivací GPX4 prostřednictvím aktivace SLC7A11. Kromě toho je NRF2 regulován cytoplazmatickým inhibitorem proteinem 1 (KEAP1, *Kelch-like ECH-associated protein 1*) Ubiquitinace (proces, který cílí NRF 2 k degradaci) zprostředkovaná KEAP1 může cílit NRF2 na degradaci proteinu. Pod oxidačním stresem je degradace NRF2 KEAP1 aktivována [42,43].

Jaderný respirační faktor (NRF1, *Nuclear Respiratory Factor 1*) může také regulovat GPX4. NRF1 je také členem transkripčních faktorů CNC, které mohou podporovat rezistenci buněk vůči ferroptóze tím, že udržují expresi GPX4, nezávisle na NRF2. Ztráta exprese proteinu GPX4 v buňkách s deficitem NRF1 zvyšuje jejich citlivost k ferroptóze, zatímco nadměrná exprese NRF1 nedokázala zabránit ferroptóze v buňkách, kterým GPX4 chybí. Jeho regulace se také liší od regulace NRF2, který je hlavně regulován N-glykosylázou 1 a induktorem ztráty DNA 1 homologem. Funkce drah NRF1 a NRF2 ve vývoji se nepřekrývají a jejich regulace ferroptózy je nezávislá [27, 43].

4.3.3 Systém xc-

Inhibice systému xc- je jedním z klíčových spouštěčů ferroptózy. Tento systém tvoří heterodimerní aminokyselinový antiportér umístěný na buněčné membráně. Skládá se z transportní podjednotky SLC7A11, pomocí které je určována aktivita systému xc- a která je prostřednictvím disulfidové vazby spojena s regulační podjednotkou SLC3A2. Hlavní funkcí tohoto antiportéru je import extracelulárního cystinu výměnou za intracelulární glutamát. Nízká exprese SCL7A11 snižuje aktivitu systému xc-, což vede k ferroptóze mediované oxidačním stresem; naopak, přehnaná exprese SCL7A11 zvyšuje odolnost buněk vůči ferroptóze, což je také jedním z důvodů rezistence na léky u nádorových buněk. Proto je regulace SCL7A11 velmi důležitá pro odolnost vůči ferroptóze. Aby byla zajištěna správná funkce SLC7A11 v udržování redoxové homeostázy, je exprese a aktivita SLC7A11 přísně regulována různými mechanismy, včetně transkripce řízené regulačními faktory a epigenetickými regulačními mechanismy, stejně jako posttranskripčními regulačními mechanismy [56,57].

Pomocí tzv. modulačního profilování bylo zjištěno, že buněčná smrt navozená erastinem sdílí mnoho podobností s účinky sulfasalazinu (SAS, *sulfasalazine*), což je známý inhibitor systému xc-. Oba tyto inhibitory vyvolávají ferroptózu blokací příjmu cystinu, což vede k depleci intracelulárního GSH a následnému hromadění lipidových peroxidů, což vede k ferroptické buněčné smrti. Jejich cytotoxické účinky však mohou být významně zmírněny současným podáním β -merkaptopropanololu, který obchází závislost na systému xc- tím, že

tvoří smíšené disulfidy s cystinem. Tyto komplexy mohou být následně transportovány do buňky jiným přenašečem, čímž je obnoven intracelulární pool cystinu. Nejvíce přesvědčivým důkazem účinnosti erastinu a SAS jako inhibitorů systému xc- je jejich schopnost blokovat příjem radioaktivně značeného cystinu v kultivovaných nádorových buňkách [27,56].

Kromě erastinu a SAS může multi-kinázový inhibitor sorafenib blokovat funkci xc-systému, vyčerpát GSH a vyvolat ferroptózu v nádorových buněčných liniích odvozených z jater, ledvin, kostí, plic a jiných tkání. Příbuzné inhibitory kináz nemají schopnost blokovat funkci systému nebo vyvolávat ferroptózu, což naznačuje, že účinky sorafenibu mohou být buď důsledkem modulace velmi specifické kinázy (která následně moduluje aktivitu systému), nebo přímého účinku na xc- systém. Tato funkce může vysvětlit schopnost sorafenibu vyvolávat kaspázami nezávislou smrt buněk u určitých typů buněk a zvyšovat akumulaci ROS u pacientů s rakovinou léčených sorafenibem [56,57].

4.4 Oxidační stres

Ferroptóza je jedinečná dráha buněčné smrti indukovaná oxidačním stresem, který hraje klíčovou roli v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění, jako jsou ateroskleróza, mrtvice, ischemicko-reperfuční poškození a srdeční selhání. Nerovnováha mezi ROS a vyčerpáním antioxidantů, což dále aktivuje množství transkripčních faktorů a prozánětlivých genů, jako jsou NF- κ B, p53, HIF-1 α , PPAR- γ , β -katenin a NRF 2 [58].

GSH, jako důležitý supresor ferroptózy a neenzymatický antioxidant, poskytuje zásadní obranný systém na ochranu buněk před různými typy oxidačního stresu, tím, že zachycuje volné radikály. Poměr mezi GSH a jeho oxidačním stavem GSSG obvykle ukazuje úroveň buněčného oxidačního stresu. Jako člen rodiny glutathion peroxidáz využívá GPX4 GSH jako donor elektronů k redukci toxických lipidových hydroperoxidů (lipid-OOH) v buněčných membránách na netoxické lipidové alkoholy (lipid-OH) a vodu. Lipid-OOH jsou nestabilní a mohou se rozpadat na reaktivní sloučeniny jako je malondialdehyd, hexanal a 4-hydroxynonenal atd., které mohou fungovat jako „druhé zprostředkovatelé oxidačního stresu“ kvůli své dlouhé poločas rozpadu a schopnosti difundovat z místa jejich vzniku [58,59].

ROS jsou některé z nejběžnějších oxidantů v buňkách. ROS zahrnují superoxid ($O_2^{\bullet-}$), peroxid vodíku (H_2O_2), lipidové peroxidy (ROOH) nebo odpovídající hydroxylové (HO^{\bullet}) a peroxyly (ROO^{\bullet}) radikály. Akumulace ROS může vést k oxidačnímu stresu, což způsobuje lipidovou peroxidaci vyvolanou oxidačním stresem. Lipidová peroxidace může dále generovat

ROS nebo se rozkládat na reaktivní sloučeniny schopné křížové vazby DNA a proteinů. Lipidová peroxidace vyvolaná oxidačním stresem nakonec vede k ferroptóze [58,59].

4.5 Regulace ferroptózy na molekulární úrovni

Metabolismus železa a signalizace lipidové peroxidace jsou stále více uznávány jako hlavní zprostředkovatelé ferroptózy. Kromě toho aktivace dráhy kinázy aktivované mitogeny přispívá k ferroptické smrti rakovinných buněk.

Ferroptické signální dráhy spojené s progresí rakoviny, u kterých se odhaduje jejich potenciální aplikace v terapii rakoviny (viz tabulka 3).

