

## Streszczenie

Bisretinoidy są produktami ubocznymi powstającymi w cyklu widzenia w wyniku przemian aldehydu witaminy A (*all-trans* retinalu), najważniejszego chromoforu zaangażowanego w fototransdukcję sygnału wzrokowego. Są one formowane w komórkach fotoreceptorów, a następnie przenoszone do nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) na drodze fagocytozy dysków zewnętrznych segmentów fotoreceptorów. Bisretinoidy są gromadzone z wiekiem w komórkach RPE w postaci pigmentu starczego, zwanego lipofuscyną. Wzmoczona lipofuscynogeneza wiązana jest z degeneracjami siatkówki.

Celem niniejszej pracy była analiza właściwości fotofizycznych i fotochemicznych bisretinoidu pirydynowego (A2E) oraz dimeru *all-trans* retinalu (dimer ATR). Te biofizyczne badania miały odpowiedzieć na pytanie, czy analizowane bisretinoidy wykazują aktywność fotochemiczną, która może przyczyniać się do wypadkowej fotoreaktywności pigmentu starczego i chronicznej fototoksyczności występującej w siatkówce oka. Chociaż A2E jest dobrze przebadanym bisretinoidem, literatura naukowa zawiera sprzeczne informacje dotyczące jego fotoreaktywności i fototoksyczności. Aktywność fotochemiczna dimeru ATR była z kolei badana tylko w ograniczonym stopniu. Niektóre doniesienia sugerują potencjalnie większą fotoreaktywność i toksyczność dimeru ATR w porównaniu do A2E. Mechanizmy odpowiedzialne za ten efekt pozostają jednak nieznanne.

Zamierzone badania zrealizowano poprzez syntezę obydwu pochodnych *all-trans* retinalu oraz wykorzystanie zaawansowanych metod pomiarowych takich jak nano-mikrosekundowa laserowa fotoliza błyskowa, czasowo-rozdzielcza fosforescencja tlenu singletowego, pomiary fluorescencji, oznaczanie produktów utlenienia białek z użyciem sondy fluorogennej CBA, znakowanie spinowe i pułapkowanie spinowe EPR, oksymetria EPR, a także sub-mikrosekundowa radioliza impulsowa.

Wyniki przeprowadzonych badań pokazują, że kompleksacja z albuminą zwiększa fotoreaktywność bisretinoidów, na co wskazuje zwiększona fotokonsumpcja tlenu oraz wzmoczona fotoprodukcja wolnych rodników. Dane te sugerują, że fotoreaktywność dimeru ATR zdeterminowana jest procesami wolnorodnikowymi, podczas gdy fotoreaktywność A2E wynika zarówno z fotogenerowania tlenu singletowego, jak i wolnych rodników. Fotoreaktywność A2E i dimeru ATR jest jednak znacząco niższa niż fotoreaktywność prekursora tych związków, *all-trans* retinalu, co może wskazywać na ochronną rolę tworzenia bisretinoidów zarówno w komórkach fotoreceptorowych, jak i w komórkach RPE.

Przeprowadzone badania potwierdzają niską wydajność fotogenerowania wzbudzonego stanu trypletowego obydwu bisretinoidów, co tłumaczy ich małą fotoreaktywność.

Niespodziewanym wynikiem badań było zaobserwowanie transferu energii ze wzbudzonego stanu trypletowego beta-karotenu oraz zeaksantyny na dimer ATR. Sugeruje to, że energia najniższego stanu trypletowego tego bisretinoidu może być porównywalna bądź nawet niższa, aniżeli energia stanów trypletowych karotenoidów. Ten zaskakujący wynik może oznaczać zidentyfikowanie naturalnego związku o wyjątkowo niskiej energii wzbudzonego stanu trypletowego. Dodatkowym celem pracy było zbadanie wpływu dimeru ATR na własności strukturalne modelowej błony fotoreceptorowej. Wykazano, że bisretinoid ten wykazuje stosunkowo niewielki wpływ na uporządkowanie modelowej błony dojrzałych dysków fotoreceptorów. Pozostaje do ustalenia, czy niewielki efekt usztywniający na błonę wpływa na podatność lipidów na peroksydację.



Justyna Furso