

Aktywność składników lateksu z *Chelidonium majus* L. względem ludzkiego wirusa brodawczaka (HPV)

Już od czasów starożytnych rośliny były wykorzystywane do leczenia różnych chorób i schorzeń. Szacuje się, że ok. 80% całej ludzkiej populacji korzysta lub korzystało z ziołolecznictwa. *Chelidonium majus* L., zwany również glistnikiem jaskółcze ziele, to szeroko rozpowszechniona w Europie i Azji bylina, która od stuleci wykorzystywana jest w tradycyjnej medycynie ludowej. Ekstrakty z tej rośliny mają właściwości przeciwbakteryjne, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe. Roślina ta wytwarza żółto-pomarańczowy lateks, zwany również sokiem mlecznym, który wypływa po przecięciu rośliny lub na skutek urazu. Lateks *C. majus* stanowi bogate źródło licznych substancji biologicznie aktywnych, takich jak alkaloidy, białka, flawonoidy, karotenoidy, kwasy organiczne itd. W medycynie tradycyjnej lateks *C. majus* stosowany był jako środek leczniczy przeciwko różnego rodzaju brodawkom (pot. kurzajkom) i kłykcinom kończystym, powstającym na skutek zakażenia ludzkim wirusem brodawczaka (HPV, ang. *Human Papillomavirus*). Wirus ten jest główną przyczyną rozwoju raka szyjki macicy i prawie 5% wszystkich nowotworów złośliwych występujących u ludzi. Transformacja nowotworowa komórek nabłonkowych wywołana wirusem HPV to złożony proces, w którym biorą udział zarówno czynniki wirusowe, jak i komórkowe. Mimo, że istnieją szczepionki przeciwko wirusowi HPV, to nadal nie ma leków dla osób już zakażonych wirusem. Dlatego niezbędne są poszukiwania nowych substancji leczniczych, które można zastosować w terapii zakażeń HPV.

Lecznicze działanie lateksu *C. majus* względem wirusa HPV jest powszechnie znane, jednak molekularny mechanizm jego aktywności wciąż nie jest do końca zrozumiały. Obserwowane przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe właściwości lateksu *C. majus* często przypisywane są zawartym w nim alkaloidom, jednak najnowsze badania wskazują, że białka lateksu również mogą odgrywać ważną rolę w jego aktywności biologicznej i farmakologicznej. Dlatego celem badań było sprawdzenie wpływu surowego lateksu *C. majus* oraz pozyskanych z niego frakcji: alkaloidowej i białkowej, na wirusa HPV oraz na różne etapy jego cyklu replikacyjnego.

Pierwszym etapem badań było pozyskanie frakcji białkowej i alkaloidowej z surowego lateksu *C. majus*, których skład sprawdzono metodą spektrometrii mas. Następnie analizowano wpływ surowego lateksu i pozyskanych z niego frakcji na stabilność cząstek pseudowirusowych HPV oraz ich przyłączanie do komórek HaCaT. Ponadto sprawdzono jak

wpływają one na infekcyjność wirusa oraz na ekspresję wirusowych onkogenów *E6* i *E7*, kluczowych dla procesu kancerogenezy, wykorzystując techniki real-time PCR i Western Blot. Analizowano również wpływ surowego lateksu i jego frakcji na poziom białek komórkowych p53 i pRB, pełniących funkcję regulatorów cyklu komórkowego, które oddziałują z wirusowymi białkami *E6* i *E7*. Wykorzystując metody Griessa i ELISA zbadano także wpływ surowego lateksu oraz jego frakcji na stymulowanie wydzielania mediatorów reakcji zapalnej (NO, TNF α , IL-6) przez komórki RAW 264.7.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że we frakcji białkowej lateksu *C. majus* oprócz białek odpowiedzialnych za metabolizm ogólny znajdują się białka obronne m.in. z grupy PR (ang. *pathogenesis-related*), a we frakcji alkaloidowej przeważają alkaloidy z grupy protoberberynowych. Surowy lateks *C. majus* oraz frakcja alkaloidowa wykazują silne właściwości cytotoksyczne względem komórek z wszystkich stosowanych linii komórkowych (HeLa, HaCaT, RAW 264.7). Surowy lateks oraz pozyskane z niego frakcje nie wpływają na stabilność białek strukturalnych (L1, L2) w cząstkach pseudowirusowych HPV oraz nie blokują oddziaływania wirusa z komórką gospodarza. Składniki lateksu, m.in. alkaloidy protoberberynowe oraz białka, obniżają natomiast infekcyjność wirusa, hamują ekspresję wirusowych onkogenów *E6* i *E7* na poziomie mRNA i białka. Alkaloidy lateksu stabilizują białko p53 będące głównym regulatorem cyklu komórkowego. Ponadto frakcja białkowa powoduje zwiększone wydzielanie TNF α , co może świadczyć o indukowaniu reakcji zapalnej i stymulowaniu układu odpornościowego, co w sposób pośredni przyczyniać się może do zwalczania zakażenia wirusowego i innych czynników chorobotwórczych.

Podsumowując, otrzymane wyniki badań wskazują, że właściwości przeciwwirusowe lateksu z *C. majus* są wynikiem współdziałania jego składników, takich jak alkaloidy, m.in. z grupy protoberberynowych, oraz białka, na różne etapy wirusowego cyklu replikacyjnego. Uzyskane wyniki otwierają drogę do badań nad oddziaływaniami synergistycznymi zachodzącymi pomiędzy alkaloidami i białkami lateksu.