Tabulka 3: Regulátory ferroptózy v rakovinných buňkách. Převzato a upraveno z [36,61].

| Efekt | Regulátor | Cíl | Mechanismus |
|------------------------------|-----------------------------|---|---|
| Promotory ferroptózy | p53 | SLC7A11 | Inhibice systému Xc- |
| | HO-1 | Degradace hemu | Dostupnost železa v buňkách |
| | antisense lncRNA-SLC7A11 | SLC7A11 | Inhibice systému Xc- |
| | lncRNA interagující s G3BP1 | Aktivace p53 | Inhibice systému Xc- |
| | Hspb 1 | Dynamika aktinu | Dostupnost železa v buňkách |
| | FANCD2 | GPX 4, geny metabolismu železa | Dostupnost buněčného železa, inhibice GPX 4 |
| Inhibitory ferroptózy | miR-137 | Glutaminový transportér SLC1A5 | Glutaminóza |
| | Nrf 2 | Geny metabolismu železa, SLC7A11, HO-1 | Inhibice systému Xc-, dostupnost buněčného železa |
| | p53 | Inhibice aktivity DPP4, aktivace CDKN1A/p21 | Peroxidace lipidů, zastavení buněčného kruhu |

4.5.1 NRF 2

NRF2 je transkripční faktor, který reguluje geny metabolismu železa v reakci na oxidační a elektrofilní stres. Aktivace NRF2 podporuje ukládání železa, snižuje buněčný příjem železa a omezuje produkci ROS. NRF2 tedy negativně reguluje ferroptózu a podporuje progresi rakoviny. V buněčných liniích HCC (hepatocelulární karcinom) se p62 váže na KEAP1 a narušuje interakci KEAP1-NRF2 po vystavení sloučeninám, které vyvolávají ferroptózu. Narušení interakce KEAP1-NRF2 stabilizuje NRF2 a podporuje jeho akumulaci v jádře po

léčbě sloučeninami vyvolávajícími ferroptózu, což snižuje citlivost rakovinných buněk na indukci ferroptózy [36, 60].

4.5.2 P53

P53 je gen pro supresi nádoru, který je aktivován pod různými stresovými podněty. P53 je zapojen do ferroptózy jako transkripční represor SLC7A11, což narušuje import cystinu a podporuje iniciaci ferroptózy. P53 se také podílí na dalších procesech programované buněčné smrti. Mechanismus p53 při indukci ferroptózy je však specifický a liší se od jiných již známých programovaných buněčných smrtí [36, 61].

4.5.3 Heme oxygenáza

Heme oxygenáza-1 (HO-1, *hemeoxygenase 1*) může být regulována jak transkripčním faktorem NRF2, tak cestou degradace spojenou s endoplazmatickým retikulem. Zvýšená aktivita HO-1 byla prokázána jako zvyšující úroveň železa v buňkách. Regulace HO-1 může zvýšit degradaci hemu a změnit intracelulární distribuci železa. Jak erastin, tak RSL3 indukují expresi HO-1. Aktivace HO-1 vyvolává ferroptózu prostřednictvím nadměrného zatížení železem, nadměrné produkce ROS a peroxidace lipidů. Nicméně, role HO-1 v regulaci ferroptózy je složitější. HO-1 se uplatňuje jako negativní regulátor ferroptózy vyvolané erastinem a sorafenibem v buňkách hepatocelulárního karcinomu, jelikož potlačení jeho exprese zvyšuje účinnost těchto látek v inhibici buněčného růstu [36, 60].

4.5.4 FANCD2

Protein skupiny D2 Fanconiho anémie (FANCD2, *Fanconi anemia group D2 protein*) je jaderný protein podílející se na opravě poškození DNA a jeho role v indukci ferroptózy během poškození kostní dřeně byla nedávno ověřena. FANCD2 byl nalezen jako ochrana proti ferroptóze v kostních dřevných stromálních buňkách. Léčba erastinem zvýšila hladiny proteinu FANCD2, který chránil proti poškození DNA vyvolanému erastinem. FANCD2 také může ovlivnit expresi širokého spektra genů souvisejících s ferroptózou, včetně genů metabolismu železa a GPX4. Tyto nálezy zdůrazňují FANCD2 v inhibici ferroptózy a vývoj terapeutických strategií založených na FANCD2 prospěje pacientům trpícím vedlejšími účinky léčby rakoviny [6, 61].

5. FERROPTÓZA V PATOLOGICKÝCH STAVECH

5.1 Ferroptóza v procesu kancerogeneze

Ačkoliv přesný mechanismus, který určuje citlivost na ferroptózu v rakovinných buňkách, je do značné míry neznámý, rakovinné buňky z různých tkání vykazují různé stupně citlivosti na ferroptózu. Specifické mechanismy indukce ferroptózy v několika typech rakovinných buněk budou popsány níže [61].

5.2 Ferroptóza v buňkách rakoviny prsu

Rakovina prsu je jedním z nejúčinnějších pro chemoterapii u pevných nádorů. Nicméně většina pacientů nakonec vyvine rezistenci na léky. Na léky rezistentní rakovinné buňky prsu jsou závislé na GPX4 a SLC7A11, což znamená, že jsou zranitelné vůči ferroptóze způsobené inhibicí GPX4 a SLC7A11. Detoxikace selenu je kritická pro přežití rakoviny prsu. Mikronutrient selen je začleňován do vzácné aminokyseliny selenocysteinu prostřednictvím biosyntetické dráhy selenocysteinu, která je potřebná pro Selenofosfát syntetáza 2, enzym v biosyntetické dráze selenocysteinu, je potřebný v rakovinných buňkách k detoxikaci selenidu, intermediátu, který se tvoří během biosyntézy selenocysteinu. Buňky rakoviny prsu a další rakovinné buňky jsou selenofilní, což umožňuje produkci selenoproteinů, jako je GPX4, a chrání buňky před ferroptózou [61, 66].

Buňky rakoviny prsu se zdají být méně citlivé na ferroptotické reagenty (Erastin, RSL3, ML210 a ML162). Nicméně látka narušující lysozomy (siramesin) i inhibitor tyrosin kinázy (lapatinib) mohou indukovat ferroptózu v buňkách rakoviny prsu. Při mechanických pokusech bylo zjištěno, že siramesin a lapatinib zvýšily hladiny železa v buňkách tím, že upregulovaly expresi transferrinu a downregulovaly expresi ferroportinu-1. Úmrtí buněk mohlo být zachráněno inhibitory ferroptózy Fer-1. Nicméně nadměrná exprese ferroportinu-1 neovlivnila smrt buněk způsobenou erastinem. Navíc siramesin indukoval uvolnění katepsinu B z lyzosomu, což je cysteináza, která spotřebovává buněčný cystein. [57, 61].

