



Barbara Szachowicz-Petelska

**Wpływ czynników egzo- i endogennych na
przykładzie etanolu i transformacji nowotworowej
na zmiany składu błon komórkowych**

Streszczenie rozprawy doktorskiej wykonanej w Zakładzie
Elektrochemii Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku

Promotor pracy: prof. dr hab. Zbigniew Figaszewski
(Uniwersytet w Białymstoku)

Recenzenci pracy: prof. dr hab. Helena Puzanowska-Tarasiewicz
(Uniwersytet w Białymstoku)

prof. dr hab. Jan Izdebski
(Uniwersytet Warszawski)

Białystok 2008

Błona komórkowa jest istotnym czynnikiem wyznaczającym integralność komórki i jej zdolność do homeostazy. Jest ona nie tylko mechanicznym odgraniczeniem komórki od otoczenia, lecz także organem za pomocą, którego komórka oddziałuje na środowisko zewnętrzne i odwrotnie.

Wszelkie zaburzenia w składzie błon, jak i zmiany w ich funkcjach będą powodować nieprawidłowości w samej komórce. Zaburzenia w funkcji komórki mogą ujawniać się w zmianie składu błony komórkowej, a zatem również w jej podwójnej warstwie, decydującej o ładunkach elektrycznych.

Procesy fizjologiczne takie jak starzenie się organizmu, jak również spożywanie niektórych popularnych używek np. alkohol etylowy, a także czynniki chorobowe, jak transformacja komórek prawidłowych w nowotworowe prowadzi nie tylko do zaburzeń w samej komórce, ale przede wszystkim w błonach komórkowych. Badania *in vivo* przedstawione w niniejszej pracy dotyczą wpływu czynnika egzogenego, jakim jest etanol i wybranego czynnika endogenego, jakim jest choroba nowotworowa na zawartość składników błony komórkowej. Pod wpływem czynników endo- i egzogennych zmienia się ładunek elektryczny błony. Dlatego też badanie składu błony, który jest ściśle związany z jej elektrycznym ładunkiem, może stanowić bogate źródło informacji o zaburzeniach w równowadze zarówno w błonie, jak i pomiędzy błoną a jej otoczeniem, w sytuacjach fizjologicznych i patologicznych. W związku z tym głównym zadaniem tej pracy było określenie zmian w składzie błony pod wpływem tych czynników, jak również podjęcie próby wyjaśnienia tych zmian.

W eksperymencie dotyczącym przewlekłego zatrucia etanolem, określono zmianę w zawartości składników błon komórkowych. Badania przeprowadzono na 2-miesięcznych, 12-miesięcznych i 24-miesięcznych szczurach rasy Wistar, które przez 5 tygodni otrzymywały standardową paszę granulowaną LSM oraz wodę do picia ad libidum. Aby ocenić działanie zielonej lub czarnej herbaty na 7 dni przed rozpoczęciem podawania alkoholu, zwierzęta otrzymywały zamiast wody do picia zieloną lub czarną herbatę (3,5 g/l). Następnie od szczurów grupy kontrolnej i szczurów badanych w trzech grupach wiekowych pobierano w narkozie eterowej krew z lewej komory serca, a potem wątrobę.

