

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Chemijos fakultetas

Biochemijos studijų programos IV kurso studentės

Aušros Želvytės

Bakalaurinis darbas

**Karboanhidrazių slopiklių aktyvumo tyrimas krūties vėžio
ląstelių 2D ir 3D modeliuose**

Darbo vadovė

dr. Vilma Petrikaitė

Vilnius 2016

Karboanhidrazių slopiklių aktyvumo tyrimas krūties vėžio ląstelių 2D ir 3D modeliuose

SANTRAUKA

Vėžinėms ląstelėms būdingas nevaldomas dalijimasis, suaktyvėjęs metabolizmas, navike susidaro hipoksinės sąlygos, padidėja rūgštingumas. Siekdamos prisitaikyti prie pH pokyčių, vėžinės ląstelės padidina karboanhidrazės (CA) IX bei CAXII raišką, tai padeda ląstelei išgyventi nepalankiomis sąlygomis. Biotermodinamikos ir vaistų skyriuje buvo susintetinta eilė junginių, keletas yra selektyvūs CAIX: VD-12-09, EA2-3, EA4-2o. Šie junginiai mažai slopina gyvybiškai svarbias CAI bei CAII, kurios randamos beveik visose žmogaus ląstelėse, o tai svarbu norint išvengti citotoksiškumo sveikoms ląstelėms.

Šiame darbe tirtas skirtingo selektyvumo karboanhidrazių slopiklių aktyvumas krūties vėžio BT474 bei MCF7 ląstelėse, augančiose monosluoksniu (2D kultūrose), bei iš jų suformuotuose sferoiduose (3D kultūrose). Tyrimams naudoti metodai: MTT gyvybingumo testas, junginių aktyvumo vertinimas sferoidų augimo kinetikai bei tėkmės citometrija.

Vėžio ląstelių 2D ir 3D kultūrose aktyviausias buvo junginys VD12-09. 2D kultūrose šis junginys mažino ląstelių gyvybingumą tik didelėmis koncentracijomis (50 μ M ir 100 μ M), nustatyta koreliacija tarp ląstelių gyvybingumo ir junginio koncentracijos stebima normoksijos ($r > 0,8$) ir hipoksijos sąlygomis ($r > 0,7$). 3D ląstelių kultūrose junginiai veikė net 5 μ M koncentracijomis. Labiausiai sferoidų augimą slopino junginiai VD12-09 bei EA2-3, nustatyta sferoidų dydžio kitimo priklausomybė nuo junginio koncentracijos ($r > 0,8$). Tėkmės citometrijos rezultatai atskleidė, kad MCF7 bei BT474 sferoiduose CAXII baltymo kiekis reikšmingai nesiskiria tarp skirtingais CA slopikliais paveiktų grupių ($p > 0,05$). Tyrimai patvirtino, kad perspektyviausias tolimesniuose tyrimuose yra junginys VD12-09.

Evaluation of carbonic anhydrase inhibitors activity in breast cancer 2D and 3D models

SUMMARY

It is known that cancer cells have higher metabolic rate and thus tumor microenvironment becomes more acidic and hypoxic. Carbonic anhydrase (CA) IX and CAXII have an important role in cancer progression by changing intra- and extracellular pH in response to hypoxia. Several hundreds of CA inhibitors have been synthesized at the Institute of Biotechnology: compounds VD-12-09, EA2-3, EA4-2o, which bind to CAIX significantly stronger than CAI and CAII. This selectivity toward the cancer specific CAIX is very important for drug candidates as they could have less side effects.

The aim of this study was to find out the activity of various selectivity inhibitors in breast cancer BT474 and MCF7 cells growing in monolayer (2D model) and their spheroids (3D cultures). For this aim the MTT viability test, growing spheroids size kinetics, flow cytometry were used.

The most active compound in 2D and 3D cultures was compound VD12-09. The viability test showed that this compound reduced cell viability in 2D model, but only when used in high concentrations (50 μ M and 100 μ M). The correlation between cell viability and compounds concentration was established both in normoxia ($r > 0.8$) and hypoxia ($r > 0.7$). In tumor spheroids compounds were active even at the 5 μ M concentration. The most active compounds in spheroids were compounds VD12-09 and EA2-3. Correlation between spheroid size and compound concentration was determined ($r > 0.8$). There is no significant difference of CAXII protein expression between groups affected with different CA inhibitors ($p > 0.05$). The results suggest that compound VD12-09 is the most perspective and could be developed further.