

The effect of DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibitors on α Klotho gene expression in bladder cancer T24 cell line

Wpływ inhibitorów metylotransferaz DNA oraz deacetylaz białek histonowych na ekspresję genu α Klotho w komórkach raka pęcherza moczowego linii T24

AGNIESZKA SZYMCZYK, EWA FORMA

Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Abstract

Introduction: *α Klotho* gene was originally identified as a putative age-suppressing gene in mice. Recently it is known that *α Klotho* gene functions as a tumor suppressor in many types of cancer, including breast, pancreas, gastric, colon, lung and cervical cancer. The downregulation of *α Klotho* expression was associated with CpG hipermethylation of promoter region and histone deacetylation. Bladder cancer is the most common cancer of the urinary tract in Polish population. The aim of this study was the analysis of the effect of DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibitors on *α Klotho* gene expression in bladder cancer cells.

Materials and methods: In this study T24 bladder cancer cell line was used. The analysis of the effect of DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibitors on *α Klotho* gene expression was performed using Real Time PCR method with TaqMan probes. To determine the methylation profile of *α Klotho* gene promoter region quantitative Methylation-Specific Polymerase Chain Reaction technique was used.

Results: The treatment of T24 cells with DNA methyltransferase inhibitor (AZA) restored the expression of *α Klotho* gene. After AZA treatment, the methylation level of CpG island in the promoter region of *α Klotho* gene was nearly half lower ($p < 0.05$) than control cells. In case of the treatment of T24 cells with histone deacetylase inhibitor (TSA) we did not observe any changes in *α KL* gene expression in respect to the control cells. Treatment cells with both the inhibitors led to the significant increase of mRNA *α Klotho* gene expression level ($p < 0.001$).

Conclusions: The changes in *α Klotho* gene expression on mRNA level are associated with epigenetic changes.

Key words: bladder cancer, klotho, DNA methylation, histone deacetylation

Streszczenie

Wstęp: Gen *aKlotho* pierwotnie zidentyfikowany został u myszy jako gen, którego ekspresja wpływa na długość ich życia. Obecnie wiadomo, że *aKlotho* spełnia funkcję genu supresorowego w przypadku wielu typów nowotworów, m.in. w raku piersi, trzustki, żołądka, płuc, okrężnicy i raku szyjki macicy. Wykazano, że spadek ekspresji genu *aKlotho* związany jest z hipermetylacją wysp CpG w obrębie regionu promotorowego oraz deacetylacją histonów. Rak pęcherza moczowego jest najczęściej występującym nowotworem układu moczowego w Polsce. Celem prowadzonych badań była analiza wpływ inhibitorów metylotransferaz DNA oraz deacetylaz białek histonowych na ekspresję genu *aKlotho* w komórkach raka pęcherza moczowego.

Materiały i metody: Materiał do badań stanowiła linia komórek raka pęcherza moczowego T24. Analizę wpływu inhibitorów metylotransferaz DNA oraz deacetylaz białek histonowych na ekspresję genu *aKlotho* prowadzono techniką Real Time PCR z użyciem sond fluorescencyjnych TaqMan. Ocenę stopnia metylacji regionu promotorowego badanego genu prowadzono przy użyciu techniki ilościowego MSP-PCR (ang. *Methylation-Specific Polymerase Chain Reaction*).

Wyniki: W wyniku traktowania komórek linii T24 inhibitorem metylotransferaz DNA (AZA) obserwowano przywrócenie ekspresji genu *aKlotho*. W porównaniu do komórek kontrolnych, komórki traktowane 5-aza-2'-deoksycytydyną wykazywały blisko o połowę niższy stopień metylacji wysp CpG w regionie promotorowym genu *aKlotho* ($p < 0,05$). W wyniku traktowania komórek inhibitorem deacetylaz białek histonowych (TSA) nie obserwowano zmian w ekspresji genu *aKL*. Zastosowanie obu inhibitorów prowadziło do istotnego wzrostu ekspresji genu *aKlotho* na poziomie mRNA ($p < 0,001$).

Wnioski: Zmiany ekspresji genu *aKlotho* na poziomie mRNA związane są ze zmianami we wzorze modyfikacji epigenetycznych.

