

Cukrzyca stała się w ostatnich latach poważnym problemem zdrowotnym ludzi na całym świecie. Według danych IDF (International Diabetes Federation) w 2015 roku liczba chorych na cukrzycę w wieku 20-79 lat wynosiła ok. 450 mln, z tego 193 mln to osoby niezdiagnozowane. W ubiegłym roku z powodu cukrzycy zmarło ok. 5 mln osób. IDF szacuje, że jeśli ten wzrost nie zostanie zatrzymany, to w 2040 roku liczba chorych wzrośnie do 642 mln.

Lekiem pierwszego rzutu w leczeniu cukrzycy typu 2 jest metformina, którą charakteryzuje wielokierunkowe działanie - oprócz działania hipoglikemizującego korzystnie wpływa na profil lipidowy osocza oraz wykazuje działanie profibrynolityczne. Jednak, jak wskazują dane literaturowe, dokładny mechanizm oddziaływania na układ krzepnięcia i fibrynolizy nie został w pełni poznany. Pomimo szeregu pozytywnych właściwości farmakologicznych metforminę charakteryzują niekorzystne właściwości farmakokinetyczne oraz duża zmienność osobnicza związana z polimorfizmem genetycznym przenośników odpowiedzialnych za transport tego leku w organizmie. W związku z tym, w celu poprawy właściwości fizykochemicznych oraz farmakokinetycznych metforminy, zespół K. Huttunen z University of Eastern Finland zsyntetyzował szereg proleków.

Celem proponowanego projektu jest utworzenie modelu wielokierunkowej oceny biozgodności nowych proleków metforminy ze szczególnym uwzględnieniem hemostazy osoczowej, płytkowej i naczyniowej. **Badania dotyczące hemostazy osoczowej** będą polegały m.in. na określeniu wpływu 9 proleków metforminy na ogólny potencjał hemostazy (OHP), parametry kinetyczne procesu tworzenia skrzepu i fibrynolizy (CL-test), zewnątrz- i wewnątrzpochodny układ krzepnięcia, stężenie fibrynogenu, aktywność trombiny i plazminy oraz szeregu czynników krzepnięcia, a także ekspresję czynnika tkankowego (TF). Badania te prowadzone będą na osoczu ludzkim z wykorzystaniem technik spektrofotometrycznych, optycznych oraz immunohistochemicznych. W celu określenia wpływu proleków metforminy na **płytki krwi** (materiał biologiczny – osocze bogatopłytkowe) zostaną przeprowadzone następujące badania: aktywność, agregacja oraz adhezja płytek krwi z wykorzystaniem cytometrii przepływowej oraz metod spektrofotometrycznych. Badania dotyczące **hemostazy naczyniowej** prowadzone będą na modelu komórkowym i obejmą ocenę integralności komórek śródbłonka, apoptozę komórek, uwalnianie t-PA oraz czynnika von Willebranda z komórek śródbłonka naczyniowego oraz ekspresję ICAM-1 (cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1) na powierzchni komórek śródbłonka za pomocą metod immunochemicznych oraz cytometrii przepływowej.

W ramach niniejszego projektu planowane jest także zweryfikowanie hipotezy badawczej, czy w transporcie komórkowym zsyntetyzowanych proleków biorą udział przenośniki z grupy OCT (Organic Cation Transporters) i MATE (Multidrug And Toxin Extrusion proteins) co pozwoli określić rolę tych przenośników w transporcie komórkowym proleków. Badania te będą przeprowadzone na modelu komórkowym z wykorzystaniem techniki PCR (Polymerase Chain Reaction). W ramach tej grupy badań zostanie także ocenione powinowactwo proleków do poszczególnych podtypów przenośników oraz kinetyka procesu wychwytu komórkowego proleków.

Ponadto, na podstawie uzyskanych wyników badań *in vitro* oraz ustalenia zależności pomiędzy budową a aktywnością planowane jest zaprojektowanie oraz synteza nowej generacji proleków metforminy o korzystnych właściwościach biologicznych oraz farmakokinetycznych. **Struktura nowych proleków** uzyskanych w wyniku klasycznych metod syntezy, oczyszczonych oraz analizowanych za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) będzie potwierdzona metodami spektroskopowymi oraz analizą elementarną. **Właściwości fizykochemiczne oraz farmaceutyczne** takie jak: wartość pKa, rozpuszczalność w wodzie, lipofilowość (log P/D), wiązanie z białkami osocza oraz stabilność związków w roztworach o różnym pH i w różnej temperaturze będzie określona za pomocą standardowych technik stosowanych w analizie farmaceutycznej (HPLC, UV-VIS, MS). Proces biokonwersji zsyntetyzowanych proleków do formy aktywnej (metformina) będzie prowadzony na ludzkich i mysich subfrakcjach komórkowych.

Realizacja prezentowanego projektu pozwoli na wskazanie molekularnych celów potencjalnej farmakoterapii oraz określenie biozgodności proleków w kontekście wykorzystania ich jako terapeutyków. Ponadto projekt ten może również odegrać rolę w podnoszeniu świadomości społecznej na temat występowania, zapobiegania oraz leczenia chorób o podłożu metabolicznym, w tym cukrzycy.