

Podsumowanie wstępnych eksperymentów wpływu preparatów GRANGO (G) i GRANGO MEN (GM) na cytotoksyczność oraz cykl komórkowy w komórkach śródbłonna HMEC-1 – z uwzględnieniem ich potencjalnego wpływu na funkcje mitochondriów

W pierwszym etapie badań oceniono cytotoksyczność preparatów G i GM wobec komórek śródbłonna HMEC-1 zarówno w pełnym medium hodowlanym (z dodatkiem FBS 5%), jak i w medium pozbawionym czynników wzrostu. Test żywotności komórek wykonano z użyciem odczynnika Presto Blue, który pozwala na ocenę aktywności metabolicznej. Wyniki wskazały na brak toksyczności obu preparatów oraz sugerowały efekt protekcyjny - wyraźniejszy w przypadku preparatu GM, umiarkowany dla G.

Celem drugiego etapu eksperymentu była ocena wpływu preparatów na cykl komórkowy HMEC-1 w warunkach dostępności i niedoboru czynników wzrostu. Dodatkowym celem było określenie, czy któryś z badanych związków może wykazywać działanie ochronne wobec mitochondriów, co oceniano pośrednio poprzez: ograniczenie apoptozy (frakcja sub-G0/G1), utrzymanie proliferacji (fazy S + G2/M), stabilizację cyklu komórkowego w warunkach stresu metabolicznego.

Wszystkie komórki zostały początkowo poddane 24-godzinnemu przygotowaniu metabolicznemu w pełnym medium z FBS 5%. Następnie komórki podzielono na dwie grupy:

1. Komórki przeniesiono do medium bez FBS na kolejne 24 godziny, równocześnie inkubując je z preparatami G lub GM,
2. Komórki pozostawiono w medium z FBS 5% na kolejne 24 godziny, również z dodatkiem G lub GM.

Analizy wykonano metodą cytometrii przepływowej z zastosowaniem PI/RNase Staining Buffer (BD Pharmingen). Oceniano udział komórek w fazach G0/G1, S, G2/M oraz sub-G0/G1 (wskaźnik apoptozy związanej m.in. z dysfunkcją mitochondriów).

Wyniki sugerują, że oba preparaty Grango i Grango Men, wykazują wpływ ochronny na cykl komórkowy komórek śródbłonna w warunkach pozbawionych czynników wzrostu. Preparat GM przyczyniał się do utrzymania aktywności proliferacyjnej (S + G2/M) i ograniczał akumulację komórek w fazie G0/G1, co może świadczyć o jego potencjalnym działaniu wspierającym metabolizm i cykl komórkowy mimo niedoboru składników odżywczych. Wpływ na redukcję apoptozy mitochondrialnej był jednak zmienny i wymaga dalszej weryfikacji – w jednej z prób odnotowano wzrost komórek apoptotycznych.

Zmiany w cyklu komórkowym i apoptozie sugerują, że preparaty G i GM mogą wpływać na kondycję mitochondriów. Jest to zgodne z obserwacjami, że apoptoza (sub-G0/G1) często jest konsekwencją dysfunkcji mitochondrialnej (np. utrata potencjału błony, wzrost ROS, aktywacja kaspaz). Możliwe mechanizmy działania ochronnego obejmują: stabilizację potencjału błony mitochondrialnej ($\Delta\Psi_m$), ograniczenie stresu oksydacyjnego (ROS), wsparcie metabolizmu energetycznego (utrzymanie ATP), hamowanie aktywacji szlaku apoptozy zależnego od mitochondriów.

Wniosek: Uzyskane dane uzasadniają kontynuację badań nad preparatami G i GM jako potencjalnymi protektantami mitochondrialnymi w warunkach stresu komórkowego. Kolejne etapy powinny

obejmować bezpośrednie analizy parametrów mitochondrialnych, takich potencjał błony mitochondrialnej, produkcja ATP (adenozynotrójfosforanu), poziom reaktywnych form tlenu (ROS), aktywność enzymów łańcucha oddechowego.

Kierownik

Uniwersyteckiego Laboratorium Naukowego CoreLab



Signed by / Podpisano
przez:

Jacek Szymański

Date / Data: 2025-07-11
14:03

dr n. med. Jacek Szymański