

Mgr Maciej Piotr Frant

Lublin, 09.03.2016

Zakład Wirusologii i Immunologii,

Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii,

Wydział Biologii i Biotechnologii,

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

**Ocena aktywności wybranych porfiryn w stosunku do ludzkich komórek raka
jelita grubego w badaniach *in vitro***

(Assessment the activity of selected porphyrins in human colorectal cancer cells
in vitro)

Streszczenie

Stany chorobowe związane z jelitem grubym, w tym głównie nowotwory, stanowią bardzo poważny problem społeczny i ekonomiczny. Rocznie, diagnozuje się na świecie około milion nowych przypadków zachorowań na nowotwory tego narządu. Schorzenie to jest klasyfikowane na świecie na trzecim miejscu pod względem częstości występowania u mężczyzn (660 tyś. przypadków/rok), a drugim u kobiet (570 tyś. przypadków/rok). Według szacunków Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem w Europie (UE) rak jelita grubego jest najczęściej występującym nowotworem, będącym drugą pod względem częstości przyczyną śmierci. Przyczyn rozwoju raka jelita grubego jest wiele. Czynniki takie jak nieprawidłowe odżywianie, brak aktywności fizycznej, otyłość, czynniki zawodowe, obciążenia genetyczne, spożywanie alkoholu, palenie tytoniu, zanieczyszczenie środowiska, infekcje, skłonność do zaparć, czy też wiek, mają negatywny wpływ na strukturę i funkcje jelita, prowadząc do rozwoju nowotworu. Dodatkowo, badania naukowe wskazują, że mediatory stanu zapalnego występujące w mikrośrodku, mogą sprzyjać rozwojowi raka jelita grubego.

W terapii nowotworów jelita grubego bardzo istotna jest zarówno profilaktyka pierwotna jak i wtórna. Rozwój choroby poprzedza niewielkie ognisko dysplastyczne w nabłonku jelitowym. Następnie, dochodzi do stopniowego rozrostu tej zmiany, prowadząc w konsekwencji do gruczolaka, który z czasem nabywa cechy inwazyjności. Wykrycie raka na jak najwcześniejszym etapie rozwoju (profilaktyka wtórna), zwiększa szanse przeżycia pacjenta. W przypadku raka jelita grubego

stosowane są trzy standardowe terapie: interwencja chirurgiczna, chemioterapia i radioterapia, wykorzystywane osobno lub łącznie. Konwencjonalne terapie raka jelita grubego nie dają jednak pełnej gwarancji wyleczenia. Obecnie, w Polsce wyleczalność raka okrężnicy i odbytnicy wynosi zaledwie 30-35%, podczas gdy w ośrodkach zagranicznych (Stany Zjednoczone oraz Europa Zachodnia) sięga 65%. Wprowadzenie nowych metod leczenia oraz zwiększenie świadomości społeczeństwa o zagrożeniu związanym z rakiem jelita grubego, w połączeniu z rozwiniętą profilaktyką, może być więc istotnym, a co najważniejsze skutecznym bodźcem, wpływającym na poprawę tych statystyk.

Wśród alternatywnych metod leczenia nowotworów, w tym jelita grubego, coraz częściej wymienia się terapię fotodynamiczną (PDT), która w przypadku niektórych rodzajów raka wykazuje znaczną skuteczność. Wykorzystuje ona wzajemne oddziaływanie trzech czynników: światła, fotouczulacza oraz tlenu. Światło wzbudza fotouczulacz, który przekazuje energię wzbudzenia na tlen, generując powstawanie reaktywnych pochodnych tlenowych. W terapii fotodynamicznej często wykorzystuje się porfiryny, czyli naturalne związki organiczne o budowie tetrapirolowej. Porfiryny dzięki tendencji do gromadzenia się w komórkach, łatwości wzbudzenia światłem o odpowiedniej długości fali oraz zdolności do generacji reaktywnych form tlenu, są bardzo dobrym fotosensybilizatorem do walki z nowotworami. Obserwuje się znaczny potencjał wykorzystania tej grupy związków w terapii fotodynamicznej nie tylko nowotworów powierzchniowych, ale również trudniej dostępnych w organizmie, w tym raka jelita grubego.

Intencją niniejszej pracy było określenie czy wybrane pochodne porfiryn po ekspozycji na światło białe mogą wykazywać istotną aktywność przeciwnowotworową w komórkowym modelu raka jelita grubego. W tym celu, podjęto próbę oceny aktywności cytotoksycznej badanych związków w stosunku do komórek CCD 841 CoTr (komórki prawidłowe nabłonka jelita grubego) oraz HT29 (komórki nowotworowe raka jelita grubego), określenia lokalizacji porfiryn w tych komórkach, wpływu porfiryn na ich migrację oraz mikrośrodowisko nowotworu.

Wykazano silną toksyczność porfiryny manganowej na komórki nowotworowe i słabszą na prawidłowe, przy czym w analizowanym modelu nie zaobserwowano zmiany cytotoksyczności po indukcji światłem. Odmienna sytuacja zaszła w przypadku porfiryny wolnej, która wykazała znikomą cytotoksyczność w

warunkach braku naświetlenia, która jednak wzrastała po indukcji światłem. Określono lokalizację porfiryny wolnej w badanych komórkach. Początkowo był to zewnętrzny obszar cytoplazmy, później zaś okolice jądra komórkowego. Udowodniono również wpływ porfiryn na hamowanie migracji komórek, głównie prawidłowych. Analiza czynników zapalnych (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-6R α , COX-2) wskazała na szerokie spektrum oddziaływania porfiryn na metabolizm komórkowy oraz mikrośrodowisko nowotworu. Porfiryne manganowa nie wykazywała charakteru fotodynamicznego, jednakże ze względu na swoją wysoką cytotoxiczność, wysoką dla komórek nowotworowych, mogłaby znaleźć zastosowanie jako środek przeciwnowotworowy. Porfiryne wolna, z uwagi na swoją aktywność fotodynamiczną, mogłaby być użytecznym fotosensybilizatorem do wykorzystania w potencjalnej terapii wczesnych etapów rozwoju raka jelita grubego. Potrzebne są jednak dalsze badania, aby określić skuteczność porfiryny wolnej w modelu *in vivo*.

Podsumowując, pochodne porfiryn wydają się być interesującą grupą związków do dalszych badań. Otrzymane wyniki potwierdzają ich przeciwnowotworowy potencjał wobec komórek raka jelita grubego, co daje podstawę do dalszych badań w celu określenia molekularnych mechanizmów działania tej grupy związków.