

# Ocena przeciwnowotworowych właściwości kwasu karnozowego w komórkowym modelu raka jelita grubego

Magdalena Wojtczuk

Promotor pracy dr Agnieszka Dominiak

Katedra i Zakład Biochemii i Farmakogenomiki

## WSTĘP

Rak jelita grubego jest nowotworem złośliwym rozwijającym się w obrębie okrężnicy lub odbytnicy, stanowi trzeci najczęściej diagnozowany nowotwór na świecie. Do oceny stopnia jego zaawansowania stosuje się m.in. klasyfikację Dukes'a.

W poszukiwaniu nowych związków o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym szczególną uwagę zwraca się na substancje pochodzenia naturalnego. Do takich substancji można zaliczyć kwas karnozowy, który jest związkiem diterpenowym występującym w roślinach z rodziny Lamiaceae, głównie w rozmarynie lekarskim i szalwii lekarskiej. Kwas karnozowy jest substancją wykazującą wiele aktywności biologicznych, m.in. ogranicza procesy zapalne w organizmie, pomaga obniżyć poziom glukozy we krwi, a także chroni komórki nerwowe przed uszkodzeniami. Wykazuje również zdolność do niszczenia błon komórkowych bakterii oraz wpływa na komórki nowotworowe, zaburzając ich wzrost i ograniczając rozwój choroby.