Některé léky běžně používané v klinické praxi také prokázaly účinek indukování ferroptózy u rakoviny prsu. Kromě toho bylo zjištěno, že Metformin, běžně používaný hypoglykemický lék v klinické praxi, podporuje ferroptózu v buňkách rakoviny prsu inhibicí UFMylace SLC7A11 a transkripce GPX4. Některé další malé molekulární, jako je alloimperatorin, tetrandrin citrát, pyrrolidin-3,2'-oxindoly, Saponin Formosanin C mohou také indukovat ferroptózu v buňkách prsu tím, že zasahují do osy System Xc⁻/GSH/GPX4 [66].

5.3 Ferroptóza v buňkách pankreatického karcinomu

Rakovina slinivky břišní je jedním z nejsmrtelnějších typů rakoviny, s vysokou chemickou rezistencí a klinickou úmrtností blížkou 95 %; výskyt agresivní metastázy a rezistence vůči konvenční chemoterapii je považován za hlavní výzvu pro léčbu. Buňky pankreatického duktálního adenokarcinomu (PDAC, *pancreatic ductal adenocarcinoma*) jsou vysoce odolné vůči apoptóze a v současnosti se jedná o téměř nevléčitelný typ rakoviny. Vývoj terapeutických strategií pro tuto rakovinu je výzvou v klinické praxi. Buňky pankreatické rakoviny se také zdají být necitlivé na běžné činidla pro ferroptózu. Nicméně, studie ukázaly, že artesunát (ART, *artesunate*) vyvolává ferroptózu v PDAC závisle na ROS a železe. Inhibitor ferroptózy, FER-1, může blokovat lipidovou peroxidaci a smrt buněk způsobenou ART v PDAC. ART může podporovat indukci ferroptózy modifikací exprese genů souvisejících se železem, což přispívá k úmrtnosti ferroptotických buněk. Tato zjištění poskytují nadějný způsob léčby PDAC [49, 61].

Hlavním důvodem špatné prognózy PDAC je pozdní diagnóza onemocnění a odolnost vůči lékům, které indukují apoptózu. Proto může ferroptóza představovat alternativní strategii pro zabíjení buněk PDAC a překonávání rezistence na apoptózu. Gemcitabin (nukleosidový analog deoxycytidinu) byl v posledních několika desetiletích v popředí jako základní kámen léčby PDAC, navzdory své špatné klinické účinnosti. Gemcitabin vyvolává aktivaci transkripčního faktoru (NF- κ B, *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) a hromadění ROS zprostředkované NOX v buňkách PDAC. Jako zpětná vazba vedou zvýšené hladiny ROS k aktivaci NRF2 a zvýšení intracelulárního GSH, což odolává léčbě gemcitabinem. Přerušení SLC7A11 v buněčných liniích PDAC silně ovlivňuje jejich rovnováhu aminokyselin a redoxu, a tím potlačuje in vitro a zpožďuje in vivo jejich proliferativní fenotyp. Je důležité, že na rozdíl od přerušení jiných esenciálních transportérů aminokyselin, genetická ablaci SLC7A11 zvyšuje náchylnost k buněčné smrti prostřednictvím ferroptózy [49,61].

Dále studie ukázala, že přítomnost cysteinového/cystinového transportéru mezi sousedními buňkami je mechanismus, který zajišťuje redoxovou a nutriční rovnováhu, a tím i odolnost vůči ferroptóze v SLC7A11 knock-out buňkách PDAC. Cystein je nezbytný pro prevenci ferroptózy u rakoviny pankreatu, zatímco surovina pro syntézu cysteinu je převážně poskytována systémem xc-. Sulfasalazin je protizánětlivý lék se silným inhibičním účinkem na xc-, který může významně snížit příjem cysteinu a hladiny glutathionu v lidských buňkách rakoviny slinivky MIA, Pa, Ca-2 a PANC-1. Kombinace léčby sulfadiazinem a piperinem

může významně zvýšit hladiny ROS v rakovině slinivky břišní a vyvolat cytotoxickou ferroptózu. Tento efekt je eliminován inhibitory ferroptózy a deferoxaminem. Artesunát je antimalarický lék, který vyvolává buněčné zabíjení závislé na železe a ROS v liniích rakoviny slinivky břišní s mutacemi K-Ras (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) a divokým typem, což naznačuje, že artesunát je specifickým induktorem ferroptózy buněk rakoviny slinivky břišní [61,66].

5.4 Ferroptóza v lymphomech a renálních rakovinách

Bylo zjištěno, že erastin vykazuje srovnatelný cytotoxický účinek u nádorových buněčných linií s mutací genu RAS i bez této mutace. Přesto určité typy rakovinných buněk vykazují zvýšenou citlivost na indukci ferroptózy. Difuzní velké B-buněčné lymfomy jsou nejcitlivější na ferroptózu vyvolanou erastinem. Tato specifická citlivost může být způsobena nedostatečnou funkcí drah zajišťujících přenos síry, což je typické pro některé formy leukémií a lymfomů. Citlivost na ferroptózu také závisí na typu tkáně. Karcinomy ledvinných buněk vykazovaly zvýšenou citlivost na ferroptózu vyvolanou erastinem v různých typech tkání. Podrobné poznání genetických a metabolických rysů nádorových buněk nejvíce citlivých na ferroptózu by mohlo významně přispět k rozvoji cílené terapie založené na této formě programované buněčné smrti [49,61].

5.5 Ferroptóza v mozkových nádorech

Nervový systém obsahuje nejvyšší obsah PUFA v našem těle, které jsou hlavními substráty pro produkci peroxidů. Nádory mozku byly citlivější na indukci ferroptózy. Jak erastin, tak sorafenib mohou vyvolat silnou smrt buněk u maligních nádorů mozku. Nicméně, mozkové tkáně také vyvíjejí ochranný systém proti smrti buněk. Zvýšená aktivace NRF2 byla také pozorována u nádorů mozku. Dráha NRF2-KEAP1 chrání rakovinné buňky před indukci ferroptózy. V gliomových buňkách nadměrná exprese NRF2 nebo snížení KEAP1 podporuje onkogenní transformaci. U pacientů s nádory mozku také ukázala zvýšení NRF2 sníženou míru přežití [49, 61].

Glioblastom je velmi agresivní nádor mozku se špatnou prognózou. I po operaci a radiačně chemoterapeutické léčbě se rakovina nevyhnutelně vrací a vede k úmrtí pacienta. Bylo naznačeno, že kmenové buňky rakoviny hrají roli ve vracení se rakovinách. Temozolomid vyvolává ferroptózu aktivací NRF2 na úrovni mRNA a proteinu, aby vyvolal expresi SLC7A11 a zvýšil aktivitu cystathionin-gama-lyázy v trans-sírné cestě. Kombinace aspirinu a sorafenibu pak i při nízkých koncentracích inhibuje systém x_c^- , snižuje hladinu GSH a zvyšuje akumulaci

ROS v nádorových buňkách. Současně zvyšuje cytotoxicitu cisplatinu vůči lékům rezistentním buňkám díky inhibici systému x_c^- a poškození DNA. Ferroptóza tedy může představovat slibný terapeutický přístup při léčbě maligních nádorů rezistentních terapii [49,66].