Słowa kluczowe: rak pęcherza moczowego, klotho, metylacja DNA, deacetylacja histonów

Rola mesalazyny w chemoprewencji raka jelita grubego

The role of mesalazine in the chemoprevention of colorectal cancer

ANDRZEJ WASILEWSKI¹, ADAM I. CYGANKIEWICZ²

¹Zakład Biochemii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,
Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Rak jelita grubego (RJG) jest czwartym najczęściej rozpoznawanym rakiem u kobiet i trzecim u mężczyzn. Każdego roku stwierdza się ponad milion nowych zachorowań i ponad sześćset tysięcy zgonów z powodu RJG. Do czynników ryzyka RJG zalicza się niezdrowy styl życia, predyspozycje genetyczne (stwierdzone w około 25% przypadków zachorowań) oraz choroby zapalne jelit. Wśród pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Leśniowskiego-Crohna występuje podwyższone ryzyko zachorowania na RJG. Wiele badań wykazało ochronne działanie niesteroidowych leków przeciw-zapalnych, w tym mesalazyny, w chemoprewencji raka jelita grubego. Badania wykazały, że regularne przyjmowanie mesalazyny - dzięki jej wielo-kierunkowemu działaniu - powodowało redukcję rozwoju polipów jelita grubego i transformacji nowotworowej komórek jelita grubego. Przeciwzapalne mechanizmy działania mesalazyny polegają na modulowaniu produkcji cytokin zapalnych, hamowaniu cyklooksygenazy oraz oddziaływaniu na szlaki sygnałowe z udziałem czynnika transkrypcyjnego NF- κ B i receptorów PPAR δ . W konsekwencji mesalazyna hamuje, bądź przynajmniej opóźnia, procesy nowotworzenia.

Słowa kluczowe: mesalazyna, chemoprewencja, nowotworzenie, rak jelita grubego

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is the fourth most commonly diagnosed cancer in females and the third in males. Every year there are more than a million new cases of colorectal cancer and more than six hundred thousand patients

die. The risk factors of colorectal cancer include unhealthy lifestyle, genetic predisposition (found in about 25% of cases) and chronic colon inflammation i.e., ulcerative colitis and Crohn's disease. Many studies suggested the protective effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, including mesalazine, on the chemoprevention of colorectal cancer. Studies have shown that the regular intake of mesalazine reduces the risk of developing colorectal polyps and cancer by its multidirectional action. Anti-inflammatory mechanisms include the modulation of inflammatory cytokine production, COX inhibition and impact on NF- κ B and PPAR δ pathways. Consequently, mesalazine inhibits, or at least delays, the processes of carcinogenesis.

Key words: mesalazine, chemoprevention, carcinogenesis, colon cancer

Rola tryptofanu i serotoniny w patogenezie i leczeniu zespołu jelita nadwrażliwego

The role of tryptophan and serotonin in pathogenesis and treatment of irritable bowel syndrome

AGNIESZKA STĘPIEŃ, EWA WALECKA-KAPICA,
ALEKSANDRA BŁOŃSKA, GRAŻYNA KLUPIŃSKA

Zakład Żywienia Klinicznego i Diagnostyki Gastroenterologicznej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Zespół jelita nadwrażliwego (IBS) jest czynnościową chorobą przewodu pokarmowego o bardzo złożonej etiopatogenezie. Wyróżnia się trzy postacie kliniczne tego zespołu: zaparciową, biegunkową i mieszaną. Wśród czynników etiopatogenetycznych wymienia się m. in. predyspozycje genetyczne, środowiskowe, zapalne, przewlekły stres i depresję. Dlatego rozważa się, czy choroba dotyczy układu pokarmowego czy nerwowego. Zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i w układzie pokarmowym występuje wiele takich samych receptorów i neuroprzebieżników, uczestniczących w regulacji czynności tych układów. Wśród nich ważną rolę odgrywa serotonina. Do głównych funkcji serotoniny należy udział w regulacji czynności motorycznej i wydzielniczej przewodu pokarmowego. Jej prekursorem jest egzogeny aminokwas L-tryptofan. Niedobór lub nadmiar obu związków oraz zaburzenia ich metabolizmu mają wpływ na nieprawidłowe funkcjonowanie jelit. Biorąc to pod uwagę, w leczeniu zespołu jelita nadwrażliwego nie powinno się zatem zapominać o odpowiedniej diecie. Wykazano, że pacjenci z biegunkową postacią IBS mają, w porównaniu ze zdrowymi osobami, wyższe stężenie serotoniny we krwi. Różnicy takiej nie zaobserwowano w postaci zaparciowej jelita nadwrażliwego. Dodatkowo, u pacjentów z typem zaparciowym choroby obserwowano niższe stężenie metabolitu serotoniny – kwasu 5-hydroksy-3-indoloctowego w moczu. Pacjenci z wyższym poposiłkowym stężeniem serotoniny we krwi odczuwają dolegliwości po spożyciu posiłku. Potwierdza to zasadność stosowania selektywnych inhibitorów zwrotnego wychwytu serotoniny w leczeniu pacjentów z zaparciową postacią zespołu jelita nadwrażliwego. Zwiększa się wówczas dostępność serotoniny w organizmie, co pobudza perystaltykę jelit. Zasadne może być zatem zalecenie chorym z postacią zaparciową jelita nadwrażliwego spożywania produktów bogatych w tryptofan, podczas gdy pacjenci z postacią biegunkową powinni ograniczyć ich spożycie.

