

Streszczenie pracy doktorskiej

mgr Aneta Gajowik

„Ocena radioochronnego wpływu przeciwutleniaczy pochodzenia naturalnego, likopenu i resweratrolu, w komórkach somatycznych i generatywnych *in vivo* oraz *in vitro*”

Promotor: dr hab. Małgorzata Dobrzyńska, prof. NIZP PZH-PIB

Pracę wykonano w Zakładzie Higieny Radiacyjnej i Radiobiologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny – Państwowego Instytutu Badawczego

Już od wielu lat wiadomo, że promieniowanie jonizujące jest niebezpieczne dla zdrowia człowieka. Wywołuje ono stres oksydacyjny w narażonych komórkach organizmu poprzez wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT), co z kolei prowadzi do zachwiania naturalnej równowagi przeciwutleniaczy i proutleniaczy, a to z kolei prowadzi do uszkodzeń makrocząstek komórki czyli białek, lipidów błonowych, DNA czy RNA. Powstałe uszkodzenia żywych tkanek mogą prowadzić następnie do mutacji, nowotworu lub śmierci komórki. Promieniowanie jonizujące, stosowane w sposób kontrolowany, znalazło jednak zastosowanie w medycynie. Jest ono wykorzystywane w celach diagnostycznych (badania rentgenowskie), jak i leczniczych (radioterapia). Stąd zapotrzebowanie na znalezienie związków radioochronnych, które chroniłyby komórki prawidłowe przed szkodliwym działaniem promieniowania zarówno w profilaktyce schorzeń wynikających z zawodowego jak i przypadkowego narażenia człowieka na promieniowanie. Taki idealny radioprotektor powinien nie tylko zapewniać ochronę przed szkodliwym działaniem promieniowania, ale posiadać też minimalną toksyczność i dużą stabilność. Z powyższych powodów likopen i resweratrol, substancje pochodzenia naturalnego i posiadające silne zdolności przeciwutleniające, mogą być rozpatrywane jako potencjalnie radioprotektory, tj. czynniki, które zmieniają odpowiedź tkanek na promieniowanie po dodaniu przed lub wkrótce po ekspozycji na promieniowanie lub mitygatory czyli związki, których można by użyć do zminimalizowania cytotoxyczności promieniowania i są podawane po napromienieniu.

Celem pracy była ocena radioochronnego lub mitygującego wpływu likopenu lub resweratrolu na leukocyty krwi ludzkiej *in vitro* oraz na komórki somatyczne i rozrodcze myszy poddawanych *in vivo* ekspozycji na promieniowanie jonizujące.

W celu oceny radioochronnych lub mitygujących właściwości likopenu lub resweratrolu na DNA limfocytów, wyizolowane z krwi ludzkiej limfocyty poddano

ekspozycji na promieniowanie jonizujące w ustalonych dawkach oraz potraktowano różnymi stężeniami likopenu lub resweratrolu przez określony okres czasu przed lub po ekspozycji na promieniowanie X. Uszkodzenia DNA limfocytów krwi ludzkiej we wszystkich badanych grupach zostały ocenione za pomocą testu kometowego.

W celu oceny wpływu likopenu lub resweratrolu na przeciwdziałanie lub łagodzenie stopnia uszkodzeń DNA komórek somatycznych oraz oceny wpływu likopenu lub resweratrolu na liczebność i jakość gamet męskich napromienianych zwierząt, samce myszy Swiss były poddawane przez 2 tygodnie ekspozycji na promieniowanie X w określonych dawkach lub/i był im podawany roztwór likopenu lub resweratrolu o różnym stężeniu w wodzie do picia. Wybrane antyoksydanty podawane były po 24 h lub po 7 dniach od rozpoczęcia napromieniania. Do oceny uszkodzeń DNA w komórkach somatycznych zastosowano test mikrojądrowy oraz test kometowy. Do testu mikrojądrowego pobierana była krew z żyły ogonowej myszy oraz szpik kostny z kości udowej. Do testu kometowego pobierane były płuca, szpik kostny z kości udowej, śledziona i wątroba, a także jądra do oceny uszkodzeń DNA w komórkach generatywnych. Z kolei z najądrzy izolowano plemniki, a następnie oceniano ich liczebność, ruchliwość i morfologię.

Wszystkie otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej w programie Statistica 9.

W ramach przeprowadzonych badań uzyskano wyniki, na podstawie których sformułowano następujące wnioski:

1. Otrzymane wyniki pozwoliły potwierdzić radioprotekcyjne działanie likopenu suplementowanego przed narażeniem komórek na promieniowanie jonizujące, gdyż zastosowanie go w badaniach *in vitro* w różnych dawkach na 1h przed i bezpośrednio przed napromienieniem limfocytów powodowało zmniejszenie stopnia uszkodzenia DNA.
2. Na podstawie badań *in vitro* na limfocytach ludzkich i *in vivo* na myszach wywnioskowano, że likopen może mitygować skutki promieniowania jonizującego w niektórych komórkach somatycznych, ale w odpowiednio niskiej dawce (10 i 20 $\mu\text{M/ml}$ w badaniach *in vitro* i 0,15 mg/kg mc w badaniach *in vivo*), gdyż w wyższej (40 $\mu\text{M/ml}$ w badaniach *in vitro* i 0,3 mg/kg mc w badaniach *in vivo*) LYC może działać jako prooksydant i nasilać szkodliwy wpływ promieniowania.
3. Podobnie resweratrol wykazuje zarówno działanie radioprotekcyjne, jak i mitygujące na niektóre komórki somatyczne, ale również w odpowiednio niskiej dawce (0,1 mM/ml w badaniach *in vitro* i 7 mg/kg mc w badaniach *in vivo*), gdyż w wyższej

dawce 28 mg RSV/kg mc, powoduje wzrost wielkości uszkodzeń DNA w komórkach szpiku kostnego i śledziony.

4. Wczesna suplementacja likopenem łagodzi negatywny wpływ promieniowania jonizującego na gamety męskie, gdyż LYC zwiększa liczebność plemników, a jednocześnie zmniejsza odsetek nieprawidłowych plemników. Zmniejsza on również stopień uszkodzenia DNA plemników myszy poddanych ekspozycji na promieniowanie jonizujące.
5. Resweratrol wykazuje niezbyt silne i zależne od dawki właściwości mitygujące skutki promieniowania jonizującego na gamety męskie, gdyż powoduje tylko wzrost liczebności plemników myszy w wyższej dawce 28 mg/kg mc, natomiast pozostałe parametry nie ulegają poprawie.