

### **Kardiotoksyczność antracyklin - wpływ jonów metali na właściwości annamycyny i doksorubicyny**

Antracykliny, takie jak doksorubicyna (DOX), należą do jednych z najskuteczniejszych leków przeciwnowotworowych, jednak ich zastosowanie kliniczne ogranicza ciężka kardiotoksyczność, prowadząca do trwałego uszkodzenia mięśnia sercowego. Głównym mechanizmem działania DOX jest hamowanie topoizomerazy II (Top2 $\alpha$  i Top2 $\beta$ ), lecz najnowsze dane sugerują, że toksyczność sercowa — tradycyjnie przypisywana aktywności izoformy Top2 $\beta$  w kardiomiocytach — może nie być wyłącznie zależna od tego szlaku. Co istotne, Annamycyna (ANN), nowy analog DOX (obecnie w fazie 3 badań klinicznych), wykazuje istotnie niższy potencjał lub brak kardiotoksyczności potwierdzony klinicznie, mimo że jest silniejszym inhibitorem Top2 $\beta$  niż DOX. Taki paradoksalny efekt wskazuje na potencjalny udział alternatywnych mechanizmów uszkodzenia serca, w tym stresu oksydacyjnego indukowanego przez redoks-aktywne kompleksy lek-metal.

Antracykliny są dobrze udokumentowane pod względem zdolności do tworzenia kompleksów z jonami metali przejściowych — przede wszystkim Fe<sup>3+</sup> — co prowadzi do generacji reaktywnych form tlenu (ROS) i w konsekwencji do nasilonego stresu oksydacyjnego, szczególnie w kardiomiocytach o wysokim zapotrzebowaniu energetycznym i ograniczonych mechanizmach antyoksydacyjnych. Chociaż rola żelaza w tym mechanizmie została szeroko opisana, wpływ innych jonów, takich jak Cu<sup>2+</sup> i Zn<sup>2+</sup>, pozostaje słabo scharakteryzowany, mimo że ich właściwości biochemiczne sugerują potencjalne znaczenie w modulowaniu toksyczności antracyklin. Wybór tych trzech jonów opiera się na ich zróżnicowanych, lecz komplementarnych mechanizmach działania: Fe<sup>3+</sup> i Cu<sup>2+</sup> uczestniczą w reakcjach redoks (w tym Fentona i Haber-Weissa), intensyfikując produkcję ROS, natomiast Zn<sup>2+</sup>, choć redoks-nieaktywny, pełni kluczową rolę w regulacji odpowiedzi na stres oksydacyjny oraz stabilizacji białek o funkcjach antyoksydacyjnych i naprawczych. W kontekście narastających wątpliwości co do centralnej roli topoizomerazy II $\beta$  oraz rosnącej liczby danych wskazujących na istotny udział mechanizmów oksydacyjnych w kardiotoksyczności antracyklin, istnieje uzasadniona potrzeba ponownej, pogłębionej analizy udziału jonów metali w tym procesie.

W projekcie zaplanowano cztery komplementarne moduły badawcze: (1) fizykochemiczną charakterystykę kompleksów Annamycyna-Fe<sup>3+</sup>/Cu<sup>2+</sup>/Zn<sup>2+</sup> w porównaniu z odpowiednimi kompleksami DOX, (2) chemoinformatyczne modelowanie konformacji, powinowactwa i właściwości redoks kompleksów i wolnych związków, (3) Porównawcze testy biologiczne *in vitro* na ludzkich kardiomiocytach (linie AC10 i AC16), oraz (4) zastosowanie zarodków i larw *Danio rerio* jako modelu *in vitro* o wysokiej przepustowości i wartości predykcyjnej. W panelu fizykochemicznym projektu wykorzystane zostaną zaawansowane techniki analityczne, takie jak spektroskopia UV-Vis, FT-IR i Raman (w tym rezonansowa), dyfrakcja rentgenowska oraz modelowanie kwantowo-mechaniczne (DFT), umożliwiające szczegółową charakterystykę strukturalną i redoks kompleksów antracyklin z jonami metali. W modelach biologicznych zostaną ocenione: cytotoksyczność, migracja komórek, ekspresja białek związanych z apoptozą i ferroptozą, poziomy ROS oraz morfologia i funkcja serca w modelu zebrafish w warunkach kontrolnych oraz po ekspozycji na jony metali. W części biologicznej projektu zastosowane zostaną testy służące do oceny cytotoksyczności antracyklin (MTT, XTT, CCK-8), analiza ekspresji białek metodą Western blot, analiza ROS metodą Elisa oraz cyfrowa ocena cech morfologicznych i czynności serca zarodków i larw *Danio rerio* z użyciem oprogramowania DanioScope.

Efektom projektu będzie identyfikacja mechanizmów odpowiedzialnych za zróżnicowaną kardiotoksyczność antracyklin oraz szczegółowe określenie natury kompleksów ANN and DOX z wybranymi jonami metali i ich wpływu na właściwości redoks. Uzyskane wyniki posłużą do lepszego zrozumienia zależności między strukturą a toksycznością wybranych antracyklin oraz stworzą podstawy do projektowania związków o korzystniejszym indeksie terapeutycznym.

Projekt ma charakter multidyscyplinarnej współpracy integrującej doświadczenia zespołów naukowych z różnych dziedzin: chemików i fizyków z Politechniki Białostockiej, specjalistów z dziedziny farmakologii i toksykologii z Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz światowej klasy eksperta w dziedzinie chemii medycznej – prof. Waldemara Priebe z University of Texas MD Anderson Cancer Center w Houston, odkrywcy Annamycyny. Tak szerokie zaplecze eksperckie zapewnia kompleksowe ujęcie problemu badawczego, łącząc precyzyjne podejście fizykochemiczne z biologiczną walidacją mechanizmów działania antracyklin.