

## STRESZCZENIE

PROJEKTOWANIE, SYNTEZA I BADANIE AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ PEPTYDÓW O WŁAŚCIWOŚCIACH PRO-REGENERACYJNYCH I NEUROPROTEKCYJNYCH

mgr Izabela Załuska

Regeneracja czyli odradzanie się komórek, tkanek czy narządów w następstwie urazowego lub chorobowego uszkodzenia to proces niezwykle złożony i obejmuje procesy naprawcze, wyrównawcze i przystosowawcze. Mają one na celu zminimalizowanie skutków tych zaburzeń i przystosować organizm do funkcjonowania w nowych warunkach. Zjawiska takie jak regeneracja, kompensacja i adaptacja ustroju odgrywają kluczową rolę w tym procesie. Naprawa uszkodzonych tkanek wymaga aktywacji komórek w ich obrębie, syntezy cytokin umożliwiających komunikację pomiędzy komórkami i ich interakcje ze składowymi macierzy pozakomórkowej ECM (ang. *extracellular matrix*), a także syntezy enzymów umożliwiających degradację uszkodzonych składowych ECM. W ostatnim etapie gojenia zaktywowane komórki syntetyzują białka niezbędne do odbudowy uszkodzonej tkanki i enzymy zaangażowane w jej przebudowę.

Celem farmakologicznej stymulacji regeneracji jest pobudzenie zdolności organizmu do regeneracji. Liczne grupy związków chemicznych aktywują szereg procesów metabolicznych w organizmie. Koncept „samo-naprawy” ustroju indukowany przez małowcząsteczkowe związki wydaje się być prostym i szybkim rozwiązaniem na ograniczone możliwości regeneracyjne organizmu. Działanie to może zwiększyć aktywację komórek progenitorowych, czyli tkankowo-specyficznych komórek macierzystych w naprawie uszkodzeń tkanek i narządów.

Zmiany w tkance mózgowej wywołane niedokrwieniem (udar) prowadzą do obumierania neuronów, co powoduje upośledzenie funkcjonowania mózgu (w skrajnym wypadku do śmierci), jak również pozostałych systemów organizmu przez niego kontrolowanych (np. układu ruchowego). Zmiany te po upływie kilku godzin stają się nieodwracalne. Obecnie intensywnie poszukiwane są związki o właściwościach neuroprotekcyjnych, potrafiące odwrócić negatywny wpływ czynników biochemicznych związanych z udarem, na komórki mózgowe (głównie neurony). W chorobach neuro-uszkodzeniowych, zachodzi cały szereg jednocześnie lub następczo po sobie działających procesów, których bezpośrednim lub pośrednim efektem jest śmierć komórek nerwowych. Dysregulacja procesów biochemicznych i elektrochemicznych spowodowana uszkodzeniem

przejawia się deprywacją energetyczną, stresem oksydacyjnym oraz acydozą, i w ogólnym przypadku prowadzi do ekscytotoksyczności. Wśród najlepiej rokujących kandydatów są zasadowe peptydy klasy CPP oraz ich alaninowe analogi, a także peptydy zawierające motyw RGD.

W swojej pracy podjęłam się zaprojektowania i zbadania peptydów o właściwościach proregeneracyjnych i neuroprotekcyjnych. Peptydy o potencjalnej aktywności proregeneracyjnej to peptyd AGF9, który posiada charakterystyczny motyw RGD, odpowiadający m.in. za procesy adhezji komórkowej związane z remodelowaniem podczas różnicowania tkanek. Do badań nad procesami regeneracji skóry zaprojektowałam również analogi peptydu AGF9, m.in. peptyd AGF27 wydłużony na N- i C-końcu fragment peptydu AGF9, a także serię peptydów RGD o zwielokrotnionej sekwencji celem sprawdzenia czy motyw RGD jest odpowiedzialny za potencjalne właściwości proregeneracyjne peptydu AGF9. We współpracy z Gdańskim Uniwersytetem Medycznym peptydy zostały poddane badaniom biologicznym tj: cytotoksyczność, proliferacja keratynocytów i fibroblastów, migracja oraz chemotaksja komórek skórnych po stymulacji uzyskanymi przeze mnie związkami.

Kolejnym celem mojej pracy było zaprojektowanie i zbadanie peptydów o właściwościach neuroprotekcyjnych. Do badań *in vitro* skuteczności neuroprotekcyjnej i przeciwuszkodzeniowej wybrałam m.in. serię peptydów i analogów z motywem RGD, peptydy CPP takie jak Tat(49-57)-NH<sub>2</sub> (motyw bogaty w argininę, ARM – ang. arginine-rich motif), będącego fragmentem zasadowego białka Tat HIV-1 i jego mniej zasadowy analog PTD4. W ten sposób zbadalam korelację między strukturą, a aktywnością neuroprotekcijną peptydu Tat(49-57)-NH<sub>2</sub>, którą do tej pory łączono z dużą ilością reszt argininy w sekwencji. W swojej pracy sprawdziłam wpływ zwielokrotnionej sekwencji RGD na właściwości neuroprotekcyjne w wieloczynnikowym modelu uszkodzenia neurologicznego. W badaniach użyto kultur neuronów hipokampa, a jako stresory zastosowano: ekscytotoksyczność (kwas glutaminowy, NMDA, kwas kainowy), niedobór glukozy, zakwaszenie pH 6,35, a jako środki neuroprotekcyjne użyto zsyntezowane peptydy. Peptydy z serii RGD wykazały właściwości ochronne na działanie poszczególnych czynników oraz nie wykazała istotnej toksyczności w badanym modelu.

Uzyskane wyniki w niniejszej rozprawie mają charakter interdyscyplinarny i stanowią podstawę badań nad znalezieniem związków stymulujących proces regeneracji skóry oraz nad zapobieganiem i leczeniem skutków udaru mózgu.