## CEL PRACY

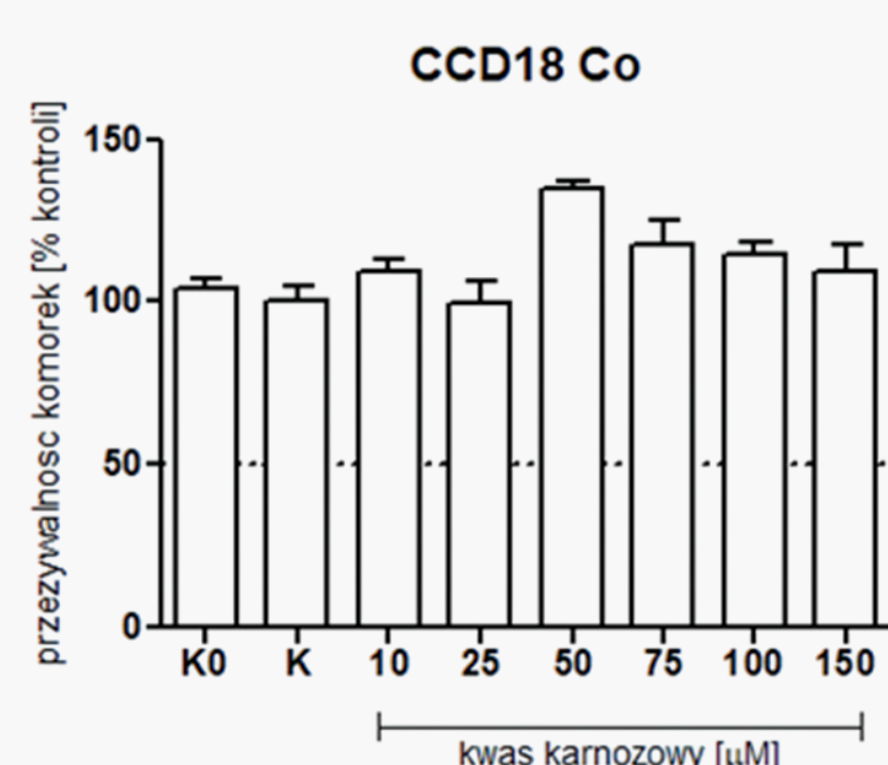
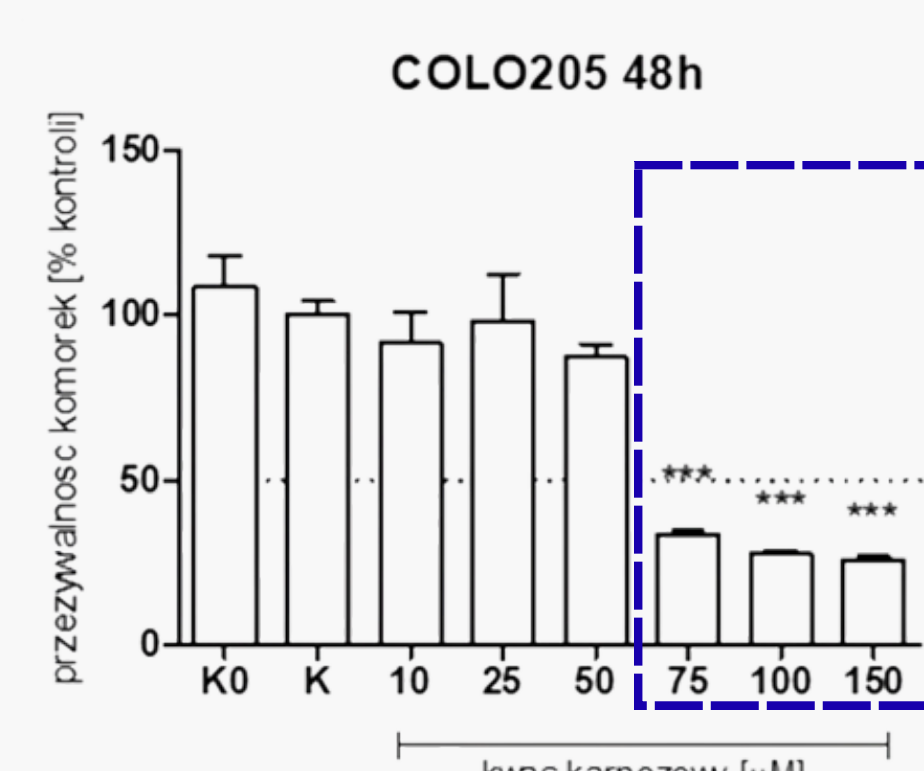
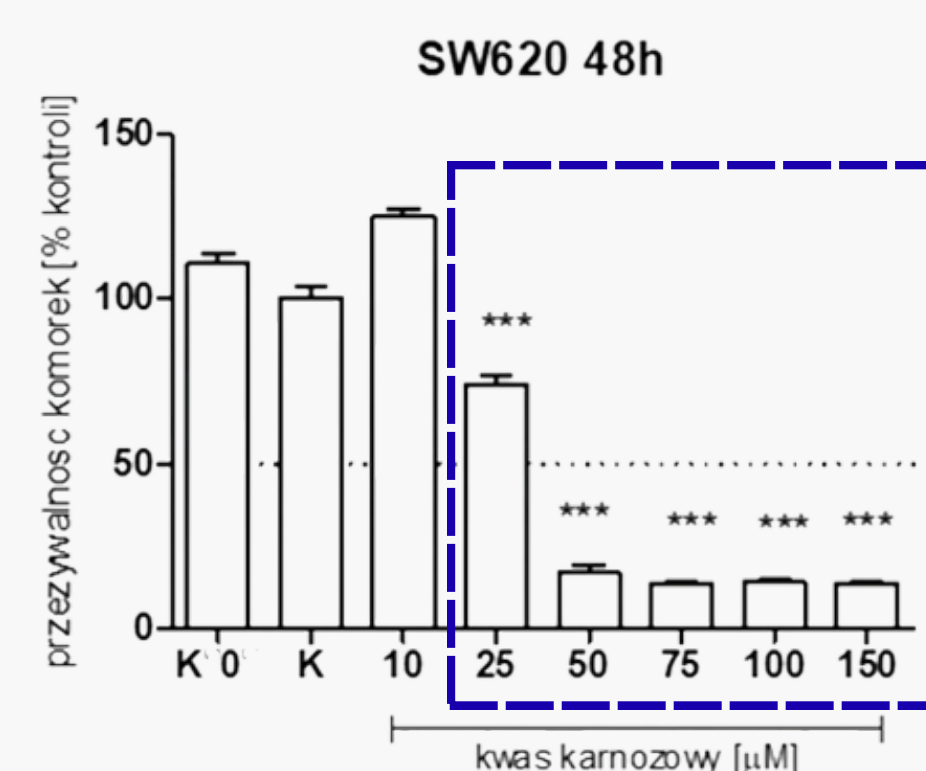
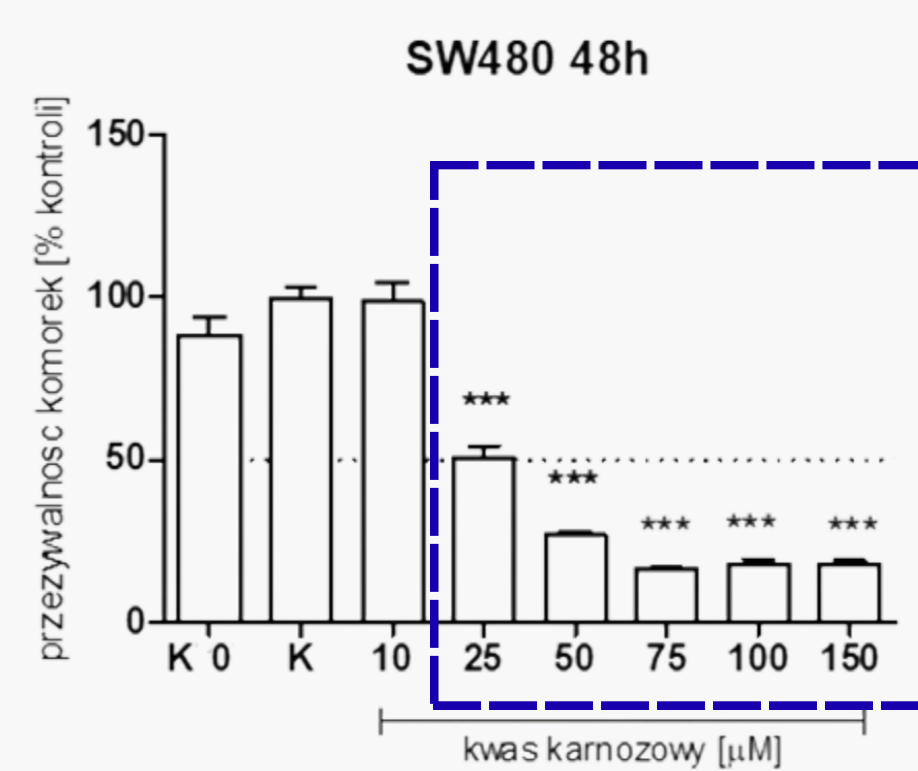