Słowa kluczowe: zespół jelita nadwrażliwego, tryptofan, serotonina

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a functional gastrointestinal disorder of a very complex etiopathogenesis. There are three clinical types of this syndrome: with constipation, with diarrhea and mixed, with alternating constipation and diarrhea. Etiopathogenetic factors include, among others, genetic, environmental and inflammatory predispositions, chronic stress and depression. Therefore, it is contemplated whether the disease affects the digestive or the nervous system. Both, in the central nervous system and in the gastrointestinal tract, there are many same receptors and neurotransmitters involved in the regulation of their activities. Among them, serotonin plays an important role. The main function of serotonin is the regulation of gastrointestinal motility and secretion. L-tryptophan, exogenous amino acid, is its precursor. The deficiency or the excess of both the compounds and disorders in their metabolism affect the abnormal bowel function. Thus, taking this into account, a proper diet should not be forgotten in the treatment of irritable bowel syndrome. It has been demonstrated that patients with diarrhea-predominant IBS have a higher blood serotonin level compared to healthy subjects. No such difference was observed in constipation-predominant IBS. Furthermore, patients with constipation-predominant disease demonstrated lower levels of serotonin metabolite – 5-hydroxy-3-indoleacetic acid (5-HIAA) in urine. Patients with higher postprandial blood levels of serotonin feel discomfort after a meal. This confirms the validity of the use of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of patients with constipation-predominant IBS, as the availability of this neurotransmitter is increased in the body, which stimulates peristalsis. Thus, it may be reasonable to recommend patients with constipation-predominant IBS a diet rich in tryptophan-containing foods, whereas patients with diarrhea-predominant IBS should avoid their consumption.

Key words: irritable bowel syndrome, tryptophan, serotonin

Wydzielanie serotoniny i melatoniny oraz mioelektryczna i motoryczna czynność żołądka u kobiet po menopauzie

Secretion of the serotonin and melatonin and myoelectrical and motor gastric activity in postmenopausal women

WALDEMAR JAŁOCHA¹, PATRYCJA WACHOWSKA-KELLY², AGNIESZKA STĘPIEŃ¹,
PAWEŁ WOJTKIEWICZ³, EWA WALECKA-KAPICA¹, JAN CHOJNACKI²,
GRAŻYNA KLUPIŃSKA¹

¹Zakład Żywienia Klinicznego i Diagnostyki Gastroenterologicznej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Klinika Gastroenterologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Oddział Gastroenterologii, Szpital Marynarki Wojennej w Gdańsku

Streszczenie

U kobiet po menopauzie występują różnorodne zaburzenia psychosomatyczne, w tym dotyczące nastroju i łaknienia. Przyczyną tego jest niedobór estrogenów, ale także innych hormonów i neurotransmiterów. Celem badania było określenie stężenia serotoniny i melatoniny oraz czynności mioelektrycznej i motorycznej żołądka u kobiet po menopauzie w odniesieniu do ich stanu odżywienia. Badania przeprowadzono w trzech 30-sto osobowych grupach kobiet: przed menopauzą (grupa I), po menopauzie z prawidłową masą ciała (grupa II), po menopauzie ze współistniejącą nadwagą (grupa III). W porównaniu z grupą I, w grupie II nie stwierdzono istotnych różnic, natomiast w grupie III niższe było stężenie serotoniny, odpowiednio $156,5 \pm 40,2$ ng/mL i $83,4 \pm 32,5$ ng/mL ($p < 0,01$), a także niższy był odsetek prawidłowej czynności mioelektrycznej żołądka (normogastrii) – $82,9 \pm 5,6\%$ i $66,9 \pm 8,2$ ($p < 0,05$) oraz krótszy był czas połowicznego opróżniania żołądka ($43,6 \pm 14,7$ min. i $27,4 \pm 12,2$ min.; $p < 0,01$). Ponadto stwierdzono odwrotną zależność między wskaźnikiem masy ciała a stężeniem serotoniny ($r = -0,4744$) i melatoniny ($r = -0,7146$). Wyniki badań wskazują na udział serotoniny i melatoniny w patogenezie zaburzeń odżywiania u kobiet po menopauzie.