5.6 Ferroptóza v kancerogenezi vaječníků

Ovariální rakovina je nejnebezpečnější maligní nádor u žen. Většina pacientek vyvine recidivující, chemoodporné a nakonec terminální onemocnění. Kmenové rakovinné buňky byly spojeny s vývojem recidivy a odolnosti vůči terapii u ovariální rakoviny. Bylo zjištěno, že kmenové rakovinné buňky v ovariální rakovině spoléhají na železo pro proliferaci a vyhýbání se léčbě. Tento jev však poskytuje příležitost k léčbě rakovinných buněk pomocí látek, které indukují ferroptózu. Kmenové rakovinné buňky byly významně náchylnější k léčbě erastinem než některé rakovinné kmenové buňky [49,61].

Buňky pacientů s vysokogradovým serózním ovariálním karcinomem jsou doprovázeny poklesem exprese ferroportinu a zvýšením exprese TFR1 v železovém výfukovém čerpadle, což vede k nadměrnému hromadění železa v buňce a zvýšení závislosti na železe. V důsledku toho zvýšení odtoku železa a erastin inhibují metastázu a proliferaci ovariální rakoviny, přičemž účinky jsou inhibovány Fer-1 a deferoxaminem mesylátem [66].

5.7 Role ferroptózy v hepatocelulárním karcinomu

HCC (hepatocelulární karcinom) je nejběžnější primární hepatocelulární karcinom, s nejrychleji rostoucí incidencí ze všech rakovin. Původně se předpokládalo, že sorafenib inhibuje různé onkogenní kinázy, které vyvolávají ferroptózu v HCC. Tento účinek je výrazně inhibován deferoxaminem, který vyčerpává intracelulární zásoby železa [66].

Hlavní regulační mediátory, které zprostředkovávají ferroptotickou odpověď v buňkách HCC, jsou identifikovány jako System x_c^- a GPX4. Multikinázový inhibitor sorafenib je konvenčním lékem první linie chemoterapie používaným k léčbě pokročilého HCC. Jako inhibitor System x_c^- je Sorafenib jediný protinádorový lék, který způsobuje ferroptózu u pacientů s HCC. I když chemická rezistence omezuje jeho účinnost, stále může zlepšit míru přežití pacientů. Zajímavé je, že inhibice ferroptózy může být obvykle detekována, jakmile dojde k rezistenci na sorafenib. Rezistence buněk hepatocelulárního karcinomu na chemoterapeutické látky, jako je sorafenib, zahrnuje abnormální expresi několika transkripčních faktorů, jako jsou NRF2, retinoblastomový protein a hepatocytární jaderný faktor 4 α [61,66].

NRF2 funguje blokováním vyčerpání GSH zprostředkovaného lipidovou peroxidací v buňkách HCC a hraje klíčovou roli v ochraně těchto buněk před ferroptózou vyvolanou sorafenibem. Stav NRF2 je klíčovým určujícím faktorem účinku terapie cílené na osu System xc-GSH/GPX4 v HCC, a proto je nezbytné zlepšit účinnost inhibicí exprese NRF2. NRF2 také čelí ferroptóze vyvolané sorafenibem tím, že zvyšuje exprese genů metabolismu železa a reaktivních kyslíkových druhů, jako je HO-1, prostřednictvím dráhy P62-KEAP1-NRF2. Metallothionein-1G (MT-1G), klíčový negativní regulátor ferroptózy, je významným regulátorem a slibným terapeutickým cílem pro rezistenci na sorafenib v lidských HCC buňkách. Sorafenib významně vyvolává exprese mRNA a proteinů MT-1G, a aktivace NRF2 je zásadní pro exprese MT-1G indukovanou po léčbě sorafenibem. Inhibice MT-1G zvýšila protinádorovou aktivitu sorafenibu in vitro a v modelech nádorových xenograftů, přičemž vyřazení MT-1G pomocí RNA interference zvýšilo ferroptózu způsobenou sorafenibem [65,66, 68].

5.8 Ferroptóza v rakovině plic

Rakovina plic je maligní nádor s nejrychlejším nárůstem morbidity a mortality. Je největší hrozbou pro zdraví a život obyvatelstva. Tři hlavní mechanismy léků cílí na indukci ferroptózy v buňkách rakoviny plic. Prvním cílením je na inhibici xc- systému za účelem omezení příjmu cystinu a indukování akumulace ROS, jako je malomolekulární sloučenina erastin a sulfasalazin. Ferroptózu lze indukovat v plicní rakovině zvýšením hladiny volného železa, typicky cisplatinou, změnou poměru železného regulačního proteinu/železného odpovědního elementu za účelem regulace železného homeostázy dihydroartemisininu a cystein desulfurázy, který oklamá buňky plicní rakoviny, aby absorbovaly a uvolňovaly velké množství železa. Erastin činí buňky rakoviny plic citlivější na cisplatinu, což následně spouští ferroptózu a může zlepšit terapeutický účinek a zvýšit míru přežití pacientů s rakovinou plic léčených inhibitory receptoru epidermálního růstového faktoru tyrosinkinázovými inhibitory [56,67].

5.9 Ferroptóza jako strategie k překonání lékové rezistence u rakoviny

Rezistence rakovinných buněk na chemoterapii je hlavním problémem v léčbě rakoviny. Neúčinná indukce buněčné smrti je jedním z rysů, které sdílí většina chemoterapeutických léků. Protože ferroptóza je zcela odlišný proces buněčné smrti od apoptózy, mohou ferroptotická činidla představovat slibnou strategii k překonání neefektivity chemoterapeutických léků vyvolávajících apoptózu při indukci buněčné smrti. Byly učiněny pokusy prozkoumat aplikaci indukovaní ferroptózy při překonávání rezistence rakovinných buněk na léky [60].

5.10 Ferroptóza a neurodegenerativní onemocnění

Železo je nejhodnější přechodný kov v mozku. V centrální nervové soustavě se může železo účastnit kritických funkcí, včetně energetického přenosu mitochondrií, enzymatické katalýzy, funkce mitochondrií, myelinizace, synaptické plasticity a syntézy a rozkladu neurotransmiterů. Hemoencefalická bariéra přijímá železo prostřednictvím transferinu na endotelových buňkách mozkových kapilár a poté jej přenáší do cytoplazmy mozku prostřednictvím astrocytů nebo prostřednictvím proteinu navazujícího kationty a udržuje v mozku železo v přibližně saturovaném stabilním stavu, čímž udržuje normální fyziologickou funkci nervového systému [61,62].

