

## Souhrn

Redukčním enzymům byla dlouhou dobu věnována pouze malá pozornost, ale dnes už je jasné, že jsou významnou součástí endogenního metabolismu a také první fáze biotransformace xenobiotik. Důležitou skupinou redukčních enzymů jsou karbonylreduktasy, které se řadí do dvou nadrodin - dehydrogenasy/reduktasy s krátkým řetězcem (SDR) a aldo-ketoreduktasy (AKR). Jejich role v nádorovém onemocnění je dnes intenzivně studována a lze říct, že jejich působení v nádorovém onemocnění lze principiálně rozdělit do dvou oblastí.

Bylo zjištěno, že významnou roli hrají karbonylreduktasy v hormon-dependentních nádorových onemocněních prsu, endometria a prostaty. Pro tyto nádory jsou růstovými faktory aktivní estrogény respektive androgeny, dochází tak ke zvýšenému dělení buňky a tedy i zvýšené možnosti vzniku mutací v důležitých genech, které mohou vyústit v nádorové bujení. Právě karbonylreduktasy se spolu s dalšími enzymy (jako např. aromatasou) podílí na vzniku aktivních pohlavních hormonů, proto může být jejich inhibice důležitým cílem léčby tohoto typu nádorů. Nicméně je nutné určit, které enzymy jsou klíčové pro tvorbu těchto růstových faktorů v jednotlivých typech hormon-dependentních nádorů. Vedle hormon-dependentních nádorů se karbonylreduktasy uplatňují také u nádorových onemocnění, kde hormony jako růstové faktory nepůsobí. Tato oblast je ještě méně prozkoumána než oblast hormon-dependentních nádorů a ucelenější informace se zde teprve začínají objevovat. Bylo prokázáno, že vedle metabolismu estrogenů a androgenů se enzym AKR1C3 podílí také na metabolismu prostaglandinů a dává vznik takovým typům, které zasahují do buněčné signalizace tak, že dochází ke zvýšení proliferace buňky. Vedle toho se karbonylreduktasy také účastní metabolismu kyseliny retinové, která je nezbytná jak pro správný embryonální vývoj, tak pro diferenciaci buněk u dospělých. Její hladina je velice pečlivě udržovaná, na jejím metabolismu se podílí celá řada enzymů včetně redukčních retinoldehydrogenas. Všechny změny v expresi enzymů podílejících se na tomto metabolismu mohou vést ke snížení koncentrace kyseliny retinové, následné dediferenciaci buněk a nádorovému zvratu. Mimo retinoldehydrogenas z SDR nadrodiny se uvažuje také v tomto mechanismu o roli AKR1B10.

Druhým mechanismem, kterým karbonylreduktasy zasahují do nádorového onemocnění je jejich podíl na první fázi biotransformace karcinogenních látek a protinádorových léčiv.

Různé enzymy redukující karbonylové skupiny se podílí na deaktivaci nejsilnějšího tabák-specifického karcinogenu NNK a také aktivované formy aflatoxinu B1 (aflatoxinB1-dihydrodiolu), čímž naopak brání vzniku nádorů indukovaných těmito karcinogeny. Vedle toho se karbonylreduktasy také podílí na biotransformaci

Souhrn

protinádorových léčiv, jako jsou klinicky užívaná cytostatika doxorubicin a daunorubicin a potenciální protinádorová léčiva oracin a benfluron. Redukce karbonylové skupiny zde způsobuje deaktivaci léčiv a může být také zodpovědná za rezistenci nádorových buněk na léčbu doxorubicinem a daunorubicinem.

Cíl této práce se dá rozdělit na dvě části, stejně tak jako mechanismus působení karbonylreduktas lze rozdělit do dvou částí. Cílem první části je nalezení silného a selektivního inhibitoru, ze skupiny flavonoidů, enzymu AKR1C3, který pravděpodobně hraje významnou roli v rozvoji hormon-dependentních nádorů prostaty a prsu. V druhé části je cílem purifikace a charakterizace nové mikrosomální karbonylreduktasy, která se podílí na metabolismu protinádorového léčiva oracinu a pravděpodobně i dalších léčiv. Cíle obou částí

se nám podařilo splnit a výsledky tak přispěly ke znalostem obou mechanismů působení karbonylreduktas v nádorovém onemocnění.

Podařilo se nalézt silný inhibitor enzymu AKR1C3 2'-hydroxyflavanon, který má velmi nízkou hodnotu  $IC_{50} = 300$  nM. Navíc je tato látka z AKR1C enzymů selektivní pouze k AKR1C3 a díky těmto skutečnostem může být potenciálně klinicky využitelná při léčbě hormondependentních

nádorů prostaty a prsu. Navíc bylo zjištěno, že 7-hydroxyflavanon daleko silněji inhibuje AKR1C1 než AKR1C3. Hodnota  $IC_{50} = 75$  nM pro AKR1C1 ukazuje na to, že tato látka může být potenciálně využita v léčbě hormon-dependentního nádoru endometria, kde hraje AKR1C1 důležitou roli. Vedle toho jsme výrazně purifikovali novou mikrosomální karbonylreduktasu, která se účastní metabolismu oracinu a pravděpodobně i dalších léčiv. Pro redukci oracinu tímto novým enzymem byly stanoveny kinetické parametry a jejich porovnáním s ostatními oracin redukujícími enzymy se ukázalo, že tato nová mikrosomální karbonylreduktasa bude hrát v metabolismu oracinu velice významnou roli. S největší pravděpodobností se bude také účastnit metabolismu dalších příbuzných karbonylových xenobiotik např. protinádorových léčiv doxorubicinu a daunorubicinu a potenciálně tak přispívat k rezistenci nádorových buněk na jejich léčbu. Tato práce přináší naprosto nové poznatky, protože zatím jedinou mikrosomální karbonylreduktasou, která se podílí na metabolismu xenobiotik je 11 $\alpha$ -HSD1. Z těchto všech důvodů je nezbytné v budoucnu tento enzym izolovat a identifikovat pomocí hmotnostní spektrometrie.