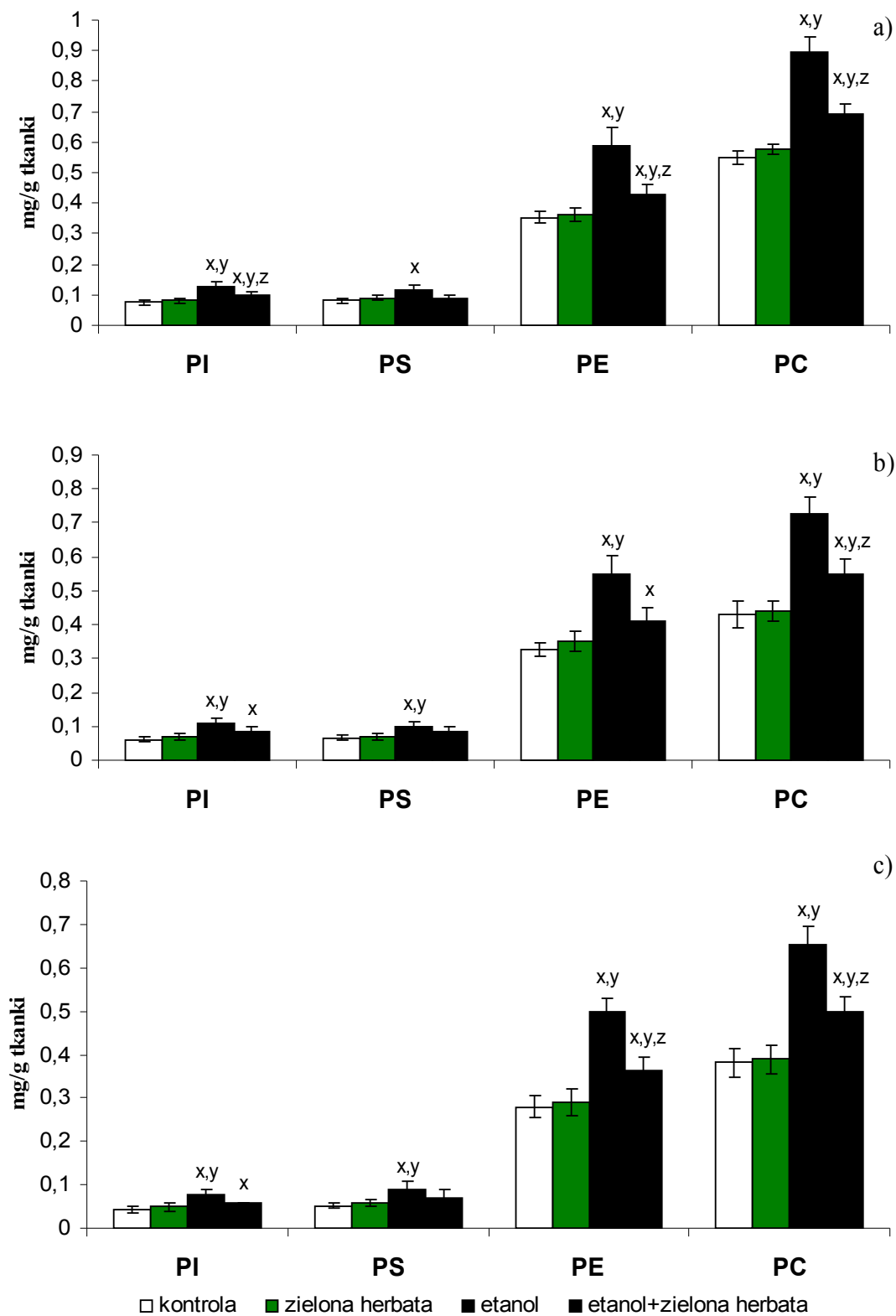
W pracy tej stwierdzono, że w wyniku zatrucia etanolem następuje wzrost ilości czterech głównych fosfolipidów (fosfatydyloinozytolu PI, fosfatydyloseryny

PS, fosfatydyloetanolaminy PE i fosfatydylocholino PC), a zmniejszenie ilości białek w błonach erytrocytów i komórek wątroby w porównaniu do grup kontrolnych (Rys.1 i Rys.2). Pod wpływem etanolu następuje wzrost aktywności acylotransferazy uczestniczącej w syntezie fosfolipidów, a zmniejszenie aktywności fosfolipazy A₂ odpowiedzialnej za hydrolizę fosfolipidów. Jednocześnie potwierdzeniem wzrostu ilości fosfolipidów w błonie jest pojawienie się nowych grup funkcyjnych zarówno kwasowych, jak i zasadowych fosfolipidów, co przyczynia się do wzrostu wartości ładunku elektrycznego błony. Konsumpcja zielonej lub czarnej herbaty częściowo przeciwdziała zmianom w składzie błony komórkowej, nasilonym w wyniku przewlekłego zatrucia etanolem. W konsekwencji związki zawarte w herbacie częściowo zapobiegają wzrostowi zawartości fosfolipidów, a zmniejszeniu ilości białek, osłabiając tym samym działanie etanolu. W pracy tej zauważa się również, że większe działanie antyoksydacyjne wykazuje zielona herbata niż czarna. Konsumpcja herbat przez zwierzęta nie powodowała istotnych statystycznie zmian w zawartości składników błony.