Ferroptóza je hlavním faktorem smrti neuronů u onemocnění, jako jsou Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba a Huntingtonova choroba. Ve zvířecích modelech stárnutí a neurodegenerativních onemocnění a ve studiích lidské anatomie bylo zjištěno, že hladiny železa v mozku se zvyšují v různé míře, a bylo uznáno, že tento nárůst může vést k ferroptóze závislé na věku. A studie také zjistily, že chronická expozice železa u myší způsobila poruchu funkce membránově transportních proteinů a intracelulární homeostázy železa a vedla k výraznému zvýšení ROS a volného radikálu malondialdehydu, což nakonec vedlo k dysfunkci neuronů a gliových buněk, a dokonce i ke ztrátě neuronů. Obsah železa v nervech může hrát klíčovou roli v souvislosti neurodegenerativních onemocnění s ferroptózou [62,63].

Tabulka 4: Ferroptóza a její vliv na neurologické poruchy. Převzato a upraveno z [61].

| | |
|--|--|
| Model Alzheimerovy choroby (AD) | Indukovat smrt neuronů a ztrátu paměti |
| Míchané mozkové řezy potkanů v oblasti kortikostriatu | Vyvolat oxidační destrukci PUFA |
| Cuprizonový model | Vybavit ztrátu oligodendrocytů a demyelinizaci |
| <i>In vivo</i> model TBI/model myši s TBI | Vyvolat zánět a smrt neuronů |
| Model tranzitorní cerebrální ischemie | Vyvolat smrt neuronů |
| Model potkanů pro diabetes typu 1 | Vyvolat kognitivní dysfunkce |
| Lundovy humánní mezencefalické buňky/model myši s Parkinsonovou chorobou | Indukovat smrt dopaminergních buněk |
| Mitochondrie | Zmenšení mitochondrií se zvýšenou hustotou mitochondriální membrány, redukce objemu mitochondrií, vymizení mitochondriálních krist, rupturu vnější mitochondriální membrány. |

5.11 Ferroptóza v Parkinsonově nemoci

Parkinsonova nemoc, také nazývaná paralýza agitans, je druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění na světě. Je charakteristická úbytkem neuronů v substantia nigra pars compacta, která reguluje motorické funkce. Parkinsonova nemoc způsobuje klinické příznaky, jako jsou klidové třesy, rigidita, bradykineze, posturální nestabilita a další motorické příznaky. Základní mechanismus však není zcela jasný a stále neexistují účinné léčby Parkinsonovy nemoci. Bylo však zjištěno, že pacienti trpí deplecí GSH, zvýšením ROS a lipidovou peroxidací. Těžký řetězec ferritinu 1 (FTH1, *ferritin heavy chain 1*), hlavní bílkovina pro ukládání železa, může ovlivnit intracelulární metabolismus železa a následně vyvolat ferroptózu. Jako důležitá bílkovina související s ferroptózou je FTH1 diferencovaně exprimována u potkanů s tímto onemocněním ve srovnání s normálními potkany. Nadměrná produkce FTH1 může snížit účinek ferroptózy v buňkách spojených s Parkinsonovou chorobou. To naznačuje, že ferroptóza může být používána jako terapeutický cíl pro Parkinsonovu chorobu [56,60].

5.12 Ferroptóza v Huntingtonově chorobě

Huntingtonova choroba (HD) je autozomálně dominantní, pozdně začínající a smrtelná neurodegenerativní porucha, která je způsobena abnormálními CAG repetice v genu huntingtinu. Je charakterizována vysoce selektivním poškozením striatu, což vede k pohybům podobným tanci, progresivní demenci a dystonii. Pacienti s HD vykazují vyšší úroveň lipidové peroxidace v plazmě a nižší úroveň GSH. Oxidační stres a lipidová peroxidace jsou důležité mechanismy vedoucí k ferroptóze [51,64].

Spojitosť mezi hepcidinem a regulací železa byla poprvé popsána v roce 2001. Následné studie ukázaly, že hepcidin může ovlivňovat ferroptózu prostřednictvím regulace metabolismu železa. Na jedné straně může podporovat rozvoj ferroptózy, na druhé straně ji může inhibovat, například degradací ferroportinu, čímž brání účinku erastinu. Z těchto poznatků vyplývá, že hepcidin by mohl mít terapeutický potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění, včetně Huntingtonovy choroby (HD), což poukazuje na možnou souvislost mezi ferroptózou a tímto onemocněním. [56, 65].

5.13 Ferroptóza v Alzheimerově chorobě

Alzheimerova choroba (AD) patří mezi nejčastější neurodegenerativní choroby na celém světě. Patologické rysy AD zahrnují cerebrální atrofii, intraneuronální akumulaci hyperfosforylovaného tau proteinu v neurofibrilárních spleteních, extracelulární depozici amyloidu- β v senilních plakách, oxidační stres, chronický zánět a ztrátu neuronů a synapsí. Existují důkazy, že nadbytek železa a porucha homeostázy mohou vést k neurodegeneraci AD. Zvýšení obsahu železa v mozku u pacientů s AD bylo potvrzeno v mnoha studiích. Když je regulace železa v mozku u pacientů s AD narušena, nadbytek Fe^{2+} může nejen produkovat hydroxylové radikály ve Fentonově reakci, ale také vyvolat neurozánět, což vede k oxidačnímu stresu a neurodegeneraci mediované ferroptózou [60,69].

Bylo zjištěno, že zvýšení hladiny lehkého řetězce ferritinu je spojeno se snížením hladiny GPX4 u AD, což ukazuje, že dysfunkční ferritin sníží antioxidační kapacitu mozku a hladina glutathionu se u pacientů s AD sníží. Zvýšená exprese lehké podjednotky (xCT) v buňkách pacientů s AD a xCT může být regulována nahoru pomocí NRF2. Současně mohou být tyto příznaky zlepšeny inhibitory ferroptózy, což poskytuje základ pro spojení mezi AD a ferroptózou. U pacientů s AD způsobují NADPH oxidázy 4 lipidovou peroxidaci a podporují ferroptózu astrocytů skrze poškození mitochondriálního metabolismu v AD. Tyto studie

ukázaly, že ferroptóza hraje důležitou roli v AD, přičemž se na ní podílí řada regulačních faktorů a poskytují mnoho potenciálních terapeutických cílů pro léčbu AD [51,69].

5.14 Ferroptóza v ischemických a reperfučních zraněních

Nový způsob buněčné smrti, ferroptóza, poskytuje nové cesty k pochopení a léčbě mnoha nemocí. Výzkum poranění ischemického reperfučního onemocnění byl prováděn v mnoha orgánech, včetně srdce, mozku, ledvin a jater. Bylo zjištěno, že inhibitory ferroptózy úspěšně zabránily nebo snížily poranění v různých orgánech. Ferroptóza je klíčovým faktorem pro poranění ischemicko reperfuční a selhání orgánů. Inhibice ferroptózy se může stát účinnou léčebnou strategií pro příbuzné organické nemoci a pomůže snížit buněčnou smrt během reperfučního poranění. Bylo zjištěno, že ferroptóza se vyskytuje během reperfučního období, a ne během ischemického období v modelech poškození. Reperfúze ischemické tkáně způsobuje nadměrné množství ROS, které zprostředkovávají poškození. Poškození ischemicko reperfuční je doprovázeno několika buněčnými událostmi, jako je nadměrná ROS související s reperfúzí doprovázená peroxidací lipidů a zvýšení intracelulární koncentrace železa. Peroxidace lipidů a ROS vedou k poškození buněk a smrti. Tyto buněčné události jsou v souladu s projevem ferroptózy závislé na železe, kterou lze předejít pomocí chelatorů železa [70,71].

