

## Badanie antykancerogennych właściwości ekstraktu z wrośniaka garbatego (*Trametes gibbosa*)

Autorzy pracy:  
Barbara Siewert  
Maciej Uranowski

Szkoły:  
III Liceum Ogólnokształcące im. Marynarki Wojennej RP w Gdyni  
Liceum Katolickie Księża Pallotynów w Chełmnie

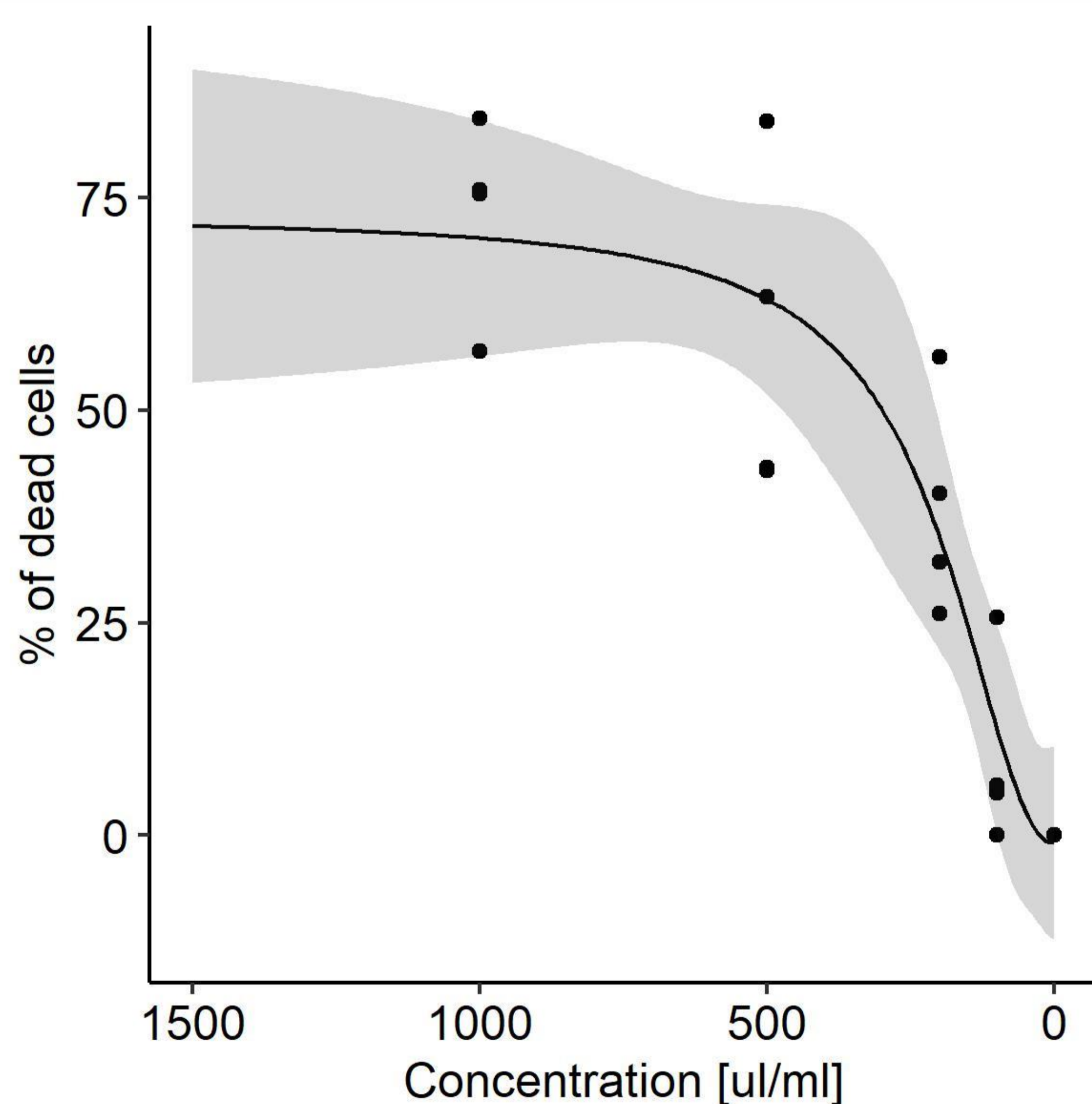
Opiekun naukowy:  
dr Marta Polańska

Projekt zakładał zbadanie aktywności cytotoksycznej ekstraktu otrzymanego na drodze maceracji suchej biomasy rozpuszczalnikiem z wrośniaka garbatego (*Trametes gibbosa*) w pilotażowej hodowli *in vitro* ludzkich komórek raka jelita grubego (HCT-116). Dzięki obiecującym wynikom rozpoczęliśmy kolejną serię badań, która zakłada zbadanie właściwości ekstraktu otrzymanego na skutek laboratoryjnej hodowli grzyba. W toku dalszych badań przypuszczamy, że ekstrakt lub znajdujące się w grzybie związki mogłyby znaleźć zastosowanie jako potencjalny środek przeciwnowotworowy.

