

Grzegorz Gołuński

Pracownia Biofizyki

Katedra Biologii Molekularnej i Komórkowej

Metyloksantyny jako modulatory antybiotyków antracyklinowych i aromatycznych mutagenów – analiza oddziaływań z DNA oraz aktywności biologicznej

Streszczenie

Ksenobiotykami nazywa się egzogenne związki chemiczne dostarczone do organizmu ludzkiego. Jedną z ich bardziej znaczących grup są ligandy aromatyczne, do których zalicza się zarówno mutageny aromatyczne, jak i przeciwnowotworowe antybiotyki antracyklinowe. Jednym z mechanizmów działania ligandów aromatycznych na poziomie komórkowym jest oddziaływanie z DNA (interkalacja, ale też np. wiązanie w małym bądź dużym rowku DNA) – ten sam mechanizm może zatem prowadzić do kancerogenezy oraz jest wykorzystywany podczas chemoterapii. Jednocześnie istnieje liczna grupa biologicznie aktywnych związków aromatycznych (takich jak m.in. metyloksantyny), które mogą modulować bezpośrednie oddziaływania aromatycznych ligandów z DNA. Mechanizm tego zjawiska wciąż pozostaje tematem wzmożonej debaty, jednak najprawdopodobniej polega on na tworzeniu mieszanych kompleksów między ligandami a związkami modulującymi, co prowadzi do tymczasowego obniżenia stężenia wolnej, aktywnej formy liganda. Pozwala to na wysunięcie hipotezy badawczej, mówiącej, że podanie aromatycznych antybiotyków przeciwnowotworowych wraz z pentoksyfiliną może zmniejszyć występowanie skutków ubocznych (np. nekroza tkanki wokół miejsca iniekcji) bez wpływu na aktywność przeciwnowotworową terapii.

Badając wpływ metyloksantyn (kofeiny, pentoksyfiliny, teofiliny) na oddziaływania wybranych ligandów aromatycznych (modelowy mutagen ICR-191, modelowy barwnik bromek etydyny oraz antybiotyki antracyklinowe doksorubicyna oraz idarubicyny) z DNA oraz jego efekty biologiczne zastosowałem szerokie spektrum metod biofizycznych oraz biologicznych, poczynając od pomiarów spektrofotometrycznych, poprzez metody obliczeniowe (zastosowanie modeli statystyczno-termodynamicznych) i izotermiczną mikrokalorymetrię miareczkową, testy mutagenności na organizmach prokaryotycznych (test Ames), kończąc na badaniach na komórkach eukaryotycznych (testy cytotoxyczności, cytometria przepływowa, mikroskopia konfokalna). W celu matematycznej analizy oddziaływań w mieszaninach antybiotyków antracyklinowych z pentoksyfiliną oraz DNA opracowaliśmy nowy model statystyczno-termodynamiczny pozwalający na oznaczenie stężeń czterech form liganda w mieszaninie – formy wolnej (monomeru); dimeru, w kompleksie z DNA oraz w kompleksie z pentoksyfiliną.

Podczas badań wyznaczyłem parametry oddziaływań wybranych ligandów aromatycznych z metyloksantynami oraz DNA. W testach biologicznych zaobserwowałem efekt ochronny wywierany przez metyloksantyny wobec ICR-191 w prokaryotycznym teście mutagenności oraz podobny efekt pentoksyfiliny wobec wybranych antybiotyków

antracyklinowych zarówno w teście mutagenności, jak i w teście cytotoksyczności na ludzkich keratynocytach. Co więcej, nie zaobserwowałem obniżenia aktywności cytotoksycznej doksorubicyny wobec dwóch wybranych linii komórek nowotworowych. Uzyskane wyniki mogą stanowić potwierdzenie postawionej hipotezy badawczej, jednakże aby przedstawione rezultaty badań mogły posłużyć jako baza do opracowania nowej formuły chemoterapii, konieczne są dalsze badania na organizmach zwierzęcych, które znacząco wykraczają poza zakres przedstawianej pracy doktorskiej.