6. ZÁVĚR

Ferroptóza představuje specifický a od ostatních forem buněčné smrti odlišný mechanismus, který je charakteristický závislostí na železu a akumulací lipidových peroxidů. Od svého objevení v roce 2012 se stala předmětem intenzivního výzkumu, a to zejména díky své úloze v patofyziologii celé řady onemocnění – včetně nádorových, neurodegenerativních, metabolických i kardiovaskulárních poruch. Klíčovými prvky v regulaci ferroptózy jsou antioxidantní systém glutathion–GPX4, systém pro transport cystinu (system xc-), metabolismus železa a mitochondriální funkce.

Vzhledem k tomu, že ferroptóza může hrát dvojí roli – na jedné straně přispívat k poškození tkání, na straně druhé fungovat jako terapeutický nástroj k eliminaci patologických buněk, např. v nádorové tkáni – se stává atraktivním cílem pro vývoj nových léčebných strategií. Některé látky schopné modulovat ferroptózu jsou již testovány v preklinických i klinických studiích.

Přestože byly během posledních let učiněny významné pokroky v porozumění tomuto procesu, zůstává řada otázek nezodpovězených – zejména s ohledem na přesnou roli ferroptózy v lidských onemocněních, její interakce s dalšími typy buněčné smrti a bezpečnost její terapeutické modulace. Další výzkum v této oblasti je tedy nejen opodstatněný, ale i nezbytný pro plné využití potenciálu, který ferroptóza v medicíně nabízí.

7. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] H. WYLLIE, ANDREW and G.H. BOURNE. Cell Death. Online. In: *Cytology and Cell Physiology (Fourth Edition)*. Copyright, 2014, s. 755-785. ISBN 978-0-08-091882-2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091882-2.50024-5>.
- [2] DAVID L. VAUX and STANLEY J. KORSMEYER. Cell Death in Development. Online. *REVIEW*. 1999, č. 2, s. 1-4. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80564-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80564-4).
- [3] L. E. GERSCHENSON and R.J.ROTELLO. Apoptosis: a different type of cell death. Online. *The FASEB Journal*. 1992, č. 7, s. 2450-2453. ISSN 0892-6638. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1096/fasebj.6.7.1563596>.
- [4] JOHN C. REED. Mechanisms of Apoptosis. Online. *The American Journal of Pathology*. 2010, č. 5, s. 1415-1430. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64779-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64779-7).
- [5] L' Apoptosi. Online. *Antinea's Notes*. 2013. Dostupné také z: <https://chiarana.blogspot.com/2013/03/l-apoptosi.html>.
- [6] SERGEY Y PROSKURYAKOV, ANATOLI G KONOPLAYNNIKOV and VLADIMIR L GABAI. Necrosis: a specific form of programmed cell death? Online. *Experimental Cell Research*. 2003, č. 1, s. 1-16. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(02\)00027-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0014-4827(02)00027-7).
- [7] GOLSTEIN, PIERRE a KROEMER, GUIDO. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. Online. *Trends in Biochemical Sciences*. 2006, roč. 1, č. 32, s. 37-43. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.11.001>.
- [8] SYNTICHAKI, POPI a TAVERNARAKIS, NEKTARIOS. Death by necrosis: Uncontrollable catastrophe, or is there order behind the chaos? Online. *EMBO reports*. 2002, s. 604-609. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/embo-reports/kvf138>.
- [9] Cellular necrosis. Online. *B. Cellular pathology*. 2006. Dostupné také z: <https://www.humphath.com/spip.php?article8794>.
- [10] WEN ZHOU a, JUNYUNG YUAN. SnapShot: Necroptosis. Online. *Cell*. 2014, č. 2, s. 464. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.041>.

- [11] NEWTON, KIM a MANNING, GERARD. Necroptosis and Inflammation. Online. *Annual Review of Biochemistry*. 2016, roč. 85, s. 734-763. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014830>.
- [12] LIESELOTTE VANDE WALLE and MOHAMED LAMKANFI. Pyroptosis. Online. *Current Biology Magazine*. 2016, č. 13, s. 568-572. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.02.019>.
- [13] NOBORU MIZUSHIMA. Autophagy: process and function. Online. *Genes & Development*. 2007. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/gad.1599207>.
- [14] DANIEL J. KLIONSKY. Autophagy. Online. *Current Biology*. 2005, č. 8, s. 282-283. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.04.013>.
- [15] TANIDA, ISEI. Autophagy basics. Online. *Microbiology and Immunology*. 2010, roč. 55, č. 1, s. 1-11. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2010.00271.x>.
- [16] M. FRISCH, STEVEN a A. SCRETON, ROBERT. Anoikis mechanisms. Online. *Current opinion in cell biology*. 2001, č. 5, s. 555-562. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0955-0674\(00\)00251-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0955-0674(00)00251-9).
- [17] VALENTIJN, A.J.; ZOUQ, N. a GILMORE, A.P. ANOIKIS. Online. *Biochemical society transactions*. 2004, roč. 32, č. 3, s. 421-425. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1042/bst0320421>.
- [18] KAVČIČ, NEŽKA; PEGAN, KATARINA a TURK, BORIS. Lysosomes in programmed cell death pathways: from initiators to amplifiers. Online. *Biological chemistry*. 2017, roč. 398, č. 3, s. 289-301. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1515/hsz-2016-0252>.
- [19] JÄÄTTELÄ, MARJA a AITS, SONJA. Lysosomal cell death at a glance. Online. *Cell Science*. 2013, roč. 126, č. 9, s. 1905-1912. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1242/jcs.091181>.
- [20] GUICCIARDI, MARIA EUGENIA; LEIST, MARCEL a GORES, GREGORY J. Lysosomes in cell death. Online. *Oncogene*. 2024, s. 2881-2890. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207512>.

