

Streszczenie pracy doktorskiej mgr Aldony Olechowskiej-Jarząb pt.: „*The effect of gastrin and non-amidated gastrin peptides on interactions between receptors activated by peroxisome proliferators (PPAR γ) and mechanisms of intestinal carcinogenesis and apoptosis in in vitro cancer*”

(“Wpływ gastryny i nie amidowanych peptydów gastryny na interakcje między receptorami aktywowanymi przez proliferatory peroksyosomów (PPAR γ) a mechanizmami karcinogenezy jelitowej i apoptozy w modelach nowotworowych in vitro”)

Nowotwory przewodu pokarmowego wg. Światowej Organizacji Zdrowia stanowią poważne zagrożenie zdrowia publicznego. Najnowsze dane Krajowego Rejestru Nowotworów z 2015 roku pokazują, że na ten rodzaj nowotworów zachorowało ponad 30.000 Polaków, w tym aż 18.500 na raka jelita grubego. Za główną przyczynę wzrostu zachorowań uznaje się postępujący proces starzenia się społeczeństwa. Choroby te dotyczą bowiem głównie ludzi starszych. Niepokojący może jednak okazać się fakt, że nowotwory przewodu pokarmowego, a zwłaszcza rak jelita grubego zaczynają dotyczyć także osób młodszych. Według Amerykańskiego Towarzystwa Onkologicznego, w latach 1995-2013 o 22% wzrosła w USA zachorowalność na ten typ nowotworów u osób przed 50 rokiem życia. Nie bez znaczenia pozostają także inne czynniki predysponujące, takie jak dieta, ograniczona aktywność fizyczna, zanieczyszczenie środowiska czy palenie tytoniu. Pojawiają się również doniesienia na temat istotnej roli mikrobiomu jelitowego w rozwoju nowotworów przewodu pokarmowego. Inne nowotwory przewodu pokarmowego występują rzadziej niż rak jelita grubego, ale cechuje je zdecydowanie wyższa śmiertelność, tak jest chociażby w przypadku raka trzustki. Obecnie w przypadku takich zmian nowotworowych jedynie interwencja chirurgiczna w określonym stadium choroby stanowi sposób leczenia, który może zapewnić szanse na przeżycie. Niestety wśród grupy pacjentów, u których występują rozległe przerzuty lub zaawansowana progresja nowotworu całkowita resekcja chirurgiczna nie zawsze jest możliwa, a dostępne formy terapii poza chirurgiczną także okazują się być nieefektywne. W walce z nowotworami szczególnie duże nadzieje budzi dokładne poznanie mechanizmów związanych z programowaną śmiercią komórkową. Uważa się bowiem, że miarą skuteczności terapii przeciwnowotworowej jest zahamowanie procesu proliferacji, a przede wszystkim zdolność indukcji w komórkach rakowych procesu apoptozy. Dlatego też lepsze zrozumienie mechanizmów molekularnych i szlaków sygnalizacyjnych wpływających na apoptozę może prowadzić do stworzenia racjonalnej antyrakowej strategii, która przyczyni się do skutecznego leczenia chorych na nowotwory w przyszłości. Celem badań stanowiących przedmiot rozprawy doktorskiej było określenie wpływu gastryny oraz nie amidowanych peptydów gastryny na interakcje pomiędzy receptorami jądrowymi PPAR γ oraz szlakiem sygnalizacji komórkowej WNT/ β -katenina w modelach in vitro nowotworów przewodu pokarmowego. Badania prowadzono in vitro na wybranych liniach komórkowych (PANC-1, OE-33) wywodzących się z nowotworów przewodu pokarmowego. Badano efekt troficzny działania gastryny i prekursorów gastryny na wybrane linie komórkowe, przy pomocy testu MTT. Dalsze eksperymenty prowadzono pod kątem oceny wpływu działania gastryny i prekursorów gastryny na interakcje pomiędzy receptorami jądrowymi PPAR γ a szlakiem sygnalizacji komórkowej WNT/ β -katenina. Do analiz prowadzonych na poziomie białek wykorzystano techniki immunoblotingu. Zaobserwowano, że gastryna oraz Gly-gastryna w określonym stężeniu 10^{-6} i 10^{-5} [M] wykazuje działanie troficzne, i ma wpływ na białko β -kateninę oraz aktywność receptorów PPAR γ . Wzrost ekspresji β -kateniny może mieć wpływ na aktywność receptora jądrowego PPAR γ , jednakże efekt ten był zauważalny tylko w linii komórkowej PANC-1. Z kolei w linii komórkowej OE-33 zaobserwowano że indukcja białka β -kateniny osłabia aktywność receptora PPAR γ . Uzyskane wyniki potwierdzają tezę, że w przypadku części nowotworów przewodu pokarmowego obserwujemy spadek aktywności PPAR γ przy jednoczesnym wzroście aktywności szlaku WNT- β -kateniny na skutek działania prekursorami gastryny. Wzrost aktywności szlaku WNT- β -kateniny sprzyja hamowaniu procesu apoptozy poprzez wzrost ekspresji białka β -kateniny w badanych liniach komórek nowotworowych.