### MOTYWACJA

Mykologia w ogromnym stopniu pozostaje niedoceniona w cywilizacji kultury zachodniej, dlatego, czerpiąc z doniesień z Azji Wschodniej, która od dawna inspirowała się bogactwem natury w kontekście ludzkiego zdrowia, podjęto decyzję o przebadaniu gatunku *Trametes gibbosa* ze względu na przypuszczenia o cytotoksyczności ze względu na należenie do rodzaju *Trametes*, spośród którego gatunek *Trametes versicolor* jest używany klinicznie w leczeniu nowotworów (Krestin).

Grafika: Wpływ stężenia ekstraktu z wrośniaka garbatego na cytotoksyczność względem linii komórkowej HCT-116 wyrażonej w procentach martwych komórek.



Wrośniak garbaty (*Trametes gibbosa*)



### OPIS BADAŃ

Do wykonania ekstraktu wykorzystano zmielone owocniki okazów zebranych na pniu bukowym. Wyizolowano polisacharydy oraz kompleksy białkowo-polisacharydowe poprzez potraktowanie gorącą wodą wysuszonych, sproszkowanych owocników, precypitację etanolem i oczyszczeniu przez dializę. Później nastąpiła maceracja w mieszaninie trzech rozpuszczalników (proporcja 1:1:1), były to DCM, aceton oraz izopropanol. Nadmiar rozpuszczalników usunięto na wyparce próżniowej. 10 mg ekstraktu zawieszono w 2.5 ml DMSO, rozcieńczano medium, do uzyskania zamierzonych stężeń. We współpracy z Zakładem Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, w którym pod opieką dr Marty Polańskiej zostały przeprowadzone badania na komórkach nowotworowych linii HCT116 (komórki raka jelita grubego) przy zachowaniu pełnej sterylności. Linia HCT-116 to komórki nowotworowe, nabłonkowe z jelita grubego, adherentne. Hodowane przy użyciu medium McCoy 5A + 10% FBS w temperaturze 37 °C i 5% objętości CO<sub>2</sub>. Do oceny cytotoksyczności zostało użyta metoda barwienia komórek błękitem trypanu. Barwienie pozwala określić ilość martwych komórek, wykorzystując uszkodzenia błony komórkowej przez przenikanie barwnika do ich wnętrza i ich wybarwienie.

### WNIOSKI

W naszych badaniach wykazaliśmy, że ekstrakt z wrośniaka garbatego charakteryzuje się aktywnością cytotoksyczną względem komórek raka jelita grubego. Badania na komórkach nowotworowych wykazały zależność między dawką (stężeniem) a żywotnością komórek – największe stężenie ekstraktu (1000 ul) przyczyniło się do śmierci większej ilości komórek (75%), zgodnie z hipotezą zaobserwowaliśmy różnicę między działaniem ekstraktu w okresach czasowych – większą skuteczność zmierzaliśmy w ekspozycji dobowej, jednak w ekspozycji jednogodzinnej również zanotowaliśmy znaczące działanie antykancerogenne. Nasze badania rzucają nowe światło na radzenie sobie z problemami zdrowotnymi: działanie cytotoksyczne wobec HCT-116 sugeruje, że w toku dalszych badań ekstrakt lub substancje w nim zawarte można byłoby wdrożyć jako potencjalny lek przeciwnowotworowy. Wykluczono DMSO jako jedyną przyczynę cytotoksyczności w toku analizy statystycznej (t-test). Bardzo obiecujące wyniki spowodowały, że dalej rozwijamy projekt przez badanie ekstraktu z grzybów wyhodowanych w bioreaktorach we współpracy z Uniwersytetem Jagiellońskim, by porównać działanie i skład chemiczny ekstraktu z ekstraktem otrzymywanym z okazów ze stanowisk naturalnych. Planujemy rozszerzenie badań na inne linie komórkowe oraz w toku dalszych badań sprawdzenie mechanizmu śmierci komórek.

Badania zawierały dwa czasy ekspozycji ekstraktu na komórki: jednogodzinną i dobową, oraz różne stężenia ekstraktu (100ul/ml, 200ul/ml, 500ul/ml oraz 1000 ul/ml), by ocenić w jakim stopniu działanie ekstraktu jest zależne od dawki. W badaniu uwzględniliśmy również dwie kontrole negatywne, by wykluczyć wyłączną cytotoksyczność DMSO. W toku przeprowadzonej analizy chemicznej przy zastosowaniu chromatografii gazowej dzięki Pomorskiemu Parkowi Naukowo-Technologicznemu, zostały wytypowane związki bioaktywne potencjalnie o działaniu cytotoksycznym względem komórek nowotworowych. Z wagi próbki 6 mg bioaktywnymi o największej zawartości są między innymi: kwas pentadekanowy (4,20% 0,252 mg), cis-9-heksadekenal (4,39% 0,2634 mg), (Z)-9-Oktadekanamid (34,44% 2,0664 mg), heksadekanamid (1,32% 0,0792 mg). Zgodnie z najnowszymi doniesieniami literaturowymi kwas pentadekanowy wykazuje działanie antykancerogenne względem innych linii komórek nowotworowych – indukcję aresztu cyklu komórkowego w fazie sub-G1 oraz apoptozę zależną od kaspaz w linii MCF-7/SC (To et al., 2020).