

Ekstrakt metlike (*Tamarix articulata*) inhibira umnožavanje stanica hepatocelularnog karcinoma, potiče mehanizme stanične smrti i zaustavlja stanični ciklus u fazi G₀/G₁

SAŽETAK

Pozadina istraživanja. Biljke se od davnina koriste u medicinske svrhe za liječenje različitih bolesti. U moderno doba glavni su izvor sirovina za proizvodnju lijekova, pa tako i onih protiv različitih oblika karcinoma. U ovom smo radu ispitali antikancerogeno djelovanje metanolnog ekstrakta lišća metlike (*Tamarix articulata*) na niz stanica hepatocelularnog karcinoma.

Ekperimentalni pristup. Preživljavanje stanica hepatocelularnog karcinoma ovisno o dozi ekstrakta metlike utvrđeno je pomoću tzv. MTT testa odnosno bojanjem (3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol bromidom. Stanična i nuklearna morfologija ispitanje su pomoću mikroskopa s faznim kontrastom i bojanjem 4',6-diamidino-2-fenilindol dihidrokloridom (DAPI). Imunoblot analizom određena je ekspresija proteina povezanih s autofagijom, apoptozom i staničnim ciklusom. S druge strane, protočnom je citometrijom određen broj apoptotičnih stanica nakon obrade različitim koncentracijama ekstrakta metlike, te su izbrojane stanice u različitim fazama staničnog ciklusa. Uz to, bojanjem akridinskom narančastom i diacetatnim oblikom 2',7'-diklorofluoresceina (DCFHDA) određena je količina autofagosoma i reaktivnih kisikovih spojeva.

Rezultati i zaključci. Dobiveni rezultati pokazuju da metanolni ekstrakt metlike ima dobar antiproliferacijski učinak, s IC₅₀ vrijednostima od (271,1±4,4) µg/mL za staničnu liniju HepG2, (298,3±7,1) µg/mL za staničnu liniju Huh7D12 i (336,7±6,1) µg/mL za staničnu liniju Hep3B. Utvrdili smo da ekstrakt inducira staničnu smrt aktivacijom apoptoze i autofagije. Prvo je aktivirao autofagiju, što je potvrđeno bojanjem akridinskom narančastom. Imunoblot analizom je dodatno potvrđeno da veće koncentracije ekstrakta induciraju konverziju LC3I u LC3II, te postepeno smanjuju ekspresiju proteina p62. Zatim je ekstrakt potaknuo nastajanje reaktivnih kisikovih spojeva u stanicama hepatocelularnog karcinoma te time aktivirao apoptozu. Protočna citometrija i imunoblot analiza pokazale su da je ekstrakt metlike ovisno o dozi inducirao apoptozu i aktivirao proapoptotičke proteine kaspazu-3 i PARP1. Osim toga, zaustavio je stanični ciklus u fazi G₀/G₁ te ushodno regulirao ekspresiju proteina p27/Kip i p21/Cip, pritom smanjujući ekspresiju ciklina D1 u stanicama hepatocelularnog karcinoma.

Novina i znanstveni doprinos. U radu smo pokazali da metanolni ekstrakt metlike ima dobar potencijal za ubijanje stanica tumora mehanizmima programirane smrti stanica tipa I i II, te da se može upotrijebiti za pronalazak molekula koje se mogu upotrijebiti u proizvodnji lijekova protiv tumora.

Ključne riječi: *Tamarix articulata*, autofagija, apoptoza, stanični ciklus, antiproliferacijski učinak