Summary

The effect of gastrin and non-amidated gastrin peptides on interactions between receptors activated by peroxisome proliferators (PPAR γ) and mechanisms of intestinal carcinogenesis and apoptosis in in vitro cancer models.

Gastrointestinal cancer by The World Health Organization poses a serious threat to public health. The latest data from the National Cancer Registry from 2015 show that over 30,000 Poles have fallen ill with this type of cancer, including as many as 18,500 with colorectal cancer. The main reason for the increase in the incidence of gastrointestinal cancers is the progressive aging of the population. This disease mainly affects older people. However, it may be disturbing that gastrointestinal cancers, especially colorectal cancer, are also beginning to affect young people. According to the American Cancer Society, in 1995-2013, the incidence of this type of cancer in people aged under 50 increased by 22% in the USA. Other predisposing factors, such as diet, limited physical activity, environmental pollution and smoking are also important. There are also reports on the important role of intestinal microbiome in the development of gastrointestinal cancers. Other gastrointestinal cancers are less common than colorectal cancer, but they have a significantly higher mortality rate. This is the case with pancreatic cancer. Currently, in the case of such neoplastic lesions, only surgical intervention at a specific stage of the disease is a treatment that can provide a chance of survival. Unfortunately, among the group of patients who have extensive metastases or advanced cancer progression, complete surgical resection is not always possible, and the available forms of non-surgical therapy also prove to be inefficient. In the fight against cancer, getting to know the mechanisms associated with the process of apoptosis gives high hopes. It is believed that a measure of the effectiveness of cancer therapy is inhibition of the proliferation process and, above all, the ability to induce apoptosis in cancer cells. Therefore, a better understanding of molecular mechanisms and signaling pathways affecting apoptosis can lead to the creation of a rational anti-cancer strategy that will contribute to the successful treatment of cancer patients in the future.

The aim of the research being the subject of the doctoral dissertation was to determine the effect of gastrin and non-amidated gastrin peptides on interactions between PPAR γ nuclear receptors and the WNT / β -catenin cell signaling pathway in in vitro gastrointestinal cancer models. Studies were conducted in vitro on selected cell lines (PANC-1, OE-33) originating from gastrointestinal cancer. The trophic effect of gastrin and gastrin precursors on selected cell lines was investigated using an MTT test. Experiments were also conducted to assess the effect of gastrin and gastrin precursors on interactions between PPAR γ nuclear receptors and the WNT / β -catenin cell signaling pathway. Immunoblotting techniques were used for analyzes carried out at the protein level. It has been observed that gastrin and Glygastrin at a specific concentration of 10^{-6} and 10^{-5} [M] have trophic effects, and have an effect on the β -catenin protein and the activity of PPAR γ receptors. The increase in β -catenin expression may affect the PPAR γ nuclear receptor activity, however, this effect was only noticeable in the PANC-1 cell line. In turn, in the OE-33 cell line, induction of β -catenin protein was observed to weaken PPAR γ receptor activity. The obtained results confirm the thesis that in some gastrointestinal neoplasms we observe a decrease in PPAR γ activity with a simultaneous increase in the activity of the WNT- β -catenin pathway due to the action of gastrin precursors. An increase in the activity of the WNT- β -catenin pathway is conducive to inhibiting the process of apoptosis by increasing the expression of β -catenin protein in the studied tumor cell lines.