

Streszczenie pracy (PL)

Antracykliny to najskuteczniejsze i najważniejsze związki chemiczne stosowane w leczeniu raka. Wśród nich najczęściej stosuje się chlorowoderek doksorubicyny (DOX), chlorowoderek daunorubicyny (DNR), chlorowoderek epirubicyny (EPR) i chlorowoderek idarubicyny (IDR). Indukują apoptozę komórek nowotworowych poprzez wiązanie z kwasem dezoksyrybonukleinowym (DNA). Przy odkrywaniu nowych leków przeciwnowotworowych lub leczeniu raka naukowcy zawsze poszukują leku przeciwnowotworowego o ścisłym połączeniu z DNA. Stałe równowagi (K) interakcji antracykliny-DNA są określane w celu ilościowego określenia, jak silnie antracykliny mogą wiązać się z DNA. Stała asocjacji (K_a) i stała dysocjacji (K_d) to dwa szczególne przypadki K . K_a jest odwrotnością K_d . Im większa wartość K_a , tym mniejsza wartość K_d , tym silniejsze wiązanie leku i odwrotnie. Jednak obecnie istnieje kilka problemów związanych z dokładnym określeniem K .

Przed wszystkim wartości K dla zgłoszonych antracyklin wahają się od 10^4 M^{-1} do 10^8 M^{-1} . W rezultacie występuje błąd 4 rzędu wielkości w określaniu skutecznego stężenia antracykliny w celu utworzenia kompleksów antracyklina-DNA. Druga kwestia to limit wykrywalności. Większość eksperymentów prowadzi się przy stężeniu antracyklin na poziomie mikromolowym. Jednak antracykliny mogą łączyć się ze sobą w tak wysokim stężeniu. Samoagregacja antracyklin może konkurować z interakcjami antracyklina-DNA, prowadząc do zmiany równowagi interakcji antracyklina-DNA. W konsekwencji wartości K interakcji antracyklina-DNA ulegają zmianie. Po trzecie, mechanizmy działania antracyklin są nadal pełne debat. Naukowcy powszechnie przyjęli, że antracykliny reagują z DNA poprzez interkalację. Jednak moje ostatnie doniesienia wykazały dodatkową reakcję zachodzącą między antracyklinami a kompleksami antracyklina-DNA. Reakcja jest zdominowana, gdy ilość antracyklin jest w dużym nadmiarze w stosunku do miejsc wiązania DNA. Wartość K w

takiej reakcji jest o 2 rzędy mniejsza niż w interkalacji. Po czwarte, wpływ stłoczenia makrocząsteczkowego na wartości K . Wcześniej podane wartości K uzyskano w roztworze wodnym. Jednak jądro komórkowe, w którym zachodzą interakcje antracyklina-DNA, jest wypełnione makrocząsteczkami. Stłoczenie makrocząsteczkowe może przesunąć równowagę interakcji antracyklina-DNA i dalej zmienić wartości K . W związku z tym wartości K określone w roztworze wodnym mogą znacznie różnić się od ich wartości z eksperymentów *in vivo*. Ostatnią kwestią jest to, że jest mniej raportów dotyczących wartości K dla analogów DOX: DNR, EPR i IDR. Dlatego zajęliśmy się tymi kwestiami, badając zmiany właściwości fluorescencji antracykliny w interakcjach.

Na początku moich badań wyjaśniłem kwestię autoagregacji antracyklin. Używając technik spektroskopowych UV-Visible (Uv-Vis), odkryłem, że antracykliny nie mają autoagregacji na poziomie mikromolowym (patrz rozdział 2). Następnie wyznaczyłem K dla oddziaływań antracyklina-DNA w skali nanomolowej za pomocą metod analizy spektroskopii korelacji fluorescencji (FCS) i analizy jasności pojedynczych cząsteczek (MB). Ponadto, metodą analizy single-MB, potwierdziłem tworzenie się kompleksów DOX- (DOX-DNA) i wyznaczyłem K dla analogów DOX (patrz rozdział 3). Na koniec opracowałem metodę opartą na fotowysielaniu DOX w celu określenia interakcji K z DOX-DNA w pojedynczych komórkach i omówiłem możliwe przyczyny mniejszego K określanego w komórkach (patrz rozdział 4). W rozdziale 5 podsumowałem całe badanie. W rozdziale 6 przedstawiłem przyszłą pracę, jaką należy wykonać, aby uzyskać dokładniejsze oznaczenie K w komórkach.

Podsumowując, praca ta przedstawia wizję interakcji antracyklina-DNA na poziomie pojedynczej cząsteczki i daje wskazówki dotyczące opracowywania nowych leków i leczenia raka.