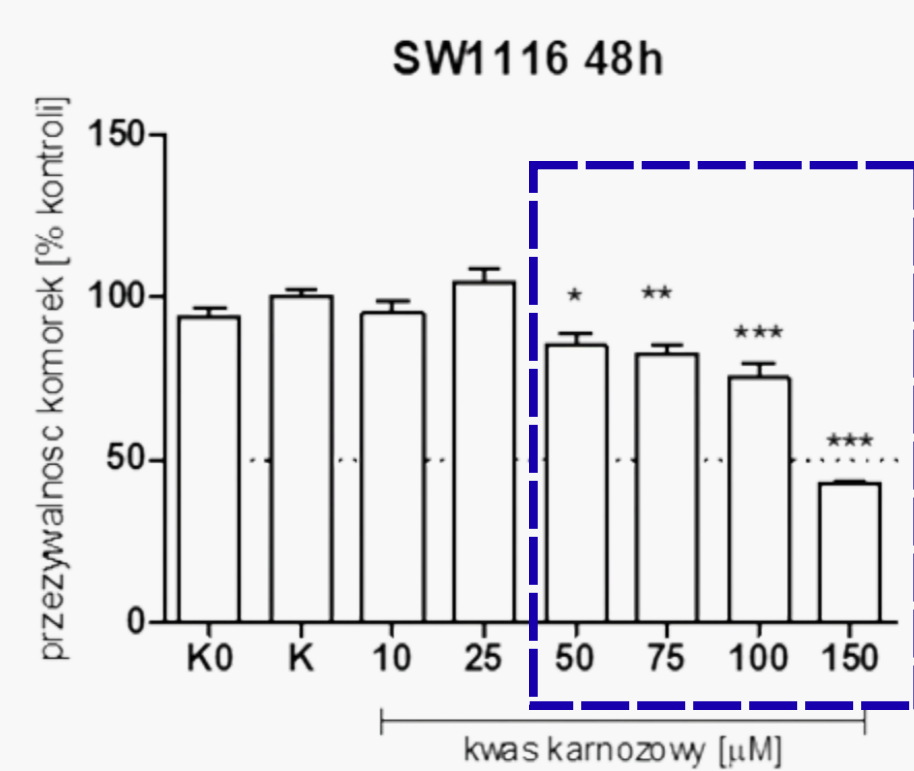
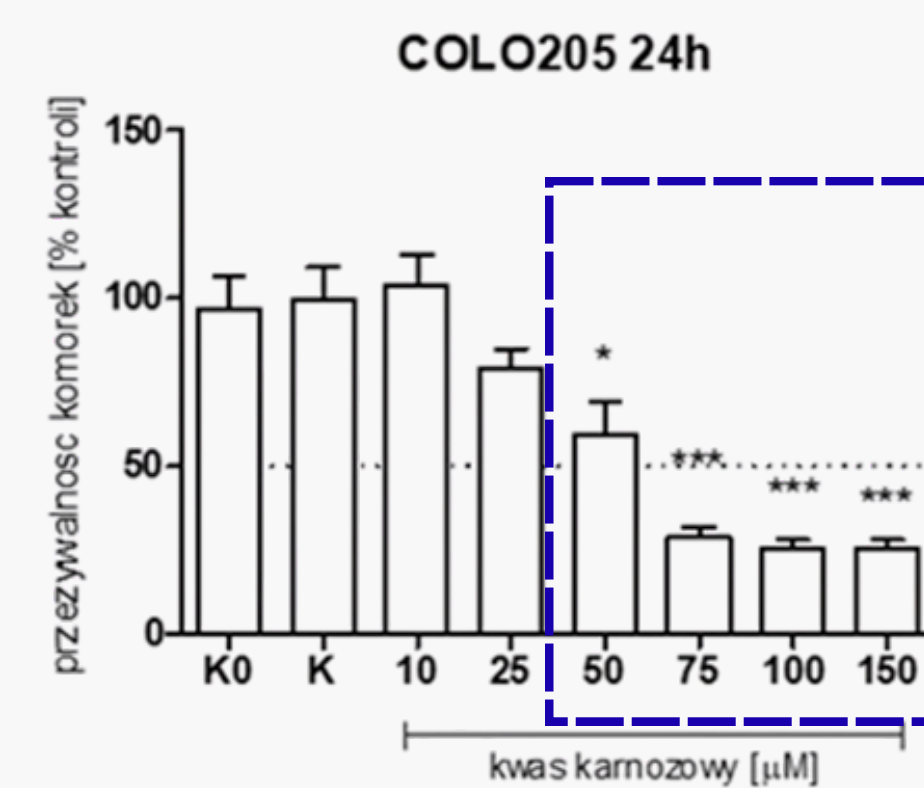
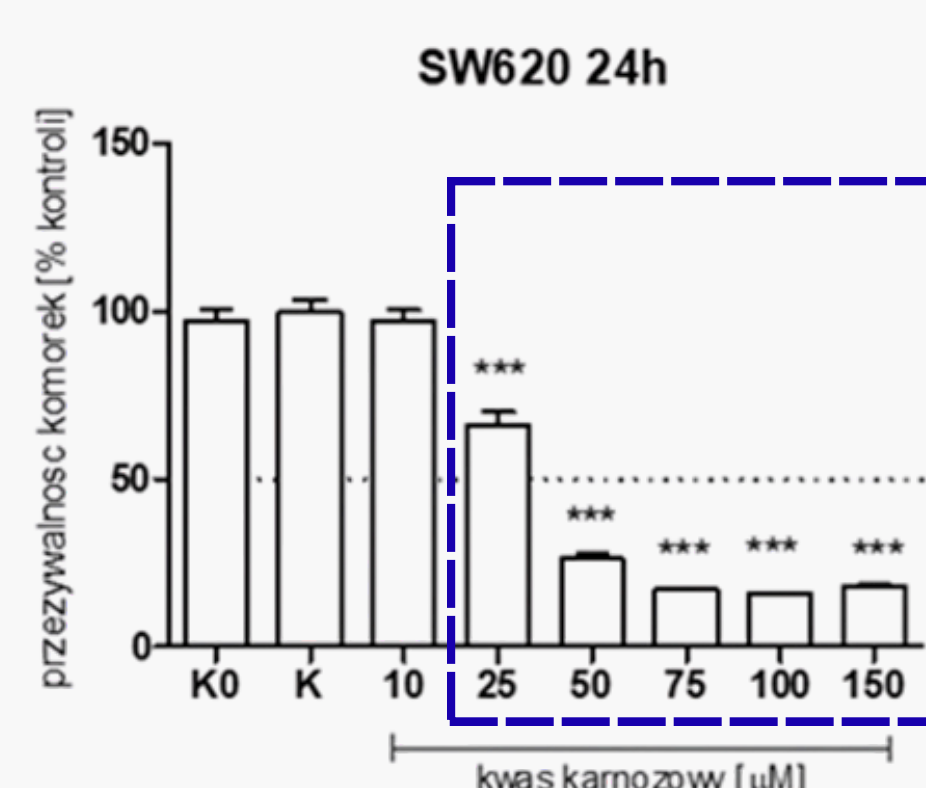
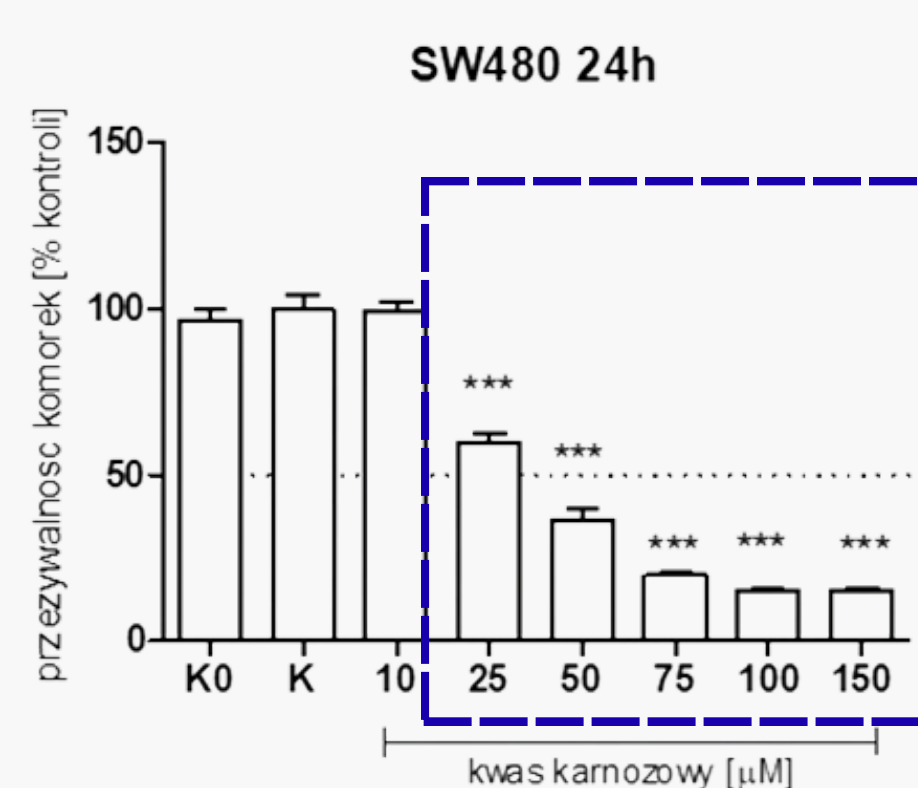