- [21] W. KROEMER, G.; MELINO, G.; NAGATA, S; KNIGHT, R.A.; PETER, M.E et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. Online. *Cell Death & Differentiation*. 2005, s. 1463–1467. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401724>.
- [22] W. CHOI, DENNIS. Excitotoxic cell death. Online. *Journal of Neurobiology*. 1992, roč. 23, č. 9, s. 1261-1276. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/neu.480230915>.
- [23] DECLERCQ, WIM; ECKHART, LEOPOLD; LIPPENS, SASKIA a TSCHACHLER, ERWIN. Cell death by cornification. Online. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2013, roč. 1833, č. 12, s. 3471-3480. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.06.010>.
- [24] CANDI, ELEONORA; KNIGHT, RICHARD A; PANATTA, EMANUELE; SMIRNOV, ARTEM a MELINO, GERRY. Cornification of the Skin: A Non-apoptotic Cell Death Mechanism. Online. *Wiley*. 2016. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0021583.pub2>.
- [25] OVERHOLTZER, MICHAEL; SUN, QIANG; KRAJCOVIC, MATEJ a FLOREY, OLIVER. Entosis. Online. *Quick guide*. 2010, roč. 20, č. 3, s. 88-89. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.11.020>.
- [26] OVERHOLTZER, M.; FLOREY, O. a KIM, S.E. Entosis: Cell-in-Cell Formation that Kills Through Entotic Cell Death. Online. 2015, roč. 15, č. 9, s. 861–866. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.2174/1566524015666151026100042>.
- [27] MLYNARCZUK-BIALY, IZABELA; , Agnieszka Sarnecka; SARNECKA, AGNIESZKA; PLATOS, EMILIA; KOWALCZYK, MAGDALENA et al. Entosis: From Cell Biology to Clinical Cancer Pathology. Online. *Cancers*. 2020, roč. 12, č. 9, s. 2481. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cancers12092481>.
- [28] KROEMER, GUIDO; CASTEDO, MARIA; PERFETTINI, JEAN-LUC; ROUMIER, THOMAS; ANDREAU, KARINE et al. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition. Online. *Oncogene*. 2004, s. 2825–2837. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207528>.
- [29] VAKIFAHMETOGLU, H; OLSSON, M a ZHIVOTOVSKY, B. Death through a tragedy: mitotic catastrophe. Online. *Cell Death & Differentiation*. 2008, s. 1153-1162. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/cdd.2008.47>.

- [30] SAZONOVA, ELENA V.; PETRICHUK, SVETLANA V.; KOPEINA, GELINA S. a ZHIVOTOVSKY, BORIS. A link between mitotic defects and mitotic catastrophe: detection and cell fate. Online. *Biology Direct*. 2021, roč. 12, č. 25. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13062-021-00313-7>.
- [31] KROEMER, GUIDO a TANG, DAOLIN. Ferroptosis. Online. *Current Biology*. 2020, roč. 21, č. 30, s. 1292-1297. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.068>.
- [32] STOCKWELL, BRENT. R a HIRSCHHORN, TAL. The development of the concept of ferroptosis. Online. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019, č. 133, s. 130-143. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.043>.
- [33] WANG, SHENGMEI; XIA, XINHUA; ZHOU, LILI a GUO, QIUYAN. Ferroptosis: A double-edged sword. Online. *Cell Death Discovery*. 2024, č. 265, s. 265. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41420-024-02037-9>.
- [34] DAOLIN TANG and GUIDO KROEMER. Ferroptosis. Online. *Current Biology*. 2020, č. 21, s. 1292-1297. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.068>.
- [35] DIXON, S.J. a CAO, J.Y. Mechanisms of ferroptosis. Online. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016, č. 73, s. 2195–2209. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00018-016-2194-1>.
- [36] WANG, JIANXUN; XU, TAO; DING, WEI; JI, XIAOYU; AO, XIANG et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and its role in cancer therapy. Online. *Journal of Cellular and Molecular medicine*. 2019, roč. 8, č. 23. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jcmm.14511>.
- [37] POLTORACK, CARSON a DIXON, SCOTT J. Understanding the role of cysteine in ferroptosis: progress & paradoxes. Online. *The FEBS JOURNAL*. 2022, roč. 2, č. 289, s. 374-385. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/febs.15842>.
- [38] ROVERI, ANTONELLA; CONRAD, MARCUS; INGOLD, IRINA; BERNDT, CARSTEN; SCHMITT, SABINE et al. Selenium Utilization by GPX4 Is Required to Prevent Hydroperoxide-Induced Ferroptosis. Online. 2018, roč. 172, č. 3, s. 409-422. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.048>.
- [39] RAMASAMY, RAVICHANDRAN; GAO, MINGHUI; MONIAN, PRASHANT; QUADRI, NOSIRUDEEN a JIANG, XUEJUN. Glutaminolysis and Transferrin Regulate

Ferroptosis. Online. *Molecular cell*. 2015, roč. 2, č. 59, s. 298-308. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.06.011>.

[40] Xavier R. Chapa-Dubocq; CHAPA-DUBOCQ, XAVIER R.; AYALA-ARROYO, ESTEBAN; CHAVES-NEGRÓN, IVANA; JANG, SEHWAN et al. Effects of Ferroptosis on the Metabolome in Cardiac Cells: The Role of Glutaminolysis. Online. *Antioxidants*. 2022, roč. 11, č. 2, s. 278. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox11020278>.

[41] CHEN, XIN; KANG, RUI; KROEMER, GUIDO a TANG, DAOLIN. Organelle-specific regulation of ferroptosis. Online. *Cell death differ*. 2021, s. 2843-2856. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41418-021-00859-z>.

[42] RUIZ, JIMENA; MORTENSEN, MICHAEL S. a WATSS, JENNIFER L. Polyunsaturated Fatty Acids Drive Lipid Peroxidation during Ferroptosis. Online. *Cells*. 2023. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cells12050804>.

[43] LEE, JI-YOON; KIM, WON KON; BAE, KWANG-HEE; LEE, SANG CHUL a LEE, WUN-WOO. Lipid Metabolism and Ferroptosis. Online. *Biology*. 2021, roč. 3, č. 10, s. 184. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/biology10030184>.

[44] YU, HAITAO Gang Chen; WANG, YI a CHEN, CANG. Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumourous diseases. Online. *Journal of Cellular and Molecular medicine*. 2017, roč. 21, č. 4, s. 648-657. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jcmm.13008>.

[45] GAO, MINGHUI; MONIAN, PRASHANT; PAN, QIUHUI; XIANG, JENNY a JIANG, XUEJUN. Ferroptosis is an autophagic cell death process. Online. *Cell Research*. 2016, roč. 26, s. 1021-1032. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/cr.2016.95>.

[46] XIE, SAIYANG; DENG, WEI a FANG, WENXI. Ferroptosis mechanisms and regulations in cardiovascular diseases in the past, present, and future. Online. *Cell Biology and Toxicology*. 2024, roč. 40, č. 17. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10565-024-09853-w>

[47] ZHU, JIAJUN; GAO, MINGHUI; YI, JUNMEY; MONIAN, PRASHANT; THOMPSON, CRAIG B. et al. Role of Mitochondria in Ferroptosis. Online. *Molecular cell*. 2018, roč. 2, č. 73, s. 354-363. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.10.042>.

[48] JAVADOV, SABZALI. Mitochondria and ferroptosis. Online. *Current Opinion in Physiology*. Č. 25. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cophys.2022.100483>.

