

Mgr Barbara Gieroba
Zakład Biologii Komórki,
Instytut Biologii i Biochemii,
Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Lublin, dn. 11.06.2018 r.

**Organizacja molekularna oraz aktywność przeciwnowotworowa
ksantohumolu w odniesieniu do modelowych błon lipidowych i wybranych
linii komórek nowotworowych**

(Molecular organization and anticancer activity of xanthohumol in relation to
model lipid membranes and selected cancer cell lines)

Streszczenie

Flawonoid ksantohumol (XN) – prenylowany chalkon, będący głównym polifenolem obecnym w żeńskich kwiatostanach szyszek chmielu (*Humulus lupulus* L.) cieszy się w ostatnich latach ogromnym zainteresowaniem badaczy ze względu na jego liczne potwierdzone właściwości prozdrowotne. Wykazuje on m.in. aktywność przeciwnowotworową, antyoksydacyjną, antyangiogenną, przeciwzapalną, przeciwdrobnoustrojową oraz neuroprotekcijną. Wpływa on również korzystnie na zapobieganie schorzeniom towarzyszącym zespołowi metabolicznemu, takich jak cukrzyca, otyłość i nadciśnienie tętnicze, będącym istotnym problemem cywilizacyjnym. Opierając się na tych doniesieniach, w niniejszej rozprawie doktorskiej zbadano *in vitro* cytotoksyczne działanie XN wobec dwóch nowotworowych linii komórkowych: nowotworu prostaty PC-3 i nowotworu piersi T47D oraz określono, czy i w jaki sposób indukuje on proces śmierci komórkowej - apoptozy lub nekrozy. Oceniono także wpływ XN na komórki prawidłowe - fibroblasty skóry ludzkiej linii NHDF.

Efekt działania XN na komórki określono spektrofotometrycznie przy pomocy testów MTT i NR, na podstawie których wyznaczono wartość stężenia hamującego żywotność komórek (IC_{50}) oraz w wyniku oceny morfologicznej komórek barwionych metodą MGG oraz oranżem akrydyny i bromkiem etydy, co wraz z analizą cytometryczną komórek

znakowanych Aneksyną V/FITC umożliwiło określenie populacji komórek apoptotycznych i nekrotycznych. Degeneracja komórek została potwierdzona w badaniach spektroskopowych w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR-ATR). W pierwszej części badań zaobserwowano, że:

- Komórki obydwu linii nowotworowych wykazywały wrażliwość na działanie XN, przejawiającą się występowaniem efektu cytotoksycznego (wartość IC_{50} dla linii PC-3 w teście MTT i NR wynosiła odpowiednio 33,28 μM i 15,20 μM , dla T47D 32,08 μM i 5,78 μM). Linia nowotworu piersi T47D cechowała się nieznacznie większą wrażliwością na działanie XN niż linia nowotworu prostaty PC-3;
- Wrażliwość komórek na XN wykazywała zależność od jego dawki i czasu inkubacji;
- Spadek żywotności komórek wynikał zarówno z indukcji apoptozy, jak i nekrozy przez XN;
- XN powodował zmiany w obrębie lipidów, białek i kwasów nukleinowych, wpływając na ich organizację molekularną;
- Najmniej podatna na działanie XN okazała się prawidłowa linia ludzkich fibroblastów.

Kolejnym celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zbadanie oddziaływania XN z lipidami za pomocą techniki monowarstw Langmuira i mikroskopii kąta Brewstera (BAM) w modelowych układach dwuskładnikowych (z DPPC, POPC, SM, Chol i GM_1) oraz w układach trójskładnikowych (z DPPC i Chol we wzajemnym stosunku 1:1 – model błony komórki prawidłowej, SM:Chol w proporcjach 1:1 – model raftów lipidowych i SM:Chol w proporcjach 7:3 – model błony komórkowej nowotworu piersi oraz POPC i Chol w stosunku 7,5:2,5 – model błony komórkowej nowotworu prostaty). Na podstawie uzyskanych izoterm π -A i zdjęć BAM dokonano termodynamicznej analizy wzajemnych interakcji. Przeprowadzono również serię eksperymentów polegających na inkorporowaniu XN pod monowarstwy uformowane z lipidów w celu określenia kinetyki adsorpcji. Badania te wykazały, że:

- XN wykazywał silniejsze interakcje i wzajemną mieszalność w układach modelowych naśladujących błony patologiczne niż w układach modelowych odzwierciedlających błony prawidłowe;
- Stwierdzono silne oddziaływania XN z Cholesterolem;
- XN wykazywał całkowitą wzajemną mieszalność z GM_1 , który znany jest z nadekspresji w błonach komórek nowotworowych;
- Znaczne przyrosty ciśnienia powierzchniowego po iniekcji XN pod monowarstwy

lipidowe wskazują na silne powinowactwo tego chalkonu do lipidów błonowych.

Biorąc pod uwagę wysoką selektywność XN wobec komórek nowotworowych, może on być w przyszłości potencjalnym terapeutycznym w leczeniu onkologicznym.