

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Praca doktorska: „Oddziaływanie jonów cynku i miedzi z wybranymi peptydami przeciwdrobnoustrojowymi”

W ostatnich latach problem oporności przeciwdrobnoustrojowej stał się jednym z poważniejszych globalnych zagrożeń związanych ze zdrowiem. Leczenie zakażeń bakteryjnych i grzybiczych, przy użyciu skutecznych do tej pory leków, staje się coraz trudniejszym zadaniem, dlatego konieczne jest poszukiwane są nowych, alternatywnych metod walki z chorobotwórczymi patogenami. Jedną z grup związków, która daje na to nadzieję, są peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. antimicrobial peptides, AMP), których główną zaletą, oprócz skuteczności, jest fakt, że poza nielicznymi wyjątkami, drobnoustroje nie wykazują wobec nich oporności. AMP to niewielkie peptydy stanowiące jeden z elementów nieswoistej odpowiedzi immunologicznej organizmów żywych, należących do wszystkich pięciu królestw. Celem działania AMP mogą być m.in bakterie, grzyby, wirusy czy pasożyty. Można wyróżnić kilka sposobów, w jaki AMP oddziałują na komórki patogenów – tworzenie porów i kanałów błonowych pośredniczących w niszczeniu błony komórkowej, wytwarzanie reaktywnych form tlenu czy inhibicja syntezy ściany komórkowej, kwasów nukleinowych i białek. Aktywność wielu AMP może być zależna od obecności biologicznie istotnych jonów metali takich jak Zn^{2+} i Cu^{2+} . Peptydy wykorzystują je na dwa sposoby: (i) w procesie nazywanym odpornością odżywczą, w którym AMP wiążą jony metali, przez co w komórce znajduje się niewystarczająca, do przeżycia i wirulencji drobnoustrojów, ilość tych mikroelementów, oraz (ii) AMP wykorzystują jony metali do zmiany swoich właściwości fizykochemicznych np. struktury czy ładunku wypadkowego, co umożliwia lub wzmacnia ich aktywność przeciwdrobnoustrojową.

Głównym celem badań przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy było zrozumienie chemii bionieorganicznej kompleksów Zn^{2+} i Cu^{2+} z wybranymi peptydami przeciwdrobnoustrojowymi oraz ocena czy i w jaki sposób obecność jonów metali może warunkować ich działanie przeciwdrobnoustrojowe.

Do badań zostały wybrane 4 grupy AMP: (i) alloferon 1 i alloferon 2, (ii) kalcytermina i jej mutanty, (iii) fragmenty proteolityczne semenogelin i ich wspólny fragment oraz (iv) pochodne

amyliny – amylin szczurza i pramlintyd. Do przeprowadzenia charakterystyki fizykochemicznej i termodynamicznej badanych ligandów i ich kompleksów wykorzystaliśmy szereg metod eksperymentalnych: spektrometrię mas, miareczkowanie potencjometryczne, spektroskopię UV-Vis, spektroskopię CD oraz spektroskopię NMR. Ponadto, we współpracy z dwoma wrocławskimi ośrodkami badawczymi, przeprowadziliśmy badania biologiczne (dr Agnieszka Matera-Witkiewicz, Uniwersytet Medyczny) oraz badania mikroskopii sił atomowych (dr hab. Joanna Olesiak-Bańska, Politechnika Wrocławska).

Dla wszystkich badanych kompleksów wyznaczyliśmy najbardziej prawdopodobne miejsca koordynacji jonów metali. Scharakteryzowaliśmy atomy donorowe w zależności od pH roztworu i określiliśmy geometrię kompleksów miedzi(II). Porównanie trwałości termodynamicznej wszystkich kompleksów badanych AMP pokazało, że najbardziej skutecznymi sposobami koordynacji jonów Zn^{2+} i Cu^{2+} są: (i) histaminowy sposób koordynacji, w którym udział bierze N-końcowa grupa aminowa oraz grupa imidazolowa reszty histydylowej znajdującej się na pierwszej pozycji w sekwencji (ii) koordynacja typu 4N przez wolną grupę aminową i 3 azoty imidazolowe oraz (iii) koordynacja 3N lub 4N przez znajdujące się w niektórych ligandach charakterystyczne motywy (-HXXXH- lub HXH...HH...HH). Dodatkowo wykazaliśmy bardzo wysoką aktywność biologiczną kalcyterminy i jej mutantów, które prawdopodobnie swoje działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze osiągają w wyniku lokalnej zmiany ładunku i/lub struktury, wyklucziliśmy działanie przeciwbakteryjne alloferonów, wykazaliśmy działanie przeciwbakteryjne semenogelin, częściowo warunkowane przez obecność metali oraz wyjaśniliśmy mechanizm działania przeciwgrzybiczego kompleksu Zn^{2+} z pramlintydem, który przez charakterystyczną zmianę w strukturze (zgięcie) inicjuje tworzenie struktur fibrylarnych, które prawdopodobnie niszczą komórkę grzybiczą w sposób przypominający nakłucie igłą. Wykazane działanie przeciwdrobnoustrojowe nie koreluje z trwałością termodynamiczną badanych kompleksów.

W przyszłości peptydy o najlepszych właściwościach przeciwdrobnoustrojowych zostaną zmodyfikowane w taki sposób, aby uwydatnić cechy odpowiedzialne za ich aktywność, a następnie

ponownie scharakteryzowane i wykorzystane jako matryca do potencjalnych nowych leków przeciwdrobnoustrojowych.