

STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE

Aptamery to krótkie fragmenty DNA lub RNA charakteryzujące się wysoką stabilnością i specyficznością względem swoich ligandów. Aptamery, nazywane chemicznymi przeciwciałami, są syntetyzowane w procesie SELEX (ang. *Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment*). Zsyntetyzowane sekwencje mogą być skierowane na wychwyt: białek, toksyn, antybiotyków, markerów molekularnych, metali ciężkich, jonów a nawet komórek. Niewielkie rozmiary syntetycznych oligonukleotydów oraz ich jednoniciowa budowa umożliwiają im przyjęcie konformacji dopasowanej do liganda, a to zapewnia ścisłe łączenie się z epitopem docelowej cząsteczki. Ponadto, istnieje możliwość kontroli efektów ich działania i neutralizacji poprzez interakcje z komplementarnymi nićmi oligonukleotydów, co sprawia, że aptamery zyskują zainteresowanie w zastosowaniach terapeutycznych i diagnostycznych. Ich wybór jako narzędzi do badania mechanizmów biologicznych jak i cząsteczek sensorycznych jest w pełni uzasadniony.

Nazwy i sekwencje aptamerów wybranych do badań to: HD1, HD22 i ARC1172. W toku prowadzonych badań aptamery wykorzystane są jako narzędzia do badania mechanizmów rządzących rozwojem patologii prozakrzepowych zależnych od czynności płytek krwi i erytrocytów (RBC, ang. *Red Blood Cells*). Badania obejmują również próbę opracowania przepływowego aptasensora do detekcji i określenia zmian stężenia czynnika von Willebranda (vWF; aptamer ARC1172) i trombiny (aptamery: HD1 i HD22) w osoczu lub krwi.

Aptamery HD1 i HD22 to pierwsze sekwencje oligonukleotydowe specyficznie oddziałujące z *exosite I* i *exosite II* trombiny. HD1 jest oligonukleotydem zbudowanym z 15-tu nukleotydów, a podstawą interakcji z trombiną jest jego struktura kwadрупolowa. Natomiast HD22, 29-cio nukleotydowa nić, formuje się w strukturę dupleksowo-kwadрупolową. Dodatkowym czynnikiem ułatwiającym interakcje aptamerów z *exosite I* i *exosite II* trombiny jest fakt, że cząsteczki aptameru obdarzone są ładunkiem ujemnym zaś oba miejsca wiązania w cząsteczce trombiny są naładowane dodatnio. Oba aptamerom przypisano właściwości hamujące aktywność enzymatyczną trombiny. Aptamer ARC1172 jest 41-merowym aptamerem skierowanym na domenę A1 czynnika von Willebranda. Wykazano jego antagonistyczne działanie względem czynnika von Willebranda. Jego interakcja z domeną A1 powoduje zablokowanie oddziaływania domeny GPIIb/IIIa płytkowego receptora GPIIb-IX-V z czynnikiem von Willebranda, co może ograniczać adhezję płytek krwi do ściany naczynia oraz częściowo hamować ich agregację.

Ocena funkcjonalnego stanu układu zakrzepowego może być istotna dla określenia stopnia rozwoju patologii układu krążenia, co może korelować ze stopniem rozwoju chorób takich jak: miażdżycy, żylna choroba zakrzepowo-zatorowa (VTE, ang. *Venous Thromboembolism*), choroby nowotworowe jak i anemia sierpowata (SCD, ang. *Sickle Cell Disease*), którą pierwotnie wiąże się z upośledzeniem funkcji erytrocytów.

Trombina, będąca kluczowym enzymem kaskady krzepnięcia, sprzyja rozwojowi blaszki miażdżycowej, a tym samym zwiększa ryzyko incydentów zakrzepowo-zatorowych. Może również stymulować proliferację komórek śródbłonna naczyniowego i komórek nowotworowych oraz sprzyjać interakcjom komórka nowotworowa-płytką krwi, co wspomaga proces przerzutowania nowotworu. Ponadto, jednym z identyfikowanych czynników ryzyka występowania VTE wśród pacjentów onkologicznych jest stan hiperkoagulacji, który wynika ze zwiększonej generacji trombiny.

vWF wspomaga proces adhezji płytek krwi do ściany naczynia poprzez oddziaływanie z płytkową glikoproteiną GPIIb-IX-V. Uwalniany jest on do krwi z komórek śródbłonna w odpowiedzi na działanie wysokich sił ścinających działających na ścianę naczynia w wyniku przepływającej przez niego krwi. Jego multimerowa struktura jest wtedy w pełni rozwinięta i cięta przez enzym ADAMTS13 do postaci rozpuszczalnych monomerów. Ponadto, vWF uwalniany jest także w procesie degranulacji płytek krwi po ich aktywacji przez agonistów. Istnieją dowody wskazujące, że niektóre komórki nowotworowe na swojej powierzchni posiadają receptory specyficzne dla tego białka oraz uwalniają go do krwioobiegu, co skutkuje wzmożoną przerzutowością.

Co ciekawe, badania wskazują, że erytrocyty są aktywne biologicznie w przebiegu procesu krzepnięcia i oddziałują zarówno z trombiną jak i vWF. RBC mogą wspomagać proces generacji trombiny, aktywować czynniki krzepnięcia, adherować do ściany naczynia z udziałem czynnika vWF oraz stabilizować zakrzep bezpośrednio oddziałując z płytkami krwi.

Dlatego też uzasadnione jest poszukiwanie układów będących jednocześnie wysoce specyficznymi narzędziami farmakologicznymi i czułymi narzędziami diagnostycznymi umożliwiającymi także badania mechanizmów rozwoju patologii.

Pełna aktywacja procesów krzepnięcia krwi przebiega w naczyniach w warunkach przepływowych. Zaawansowane urządzenia mikroprzepływowe są doskonałym narzędziem do badania mechanizmów prowadzących do rozwoju patologii jak również nowych leków. Stanowią platformy rozszerzające i wspomagające tradycyjne badania z wykorzystaniem linii komórkowych w wysokim stopniu odzwierciedlając warunki fizjologiczne naczyń. Ponadto, badania prowadzone są w zminiaturyzowanej skali, co zmniejsza ilość niezbędnych odczynników i próbek.