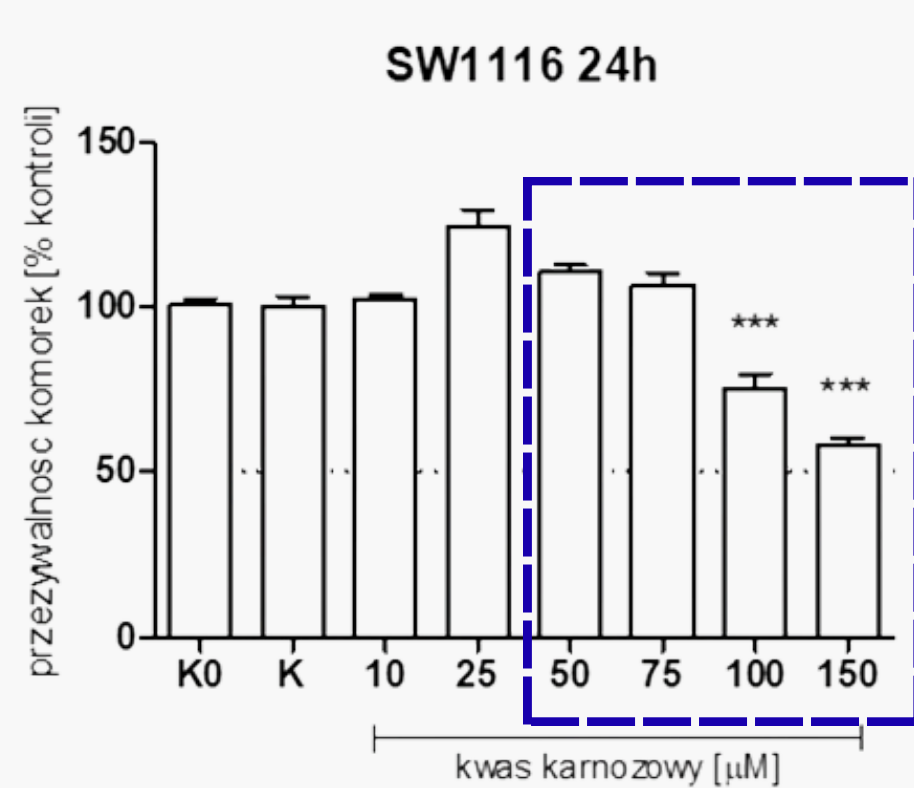
1. Ocena cytotoksyczności kwasu karnozowego wobec linii komórkowych raka jelita grubego: SW1116, SW480, SW620 oraz COLO205, reprezentujących różne stadia zaawansowania choroby, po standardowym (24 godziny) oraz wydłużonym (48 godzin) czasie inkubacji.
2. Ocena wpływu CA na żywotność zdrowych fibroblastów okrężnicy (CCD-18Co) po standardowym (24 godziny) oraz wydłużonym (48 godzin) czasie inkubacji.
3. Zbadanie wpływu CA na stężenie COX-2.

