

STRESZCZENIE

Praca doktorska stanowi część projektu, którego celem jest zbadanie wpływu statyn (leków stosowanych powszechnie w celu obniżenia poziomu cholesterolu w osoczu) oraz związków z grupy flawonoidów na komórki raka jelita grubego linii LoVo oraz sublinii lekoopornej LoVo/Dx. Jednym z głównych celów pracy było zbadanie ewentualnej synergii w działaniu statyn i flawonoidów na komórki obydwu linii komórkowych, na przykładzie wybranych związków. Jak wiadomo flawonoidy, podobnie jak statyny, hamują aktywność reduktazy HMG-CoA, wykorzystując przy tym odmienny niż statyny mechanizm molekularny. Flawonoidy hamują również aktywność enzymu CYP3A4, który jest jednym z głównych enzymów metabolizujących statyny. W ramach badań potwierdzono obecność genu *CYP3A4* w komórkach raka jelita grubego, wrażliwych (LoVo) i opornych (LoVo/Dx) na doksorubicynę. Wykazano, że istotną rolę dla cytotoksycznej aktywności flawonoidów w stosunku do komórek badanych linii ma podwójne wiązanie pomiędzy atomami węgla C2 i C3 w pierścieniu C flawonoidu oraz rozmieszczenie podstawników -OH i -OCH₃ w cząsteczce. W przypadku komórek sublinii LoVo/Dx ważną rolę w aktywności cytotoksycznej flawonów i flawanonów odgrywa grupa -OCH₃ zlokalizowana w pozycji C7. Niektóre flawonoidy, jak np. bajkaleina i luteolina, wykazywały dużo słabsze działanie cytotoksyczne w linii komórek lekoopornych LoVo/Dx niż w komórkach LoVo. W ramach badań nad komórkami lekoopornymi wyciszono nadekspresję genu *MDR1* w tych komórkach i stwierdzono, że zarówno bajkaleina, jak i luteolina hamują ich wzrost silniej niż przed wyciszeniem. Wybrane do badań statyny (simwastatyna i mewastatyna) cechowała aktywność cytotoksyczna, którą wzmacniała obecność związków flawonoidowych. Najsilniejszą synergiię w działaniu statyn i flawonoidów, zarówno w komórkach LoVo, jak i LoVo/Dx, zaobserwowano w przypadku simwastatyny w połączeniu z 6-hydroksyflawonem, 6-metoksyflawonem i bajkaleiną. Stwierdzono ponadto, że statyny redukują oporność na doksorubicynę w lekoopornych komórkach LoVo/Dx. Simwastatyna zastosowana łącznie z 7-hydroksyflawanonem lub bajkaleiną wydajniej obniża lekooporność, w porównaniu z samą statyną. W przypadku niektórych flawonów również zaobserwowano wzrost cytotoksyczności doksorubicyny w komórkach LoVo/Dx. Występowanie grupy metoksylowej przy atomie węgla C6 lub C7 w strukturze flawonu było istotne dla modulacji oporności komórek LoVo/Dx na doksorubicynę. Jednak w przypadku niektórych flawonoidów, np. bajkaleiny czy 6-metoksyflawanonu, zaobserwowano obniżenie cytotoksycznego wpływu tego leku na komórki odporne. W przypadku bajkaleiny może to wynikać z zanotowanego

wzrostu ekspresji białka P-gp w komórkach LoVo/Dx w obecności tego flawonu. Oznaczona też została ekspresja białka PCNA w obecności flawonoidów i statyn. Stwierdzono, że wszystkie badane związki obniżają ekspresję PCNA, co wskazuje na hamowanie przez nie proliferacji komórek nowotworowych LoVo i LoVo/Dx. Flawony: 6-hydroksyflawon, chryzyna, luteolina i wogonina indukują również proces apoptozy w obydwu badanych liniach komórkowych, przy czym chryzyna, luteolina i wogonina stymulują aktywność kaspazy 3, jednego z kluczowych enzymów tego procesu. Indukcję apoptozy poprzez aktywację kaspazy 3 stwierdzono także w obecności simwastatyny i mewastatyny. W przypadku zastosowania kombinacji simwastatyny z 6-metoksyflawonem lub bajkaleiną stwierdzono dodatkowy wzrost aktywności proapoptotycznej w stosunku do obydwu badanych linii komórkowych, w porównaniu z działaniem poszczególnych związków oddzielnie.

Wszystkie badane substancje zmieniają termotropowe właściwości błon lipidowych utworzonych z fosfatydylocholiny DPPC. Z badań mikrokalorymetrycznych wynika, że na właściwości biofizyczne dwuwarstwy lipidowej najsilniej wpływają następujące związki flawonoidowe: wogonina, luteolina, 6-hydroksyflawanon oraz 7-metoksyflawon. Flawonoidy te mogą wiązać się z dwuwarstwą lipidową, zarówno w obrębie hydrofilowych główek, jak i hydrofobowego rdzenia błony. W przypadku statyn wykazano zdolność simwastatyny do głębszej penetracji dwuwarstwy lipidowej w porównaniu z mewastatyną.