- [49] ZHAO, YONGXIN; WANG, HAI; LIU, CAN a GAO, GE. Mitochondria regulation in ferroptosis. Online. *European Journal of Cell Biology*. Roč. 1, č. 99. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2019.151058>.
- [50] GUO, JIACHAO; CHI, RUIMIN; PENG, YAWEN; SUN, KAI; LIU, HAIGANG et al. The Role and Interactive Mechanism of Endoplasmic Reticulum Stress and Ferroptosis in Musculoskeletal Disorders. Online. *Biomolecules*. 2024, roč. 4, č. 11, s. 1369. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/biom14111369>.
- [51] WANG, JIANXUN; XU, TAO; DING, WEI; JI, XIAOYU; AO, XIANG et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and its role in cancer therapy. Online. *Journal of Cellular and Molecular medicine*. 2019, roč. 8, č. 23, s. 4900-4912. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jcmm.14511>.
- [52] MA, TIAYNU; DU, JINGTONG; ZHANG, YUFENG; WANG, YUYAO; WANG, BINGXUAN et al. GPX4-independent ferroptosis—a new strategy in disease’s therapy. Online. *Cell Death Discovery*. 2022, roč. 8, č. 434. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41420-022-01212-0>.
- [53] JIANG, YULANG a SUN, MINGYU. GSH and Ferroptosis: Side-by-Side Partners in the Fight against Tumors. Online. *Antioxidants*. 2024, roč. 6, č. 13, s. 697. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox13060697>.
- [54] ZHANG, WANGZHEQI; LIU, YANG; LIAO, YAN; ZHU, CHENGLONG a ZOU, ZUI. GPX4, ferroptosis, and diseases. Online. *Biomedicine a Pharmacotherapy*. 2024, č. 174. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116512>.
- [55] KAJARABILLE, NAROA. Programmed Cell-Death by Ferroptosis: Antioxidants as Mitigators. Online. *Molecular sciences*. 2019, roč. 20, č. 19, s. 4968. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms20194968>.
- [56] LIU, MAN-RU; ZHU, WEN-TAO a PEI, DONG-SHENG. System Xc⁻: a key regulatory target of ferroptosis in cancer. Online. *Investigational New Drugs*. 2021, č. 39, s. 1123-1131. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10637-021-01070-0>.
- [57] JIAO, FENG; LONG, HUI-ZHI; ZHOU, ZI-WEI; LUO, HONG-YU; XU, SHUO-GUO et al. System Xc⁻/GSH/GPX4 axis: An important antioxidant system for the ferroptosis in drug-resistant solid tumor therapy. Online. *Sec. Pharmacology of Anti-Cancer Drugs*. 2022, č. 13. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fphar.2022.910292>.

- [58] LI, JING; JIA, BOWEN; CHENG, YING; SONG, YITING; LI, QIANQIAN et al. Oxidative medicine and cellular longevity. Online. *Targeting Molecular Mediators of Ferroptosis and Oxidative Stress for Neurological Disorders*. 2022. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2022/3999083>.
- [59] YU, YI; YAN, YUAN; NIU, FANGLIN; WANG, YAJUN; CHEN, XUEYI et al. Ferroptosis: a cell death connecting oxidative stress, inflammation and cardiovascular diseases. Online. *Cell Death Discovery*. 2021, č. 193. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41420-021-00579-w>.
- [60] MIAO, HUIKAI; REN, QIANNAN; LI, HONGMU; ZENG, MINGYUE; XU, CHUNMEI et al. Comprehensive analysis of the autophagy-dependent ferroptosis-related gene FANCD2 in lung adenocarcinoma. Online. *BMC cancer*. 2022, roč. 22, č. 225. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12885-022-09314-9>.
- [61] SONG, XIAOHUA a LONG, DINGXIN. Nrf2 and Ferroptosis: A New Research Direction for Neurodegenerative Diseases. Online. *Sec. Neurodegeneration*. 2020, č. 14. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00267>.
- [62] XU, QING; ZHAO, JIE; ZHOU, LIN; XU, YUNFEI; QIAO, HAODUO et al. The role of ferroptosis in neurodegenerative diseases. Online. *Molecular biology reports*. 2023, roč. 50, s. 1655-1661. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11033-022-08048-y>.
- [63] OLIANA REICHERT, CADIELE; DE FREITAS, FÁBIO; SAMPAIO-SILVA, JULIANA; ROKITA-ROSA, LEONARDO; DE LIMA BARROS, PRISCILA et al. Ferroptosis Mechanisms Involved in Neurodegenerative Diseases. Online. *International journal of molecular sciences*. 2020, roč. 21, č. 22, s. 8765. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms21228765>.
- [64] XIE, Y; HOU, W; SING, X; YU, Y; HUANG, J et al. Ferroptosis: process and function. Online. *Cell Death & Differentiation*. 2016, č. 23, s. 369-379. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/cdd.2015.158>.
- [65] MI, YAJING; GAO, XINGCHUN; XU, HAO; CUI, YUANYUAN; ZHANG, YUELIN et al. The Emerging Roles of Ferroptosis in Huntington's Disease. Online. *NeuroMolecular Medicine*. 2019, č. 21, s. 110-119. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12017-018-8518-6>.

- [66] ZHAO, LEI; XIE, FENG; ZHANG, LEI; YAN, HAIYAN; HUANG, JUN et al. Ferroptosis in cancer and cancer immunotherapy. Online. *Cancer communication*. 2022, roč. 42, č. 2, s. 88-116. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cac2.12250>.
- [67] WU, SIKAI; ZHU, CHENGCHU; TANG, DAOLIN; DOU, Q.PING; SHEN, JIANFEI et al. The role of ferroptosis in lung cancer. Online. *Biomarker research*. 2021, roč. 9, č. 82. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s40364-021-00338-0>.
- [68] CAPELLETTI, MARTINA MARIA; MANCEAU, HANA; PUY, HERVE a PEOCH, KATELL. Ferroptosis in Liver Diseases: An Overview. Online. *International journal of molecular sciences*. 2020, roč. 21, č. 14, s. 4908. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms21144908>.
- [69] SHI, QIANG; FENG, LINA; SUN, JINGYI; XIA, LING; HOU, YAJUN et al. Ferroptosis mechanism and Alzheimer's disease. Online. *Neural Regeneration Research*. 2024, roč. 19, č. 8, s. 1741-1750. Dostupné z: <https://doi.org/DOI: 10.4103/1673-5374.389362>.
- [70] LI, XINYE; MA, NING; XU, JUPING; ZHANG, YANCHI; YANG, PAN et al. Targeting Ferroptosis: Pathological Mechanism and Treatment of Ischemia-Reperfusion Injury. Online. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2021/1587922>.
- [71] CHEN, YUNQING; TANG, GUANMIN; WANG, SHIJUN a ZHAI, CHANGLIN. Ferroptosis: A Novel Therapeutic Target for Ischemia-Reperfusion Injury. Online. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fcell.2021.688605>.