

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Reaktywne formy tlenu (RFT), w tym tlen singletowy, powstają w komórkach w efekcie naturalnie zachodzących procesów metabolicznych. Ponadto, różne rodzaje RFT mogą być generowane przez czynniki egzogenne, m.in. palenie tytoniu, spożycie dużych ilości tłuszczów bogatych w nasycone kwasy tłuszczowe lub wzrost tempa oddychania podczas wzmożonego wysiłku fizycznego. W prawidłowej komórce naturalnym stanem jest równowaga między powstawaniem RFT i ich usuwaniem przez sprawnie działający system antyoksydacyjny (*antioxidant defense system*), którego działanie mogą wspomagać przeciwutleniacze, np. witamina C i E. Zachwianie równowagi między powstawaniem i usuwaniem RFT w kierunku reakcji utleniania, określane jest mianem stresu oksydacyjnego, który wywiera niekorzystne efekty na funkcjonowanie komórek. Bardzo dobrze udokumentowana jest rola RFT w patogenezie chorób cywilizacyjnych, m.in. cukrzycy, nadciśnienia, miażdżycy, jak również w indukowaniu zaburzeń neurodegeneracyjnych, w tym choroby Parkinsona, Alzheimerera czy stwardnienia rozsianego. Wiele różnorodnych testów umożliwia ocenę efektów działania RFT na wybrane komponenty i kompartmenty komórkowe, która opiera się na detekcji wybranych biomarkerów stresu oksydacyjnego, np. aldehydu malonowego czy modyfikacji grup tiolowych w białkach. Pomimo wysokiej czułości, żaden z dostępnych testów nie pozwala na dynamiczne monitorowanie poziomu wewnątrzkomórkowych RFT i ich lokalizacji w komórce.

Analiza powyższa możliwa jest dzięki zastosowaniu sond fluorescencyjnych, które w formie zredukowanej charakteryzuje niska intensywność fluorescencji, natomiast ich utlenienie wywołuje jej znaczący wzrost. Flawiny są przykładem takich cząsteczek. Są one obecne w komórkach, gdzie uczestniczą w licznych procesach biologicznych dzięki unikalnej kombinacji ich właściwości redukująco utleniających i optycznych.

Flawiny są obiecującymi kandydatami na fluorescencyjne sondy, redoks ponieważ mogą być odwracalnie „przełączane” pomiędzy zredukowaną, nieaktywną ("wyłączoną") formą i formą utlenioną ("włączoną") w naturalnym środowisku komórek.

Postawiliśmy hipotezę, że poprzez odpowiednią modyfikację można je racjonalnie zoptymalizować w celu uzyskania związków o wysokiej fluorescencji (dla opracowania fluorescencyjnych sond redoks), jak i takich, które dobrze sensybilizują tlen singletowego (dla opracowania potencjalnych leków w terapii fotodynamicznej).

Dostępne fluorescencyjne sondy redoks, ze względu na zmieniające się warunki inkubacji (pH, temperatura, skład chemiczny) nie są dogodnym narzędziem w dynamicznej ocenie zarówno wewnątrzkomórkowych RFT, jak i analizowanych w układach modelowych. Niniejszy projekt wychodzi naprzeciw temu zapotrzebowaniu, gdyż jego nadrzędnym celem jest projektowanie, synteza i charakterystyka sond fluorescencyjnych opartych na pochodnych flawinowych. Atutem projektu jest doświadczenie Autorów w tego typu projektowaniu, co potwierdzają wstępne wyniki badań, również z wykorzystaniem komórek ludzkich w warunkach *in vitro*. Uzyskane w ramach projektu sondy redoks umożliwią precyzyjne przyżyciowe dynamiczne monitorowanie poziomu RFT w komórce i jej środowisku, dzięki zastosowaniu zaawansowanych technik mikroskopowych, cytometrii przepływowej oraz zaawansowanym metodom spektrofotometrycznym. Ponadto, pochodne flawinowe będą wykorzystane nie tylko jako narzędzia do monitorowania poziomu RFT w obecności referencyjnych antyoksydantów, ale także jako generatory tlenu singletowego.

Zestawienie wyników badań przyżyciowych z rezultatami standardowych testów do oceny biomarkerów stresu oksydacyjnego, umożliwi kompleksową charakterystykę efektów działania RFT na komórkę. Jednymi z najbardziej narażonych na działanie RFT komórek są erythrocyty ludzkie, ze względu na funkcje transporterów tlenu. Porównanie wyników analiz uzyskanych dla erythrocytów ludzkich oraz wybranych linii komórkowych umożliwi kompleksową ocenę RFT w różnych typach komórek i w różnych warunkach inkubacji. Niniejszy projekt obejmuje zagadnienia znajdujące się w centrum uwagi fotochemii, chemii produktów naturalnych oraz biologii komórkowej i molekularnej, zarówno w obszarze badań eksperymentalnych, jak i teoretycznych.