Słowa kluczowe: menopauza, serotonina, melatonina, elektrogastrografia, opróżnianie żołądkowe, wskaźnik masy ciała

Abstract

In postmenopausal women various psychosomatic disorders concerning mood and appetite occur. The reason is not only estrogen deficiency, but also other hormones and neurotransmitters. The aim of the study was to estimate serotonin and melatonin levels and myoelectrical activity and gastric motor in postmenopausal women in relation to their nutritional status. The study was conducted in three 30-person groups of women: premenopausal (group I), postmenopausal with a normal body mass (group II), postmenopausal overweight (group III). Compared with group I, in group II there were no significant differences, while in group III serotonin level was lower respectively 156.5 ± 40.2 ng/ml and 83.4 ± 32.5 ng/ml ($p < 0.01$), as well as the percentage of normogastria – $82.9 \pm 5.6\%$ and 66.9 ± 8.2 ($p < 0.05$) and gastric emptying half-time 43.6 ± 14.7 min and 27.4 ± 12.2 min ($p < 0.01$). Moreover, a negative correlation between body mass index and serotonin ($r = -0.4744$) and melatonin ($r = -0.7146$) levels was observed. The study results indicate the involvement of serotonin and melatonin in the pathogenesis of eating disorders in postmenopausal women.

Key words: menopause, serotonin, melatonin, electrogastrography, gastric emptying, body mass index

Ocena jakości snu w odniesieniu do stężenia serotoniny i melatoniny w surowicy u osób z marskością wątroby

Evaluation of the quality of sleep in relation to serotonin and melatonin levels in patients with liver cirrhosis

KAROLINA TOMASZEWSKA-WARDA¹, EWA WALECKA-KAPICA², MONIKA PAWŁOWICZ¹,
PATRYCJA WACHOWSKA-KELLY¹, CEZARY CHOJNACKI²

¹Klinika Gastroenterologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Żywienia Klinicznego i Diagnostyki Gastroenterologicznej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

U osób z marskością wątroby występują zaburzenia snu, co zwykle wiąże się ze zmianą rytmu wydzielania melatoniny i jej metabolizmu. Zespół opóźnionej fazy snu nie zawsze koreluje ze stopniem uszkodzenia wątroby, co wskazuje na udział innych czynników w jego patogenezie. Celem badania było określenie zależności między nocnym wydzielaniem serotoniny i melatoniny a stopniem zaburzeń snu. Do badań włączono 60 osób z marskością wątroby (grupa badana) i 30 osób zdrowych (grupa kontrolna). W porównaniu do grupy kontrolnej, u chorych z pierwszym stopniem encefalopatii wątrobowej (wg skali West Haven) o godzinie 2:00 stwierdzono niższe stężenie melatoniny w surowicy (odpowiednio $57,5 \pm 10,2$ pg/mL i $41,2 \pm 9,4$ pg/mL, $p < 0,05$), zaś u osób z drugim stopniem encefalopatii - niższe stężenie serotoniny (odpowiednio $171,2 \pm 45,0$ i $108,4 \pm 29,3$ µg/mL, $p < 0,01$). Stężenia hormonów ujemnie korelowały ze stopniem zaburzeń snu. Uzyskane wyniki wskazują, że u chorych z marskością wątroby występują zmiany homeostazy zarówno melatoniny, jak i serotoniny, które mogą być przyczyną zaburzeń snu.