W celu zbadania bezpośredniego wpływu etanolu, acetaldehydu i octanu na zmianę w zawartości składników w błonie erytrocytów i komórek wątroby, przeprowadzono eksperymenty *in vitro*. Nie uzyskano jednak oczekiwanych rezultatów. W pracy tej bowiem nie zauważono zmian istotnych statystycznie w ilości fosfolipidów i peptydów pochodzących z błony zarówno erytrocytów, jak i komórek wątroby podczas bezpośredniego działania na błonę etanolem, czy też acetaldehydem. Utrudnione działanie toksyny w błonie może wynikać z faktu, że białka błonowe są osłaniane i silnie związane z dwuwarstwą lipidową.

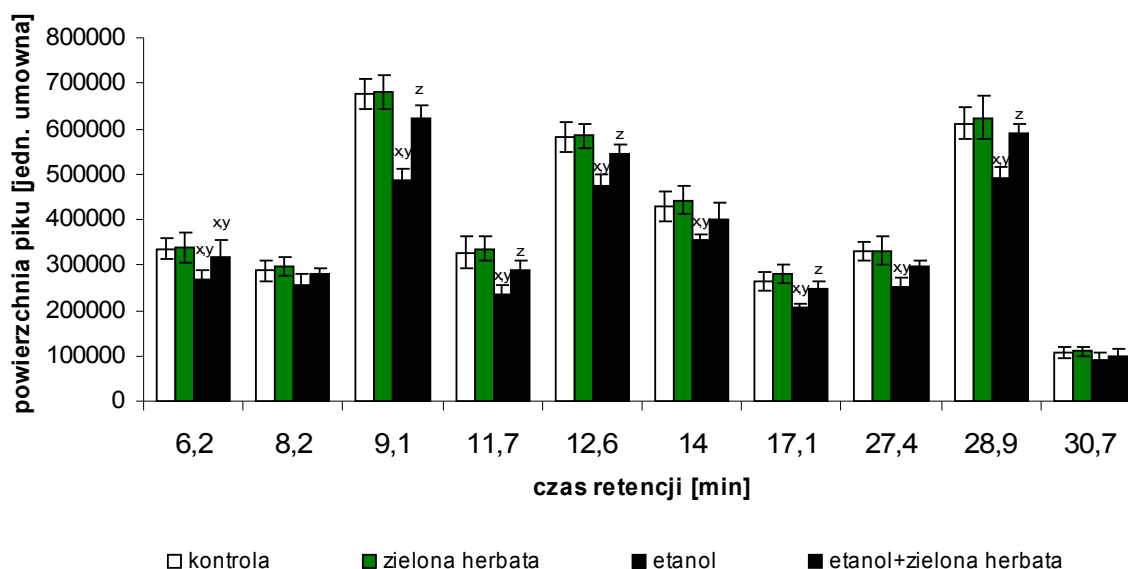
Można sugerować, że za zmiany obserwowane podczas zatrucia etanolem, jak i w procesie starzenia się organizmu odpowiedzialne są głównie reaktywne formy tlenu, których ilość wzrasta wraz z wiekiem. W niniejszej pracy wykazano również, że ilość wszystkich fosfolipidów błony erytrocytów i komórek wątroby zmniejsza się wraz z wiekiem (Rys.1). Zmniejszenie ilości grup funkcyjnych zarówno kwasowych, jak i zasadowych pochodzących od fosfolipidów powoduje zmniejszenie wartości ładunku elektrycznego błony.

Rys. 1. Wpływ zielonej herbaty na zawartość fosfolipidów w błonie komórek wątroby szczurów 2- miesięcznych (a), 12- miesięcznych (b) i 24- miesięcznych (c) w zatruciu etanolem.



Różnice istotne statystycznie dla $p < 0.05$ w porównaniu do: x – zwierząt grupy kontrolnej, y – zwierząt grupy otrzymujących zieloną herbatę, z – zwierząt grupy otrzymującej etanol.

