

## **ABSTRAKT (CZ)**

Na základě slibných výsledků s protirakovinně působícím analogem vitamínu E bez redoxní aktivity  $\alpha$ -tokoferyl sukcinátem ( $\alpha$ -TOS) jsme připravili jeho mitochondriálně cílený derivát MitoVES, a to připojením skupiny TPP<sup>+</sup> k mateřské látce. Testovali jsme hypotézu, podle které by cílení látky přímo do jejího místa působení, mitochondrií, mělo zvýšit její protirakovinný účinek a vést k efektivnější protirakovinné látce s možností nižších účinných dávek.

Prokázali jsme, že MitoVES je vysoce efektivní protirakovinná látka, mnohonásobně účinnější než necílený  $\alpha$ -TOS, a to *in vitro* i *in vivo*. Protirakovinné působení látky MitoVES je zajištěno jeho interakcí s komplexem II (CII) ve vazebném místě pro ubichinon (Q<sub>p</sub>), čímž dojde k narušení funkce CII. MitoVES zde způsobí přerušování toku elektronů a následnou zvýšenou produkci reaktivních forem kyslíku (ROS), které poté indukují apoptózu. K té dochází mitochondriální drahou, a to preferenčně zapojením proapoptického proteinu Bak, který způsobí permeabilizaci vnější mitochondriální membrány.

Z našich výsledků dále vyplývá, že pro apoptotickou funkci látky MitoVES je důležité jeho mitochondriální zacílení na základě vyššího mitochondriálního potenciálu ( $\Delta\Psi$ ). Tato vlastnost zajišťuje, že MitoVES je selektivní pro rakovinné buňky, které mají vyšší  $\Delta\Psi$  než buňky normální a také, jak jsme zjistili, proliferující endoteliální buňky disponují vyšším  $\Delta\Psi$  než endoteliální buňky jejichž růst je zastaven. Z tohoto důvodu je MitoVES účinný také pro inhibici angiogeneze v rostoucím nádoru.

Mutagenese Q<sub>p</sub> místa CII potvrdila interakci látky MitoVES s tímto místem a dále prokázala důležitost produkce ROS pro účinné vyvolání buněčné smrti, protože mutace v Q<sub>p</sub> místě vedly k rezistenci k látce MitoVES. Toto se odrazilo v nižší účinnosti potlačení respirace přes CII, nižší produkci ROS a následné buněčné smrti. Zjistili jsme, že další inhibitor CII působící v Q<sub>p</sub> místě, TTFA, inhibuje CII s jinou účinností než MitoVES, protože buňky s mutací S68A byly TTFA inhibovány více než ostatní mutanty a buňky bez mutace v Q<sub>p</sub> místě. I v tomto případě účinnost inhibice CII korelovala s rozsahem buněčné smrti. Zajímavým poznatkem také je, že vysoce účinný inhibitor Q<sub>p</sub> místa CII, atpenin A5, nevyvolal produkci ROS ani buněčnou smrt. Prokázali jsme, že toto je způsobeno rychlým nahromaděním sukcinátu, jenž zabraňuje produkci ROS z CII.

Tato práce ukázala, že MitoVES může být nadějným protirakovinným lékem a jako jeho cíl působení definovala mitochondriální CII. Dále, na základě studií s buňkami s mutacemi v Q<sub>p</sub> místě CII byla zjištěna přímá korelace mezi účinností inhibice Q<sub>p</sub> místa CII, následnou produkcí ROS a tím vyvolanou buněčnou smrtí za podmínky, kdy nedochází k nárůstu množství sukcinátu uvnitř buňky.