Słowa kluczowe: marskość wątroby, encefalopatia, serotonina, melatonina, zaburzenia snu

Abstract

Sleep disorders occur in people who suffer from liver cirrhosis, this usually involves a change in the rhythm of melatonin secretion and its metabolism. Delayed sleep phase syndrome does not always correlate with the degree of liver damage, indicating the involvement of other factors in its pathogenesis. The aim of the study was to estimate the correlation between the night secretion of the serotonin and melatonin and the degree of sleep disorders. There were 60 patients with liver cirrhosis and 30 healthy subjects (control group) included in the study. Compared to the control group, in the first stage of hepatic encephalopathy (according to West Haven Scale) at 2 o'clock a.m. a low serum melatonin level was observed (57.5 ± 10.2 pg/mL and 41.2 ± 9.4 pg/mL, $p < 0.05$) and even lower concentration of serotonin (171.2 ± 45.0 and 108.4 ± 29.3 μ g/mL, $p < 0.01$). These results negatively correlated with the degree of sleep disorders. The obtained results indicate that in patients with liver cirrhosis the changes in the homeostasis of both serotonin and melatonin occur, which can cause sleep disorders.

Key words: cirrhosis, encephalopathy, serotonin, melatonin, sleep disorder

Biochemiczna ocena skuteczności leczenia pacjentów z akromegalią

Biochemical evaluation of the treatment effectiveness in patients with acromegaly

JULITA FUSS-CHMIELEWSKA, ALEKSANDRA ROSIAK, HANNA PISAREK,
KAROLINA BEDA-MALUGA, KATARZYNA WINCZYK

Zakład Neuroendokrynologii, Międzywydziałowa Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Wstęp: Głównym sposobem leczenia akromegalii jest operacyjne usunięcie guza. Farmakoterapię, głównie analogami somatostatyny (SSA), stosuje się jako postępowanie przygotowawcze do zabiegu oraz leczenie uzupełniające po operacji. W diagnostyce akromegalii, a także w ocenie efektywności leczenia kluczowe znaczenie mają badania laboratoryjne - stężenie hormonu wzrostu (GH) w teście obciążenia glukozą (OGTT) i stężenia we krwi insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1).

Celem naszej pracy była ocena skuteczności leczenia w ośrodku łódzkim pacjentów z akromegalią w oparciu o biochemiczne kryteria wyleczenia.

Materiały i metody: Grupę badaną stanowiło 40 chorych w wieku 25 - 83 lat hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2003 - 2010. Stężenie GH i IGF-1 oznaczono metodą chemi-luminescencji wzmocnionej enzymatycznie (EACLIA) na analizatorze IMMULITE 1000 firmy Siemens. Jako kryteria wyleczenia przyjęto normalizację w surowicy stężenia IGF-1 i stężenie GH po doustnym podaniu glukozy < 1 ng/mL.

Wyniki: Wyleczonych zostało 25 z 40 badanych (63%). U 14 pacjentów normalizację IGF-1 i GH uzyskano w wyniku zabiegu operacyjnego, 11 osób uzyskało prawidłowe parametry laboratoryjne dopiero po leczeniu uzupełniającym – pięciu po leczeniu SSA, czterech po radioterapii, a dwóch po farmako- i radioterapii łącznie. Piętnastu pacjentów z grupy badanej nie zostało wyleczonych - u 13 z nich zastosowano leczenie uzupełniające SSA. Większość z nich (75%) była operowana z powodu makrogruczolaka przysadki. U 11 osób zarówno stężenia GH, jak i IGF-1 przekraczały granice wartości referencyjnych. Skuteczność operacji była wyższa u chorych leczonych SSA, gdyż wśród 21 pacjentów leczonych przed zabiegiem SSA, tylko u pięciu nie odnotowano normalizacji GH i/lub IGF-1.

Wnioski: Ocena stężenia GH i IGF-1 w połączeniu z wynikiem rezonansu magnetycznego okolicy przysadki pozwala ustalić efekty leczenia akromegalii. U większości chorych po chirurgicznym usunięciu gruczolaka przysadki niezbędna jest terapia uzupełniająca, przede wszystkim farmakologiczna analogami somatostatyny, a w niektórych przypadkach konieczna jest reoperacja i/lub radioterapia. Ponadto przedoperacyjne podawanie analogów somatostatyny zdecydowanie zwiększa skuteczność leczenia akromegalii.

Słowa kluczowe: akromegalia, kryteria wyleczenia, hormon wzrostu, IGF-1, leczenie operacyjne, analogi somatostatyny