Rys. 2. Wpływ zielonej herbaty na zawartość peptydów w błonie komórek wątroby szczurów w zatruciu etanolem.



Różnice istotne statystycznie dla $p < 0.05$ w porównaniu do: x – zwierząt grupy kontrolnej, y – zwierząt grupy otrzymujących zieloną herbatę, z – zwierząt grupy otrzymującej etanol.

Pod wpływem wielu złożonych czynników endogennych prowadzących do transformacji nowotworowej również zmieniała się zawartość składników błony komórkowej. Zaobserwowano wzrost ilości fosfolipidów, a zmniejszenie ogólnej ilości wolnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w komórkach nowotworowych w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Dane literaturowe sugerują, że zwiększona ilość fosfolipidów może być wynikiem wzmożonej syntezy błony komórki powiązanej z przyspieszoną replikacją komórki nowotworowej. Mechanizmy odpowiedzialne za wzrost ilości fosfolipidów mogą zmieniać się wraz z naturą komórki, fazą wzrostu komórki i jej stopniem złośliwości. Jednocześnie potwierdzeniem wzrostu ilości fosfolipidów jest pojawienie się nowych grup funkcyjnych zarówno kwasowych, jak i zasadowych fosfolipidów, co przyczynia się do wzrostu wartości ładunku elektrycznego błony.

Badania powyższe wykazały, że pod wpływem czynników zarówno egzo-, jak i endogennych dochodzi do zmian jakościowych i ilościowych składników błony komórkowej, jej struktury, funkcji, czego konsekwencją są zaburzenia właściwości elektrycznych.

WYKAZ PRAC OPUBLIKOWANYCH PRZEZ AUTORKE

- 1) B. Szachowicz-Petelska, Z. Figaszewski, W. Lewandowski „Mechanisms of transport across cell membranes of complexes contained in antitumour drugs”– *International Journal of Pharmaceutics* 222 (2001)169-182
- 2) B. Szachowicz-Petelska, I.Dobrzyńska, Z. Figaszewski, S. Sulkowski “Changes in physico-chemical properties of human large intestine tumour cells membrane” *Molecular and Cellular Biochemistry* 238 (2002) 41-47
- 3) I.Dobrzyńska, B. Szachowicz-Petelska, E. Skrzydlewska, Z. Figaszewski „Changes In electric charge and phospholipids composition In erythrocyte membrane of ethanol – poisoned rats after administration of teas” *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research* 61 (2004) 483-492
- 4) B. Szachowicz-Petelska, I. Dobrzyńska, E. Skrzydlewska, Z. A. Figaszewski: „Influence of green tea on surface charge density and phospholipid composition of erythrocytes membrane in ethanol intoxicated rats”, *Cell Biology and Toxicology* 21 (2005) 61-70
- 5) I. Dobrzyńska, B. Szachowicz-Petelska, J. Ostrowska, E. Skrzydlewska, Z. A. Figaszewski, “Protective effect of green tea on erythrocyte membrane of different age rats intoxicated with ethanol”, *Chemico-Biological Interactions* 156 (2005) 41-53
- 6) I. Dobrzyńska, B. Szachowicz-Petelska, S. Sulkowski, Z. A. Figaszewski: „Changes in electric charge and phospholipid composition In human colorectal cancer cells”, *Molecular and Cellular Biochemistry* 276 (2005) 113-119
- 7) I. Dobrzyńska, B. Szachowicz-Petelska, E. Skrzydlewska, Z. A. Figaszewski: „Protective effect of green tea on electric properties of rat erythrocyte membrane during ethanol intoxication”, *Journal of Environmental Biology* 27 (2006) 161-166
- 8) B. Szachowicz-Petelska, S. Sulkowski, Z. Figaszewski „Altered membrane free unsaturated fatty acid composition in human colorectal cancer tissue” *Molecular and Cellular Biochemistry* 294 (2007) 237-242
- 9) I. Dobrzyńska, B. Szachowicz-Petelska, E. Skrzydlewska, Z. A. Figaszewski: „Effect of green tea on physico-chemical properties of liver cell membranes of rats intoxicated with ethanol”, *Polish Journal of Environmental Studies* 17 (2008) 327-333