

Celem projektu jest zbadanie wpływu gazowych mediatorów śródbłonna, **tlenku azotu (NO)**, **tlenku węgla (CO)** oraz **siarkowodoru (H₂S)** na układy **porfirynowe** w różnych układach biologicznych pochodzenia ludzkiego i zwierzęcego (model myszy). Szczególny nacisk zostanie położony na interpretację tworzenia się **połączeń pomiędzy żelazem zawartym w hemoglobinie czerwonych krwinek a NO, CO i H₂S**, czyli powstałych **adduktów Hb-X**. Głównym założeniem projektu jest prowadzenie badań na układach *ex vivo* (pełna krew i izolowane ludzkie erytrocyty, a także izolowane mysie komórki Kupffera) oraz *in vitro* (linia komórek mysich makrofagów) przy możliwie maksymalnym ograniczeniu eksperymentów na związkach standardowych. Zastosowane metody badawcze (rezonansowa spektroskopia ramanowska oraz spektrofotometria UV-Vis) pozwolą na dogłębną analizę zmian zachodzących zarówno na poziomie molekularnym, jak i w nieco większej, makroskopowej skali danego układu. Wszystkie pomiary wykonywane będą w kontrolowanych warunkach temperatury oraz pH, by możliwie jak najbliżej imitować środowisko fizjologiczne.

Rezonansowa spektroskopia ramanowska (z ang. *Resonance Raman Spectroscopy*, RRS) jest techniką spektroskopii oscylacyjnej, której atutem w kontekście badań biologicznych jest możliwość prowadzenia pomiarów w roztworach wodnych, jak również niemal całkowite bezpieczeństwo mierzonych układów. Dodatkowo, dzięki unikatowej właściwości RRS, polegającej na wzmocnieniu otrzymywanego sygnału z różnych części molekuly w zależności od długości linii zastosowanego promieniowania laserowego, możliwa jest bardziej szczegółowa analiza molekularna założonych w projekcie oddziaływań.

Spektrofotometria UV-Vis odznacza się łatwością i dużą szybkością wykonywanych pomiarów. Widma absorpcyjne układów hemoporfirynowych w zakresie 300 – 700 nm odznaczają się charakterystycznymi pasmami (pasmem Soreta w zakresie 400 – 440nm oraz pasmami Q w regionie 500 – 600nm) których położenie, dokładna ilość a nawet stosunki intensywności pozwalają na szczegółową interpretację zmian na poziomie molekularnym m. in. stopnia utlenienia czy obecności ligandów w pozycjach aksjalnych jonu żelaza w porfirynach.

Wyżej przedstawione zagadnienia zostały głównie przebadane w oparciu o związki standardowe. Techniki badawcze zaproponowane do wykorzystania w projekcie pozwolą na prowadzenie badań na układach biologicznych bez niebezpieczeństwa ich uszkodzenia czy zmian wywołanych samą metodyką. Dzięki przystawce do pomiarów fizjologicznych, która zapewnia pełną kontrolę nad warunkami pomiarowymi, takimi jak temperatura czy stężenie tlenu (hipoksja/normoksja), metoda RRS doskonale nadaje się na prowadzenie przyżyciowych badań *in vitro* i *ex vivo*. Połączenie wyników obydwu spektroskopowych technik pozwoli więc na **analizę molekularną oddziaływań pomiędzy hemoglobiną a NO, CO oraz H₂S w układach biologicznych *in vitro* i *ex vivo* oraz na identyfikację i rozróżnienie tworzących się adduktów Hb-X.**