

## Abstrakt

Fotodynamická terapie (PDT) je terapeutický prostředek používaný při léčbě nádorů. Tato metoda je založena na aplikaci fotosenzitivní látky, která se hromadí v nádorových buňkách a po ozáření světlem způsobuje jejich usmrcení. Hlavním cílem této disertační práce bylo studium nových fotosenzitivních látek - porfyrinů s glykolovou substitucí. Porfyriny obsahující jeden až čtyři nízkomolekulární glykolové řetězce vázané éterovou vazbou v pozici meta na meso-tetrafenylporfyrin (mTPP(EG)1-4) byly porovnány s fluorinovanými (pTPPF(EG)4) a nefluorinovanými (pTPP(EG)4) deriváty majícími glykolový řetězec v para pozici. Vstup do buněk a fotodynamická aktivita byly výrazně závislé na koncových skupinách glykolových substituentů. Porfyriny s hydroxyglykolovou substitucí, na rozdíl od porfyrinů s methoxyglykolovou substitucí, byly účinněji transportovány do buněk a způsobovaly hojně apoptózu v nádorových buňkách *in vitro*. Po počátečním otestování byly vybrány a detailně analyzovány prototypy hydroxy etylenglykolových derivátů. Para deriváty pTPP(EG)4 a pTPPF(EG)4 se akumulují především v lysozomech, zatímco meta deriváty mTPP(EG)1-4 v endoplazmatickém retikulu (ER). Pozice etylenglykolového řetězce na porfyrinovém kruhu má vliv nejen na nitrobuněčnou lokalizaci ale i na účinnost fotodynamické terapie *in vivo*. PDT zprostředkovaná meta deriváty vedla u NuNu myši k úplnému vymizení nádorů (lidský karcinom prsu MDA-MB-231). Po fotoaktivaci oba typy derivátů indukují smrt nádorových buněk pomocí reaktivních druhů kyslíku (reactive oxygen species, ROS). Para deriváty pTPP(EG)4 a pTPPF(EG)4 aktivují p38 MAP kinázovou signální kaskádu, která následně spustí mitochondriální apoptickou dráhu. Na rozdíl od para derivátů, meta derivát porfyrinu mTPP(EG)4 vyvolává dramatické změny homeostázy  $Ca^{2+}$  projevující se zvýšenou hladinou  $Ca^{2+}$  v cytoplazmě, aktivací kalpainů a stresových kaspáz - 12 nebo -4. Stres endoplazmatického retikula vede k rozvoji tzv. unfolded protein response (UPR), jejíž součástí je PERK signální dráha aktivovaná fosforylací PERK, eIF2 $\alpha$ . Následně jsou indukovány transkripční faktory ATF4 a CHOP, které regulují geny odpovídající na stresové podněty. Úlohu PERK dráhy v mTPP(EG)4-zprostředkované buněčné smrti potvrzují pokusy, kdy vyřazení (knockdown) genu PERK nebo jeho utlumení chrání buňky před apoptózou.

Výsledky získané analýzou mechanismu buněčné smrti navozené PDT jasně dokládají, že mTPP(EG)4 představuje nový fotosenzitizér s lokalizací mimo mitochondrie, který má schopnost velmi účinně aktivovat apoptózu v rakoviných buňkách. Navíc je při odstranění experimentálních nádorů výrazně účinnější než klinicky používaný Foscan. Předkládaná práce tak ukazuje zajímavý způsob, jak dále vyvíjet fotosenzitizéry pro budoucí použití v klinické praxi.