## METODY

Do oceny przeciwnowotworowych właściwości kwasu karnozowego wykorzystane były 4 linie komórkowe raka jelita grubego, będące przekrojem przez wszystkie stadia zaawansowania według klasyfikacji Dukes'a. Do oceny selektywności działania kwasu karnozowego wykorzystano linię prawidłowych fibroblastów okrężnicy. Komórki hodowano w pożywce RPMI z L-glutaminą i wodorowęglanem sodu, dodatkowo suplementowanej 1% mieszaniną antybiotyków (penicyliny i streptomycyny) oraz płodową surowicą bydlęcą. Do oceny żywotności komórek zastosowano test spektrofotometryczny MTT oraz test fluorymetryczny AlamarBlue. W celu zbadania czy komponenta przeciwzapalna ma udział w aktywności przeciwnowotworowej kwasu karnozowego przeanalizowano jego wpływ na stężenie cyklooksygenazy-2 (COX-2) - pomiaru dokonano na linii komórkowej SW620 za pomocą testu ELISA.

## WYNIKI

- Kwas karnozowy powodował zależne od stężenia obniżenie przeżywalności komórek raka jelita grubego we wszystkich badanych liniach.
- Po 24 godzinach działania największą wrażliwość wykazały linie SW480 i SW620, w których istotne obniżenie przeżywalności obserwowano już przy stężeniu 25  $\mu\text{M}$ . Linia COLO205 wykazała efekt cytotoksyczny przy stężeniu 50  $\mu\text{M}$ , natomiast linia SW1116 dopiero przy wyższych stężeniach ( $\geq 100 \mu\text{M}$ ).
- Po 48 godzinach działania kwasu karnozowego nasilenie efektu cytotoksycznego było zróżnicowane między liniami komórkowymi. Największe wzrost wrażliwości zaobserwowano w linii SW1116, gdzie istotny spadek przeżywalności wystąpił już przy 50  $\mu\text{M}$ , co wskazuje na efekt kumulatywny. W liniach SW480 i SW620 poziom cytotoksyczności był porównywalny z obserwowanym po 24 godzinach. W linii COLO205 istotny efekt cytotoksyczny po 48 godzinach występował przy wyższych stężeniach kwasu karnozowego.
- Kwas karnozowy nie wpływał istotnie na żywotność zdrowych fibroblastów okrężnicy, co wskazuje na selektywność jego działania.
- W linii SW620 kwas karnozowy (50  $\mu\text{M}$ ) powodował ponad dwukrotne obniżenie stężenia cyklooksygenazy-2 w porównaniu z kontrolą.



\*p<0,05,\*\*p<0,01,\*\*\*p<0,001 vs kontrola (K); K0-próba kontrolna z DMSO

## WNIOSKI

1. Kwas karnozowy wykazał istotne, zależne od stężenia i czasu ekspozycji, działanie cytotoksyczne wobec badanych linii komórkowych raka jelita grubego (SW1116, SW480, SW620, COLO205). Najwyższą wrażliwość na działanie związku wykazały linie SW480 i SW620.
2. Kwas karnozowy w badanym zakresie stężeń pozostaje bez wpływu na żywotność prawidłowych fibroblastów okrężnicy (CCD18-Co).
3. Kwas karnozowy wykazuje selektywność działania w badanym zakresie stężeń; powodując istotne obniżenie żywotności komórek raka jelita grubego na każdym etapie zaawansowania pozostając bez wpływu na przeżywalność komórek prawidłowych.
4. U podstaw przeciwnowotworowego działania kwasu karnozowego może leżeć modulacja stanu zapalnego zależnego od COX-2.
5. Sugeruje się, że kwas karnozowy, ze względu na swoje właściwości biologiczne, może stanowić cenne uzupełnienie terapii przeciwnowotworowej.