

## STRESZCZENIE

**Wstęp.** Rak jelita grubego (CRC) jest jednym z najczęstszych nowotworów złośliwych na świecie. Czynniki zwiększające ryzyko powstawania tego typu nowotworu to wiek, otyłość brzuszna, niewłaściwa dieta obfitująca w tłuszcze zwierzęce, niska podaż kwasu foliowego oraz choroby zapalne jelit. Badania epidemiologiczne wykazały dodatnią korelację między otyłością a zwiększonym ryzykiem wystąpienia CRC. Wisfatyna jest adipocytokiną wytwarzaną głównie przez trzewną i podskórną tkankę tłuszczową. Poziom ekspresji genu kodującego wisfatynę jest zwiększony w komórkach nowotworowych izolowanych z guzów pierwotnych gruczolakoraków jelita grubego.

**Cele pracy.** Określenie żywotności oraz odsetka komórek apoptotycznych i nekrotycznych w hodowli komórek ludzkiego raka okrężnicy linii Caco-2 stymulowanych wisfatyną w różnych stężeniach. Ocena wpływu wisfatyny na wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT) oraz cytokin  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  w hodowli komórek Caco-2 *in vitro*.

**Material i metody.** Hodowle komórek linii Caco-2 były prowadzone w warunkach standardowych (5% nasycenia  $\text{CO}_2$ , temperatura  $37\text{ }^\circ\text{C}$ ). Pomiaru żywotności komórek dokonano z wykorzystaniem testu MTS. Detekcja RFT została przeprowadzona metodą fluorymetryczną z użyciem pochodnej dichlorofluoresceiny (DCF). Anionorodnik ponadtlenkowy został oznaczony z użyciem cytometrii przepływowej z użyciem reagenta MitoSOX. Ilość komórek apoptotycznych i nekrotycznych została określona z użyciem cytometrii przepływowej przy użyciu zestawu z aneksyną-V (Anexine V-FITC apoptotic kit). Stężenie cytokin  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  zostało oznaczone metodą immunoenzymatyczną (ELISA).

**Wyniki.** Największy spadek żywotności komórek linii Caco-2 oraz wzrost odsetka komórek apoptotycznych obserwowano w grupie komórek stymulowanych wisfatyną w najniższych stężeniach (0,1, 10 ng/ml). Przeciwny efekt, nieznaczny wzrost żywotności i obniżenia nasilenia apoptozy, obserwowano po stymulacji komórek wisfatyną w stężeniu 100 ng/ml. Obserwowano obniżenie wytwarzania RFT, w tym anionorodnika ponadtlenkowego, oraz cytokin prozapalnych  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  w komórkach linii Caco-2 traktowanych wisfatyną w stężeniu 100 ng/ml.

**Wnioski.** Wisfatyna zależnie od użytego stężenia wykazuje odmienne efekty względem komórek linii Caco-2. Efekt antyoksydacyjny i antyapoptotyczny obserwowano, gdy komórki Caco-2 traktowano wisfatyną w stężeniu 100 ng/ml.

**słowa kluczowe:** wisfatyna, reaktywne formy tlenu, apoptoza, rak jelita grubego

---

## ABSTRACT

**Introduction.** Colorectal cancer (CRC) is one of the most frequently encountered malignant neoplasms occurring worldwide. The factors which increase the risk of its development include age, abdominal obesity, improper diet rich in animal fats, low supply of folic acid, as well as enteritis conditions. Epidemiological studies revealed the existence of positive correlation between obesity and increased risk of CRC. Visfatin is an adipokine produced mainly by visceral and hypodermic fatty tissue. The level of expression of visfatin-encoding gene is increased in neoplastic cells isolated from primary colorectal adenocarcinoma tumours.

**Aims of the study.** Determination of viability and the percentage of apoptotic and necrotic cells of human colorectal cell cultures, belonging to Caco-2 line, stimulated with visfatin in various concentrations. The assessment of the influence exerted by visfatin on generation of reactive oxygen species (ROS) and cytokines: TNF- $\alpha$  , IL-1 $\beta$  in Caco-2 cell cultures *in vitro*.

**Material and methods.** Cell cultures of the Caco-2 line were carried out in standard conditions of 5% saturation with CO<sub>2</sub>, at the temperature of 37°C. The measurements concerning cell viability were performed applying the MTS test. RFT detection was performed with the use of fluorimetric method, with the application of dichlorofluorescein (DCF) derivative. The superoxide radical anion has been determined with the use of flow cytometry, with the application of MitoSOX reagent. The number of apoptotic and necrotic cells has been determined using flow cytometry, with the application of annexin V-FITC apoptotic kit. The concentration of cytokines: TNF- $\alpha$  , IL-1 $\beta$  has been determined by means of immunoenzymatic method (ELISA).

**Results.** The most significant reduction of viability in cells of Caco-2 line, as well as increase of the percentage of apoptotic cells has been noted in the group cells stimulated with visfatin at lowest concentrations (0,1, 10 ng/ml). An opposite effect, being a slight increase in viability and reduction of apoptosis intensity, has been noted after stimulating the cells with visfatin in the concentration of 100 ng/ml. Reduction in the production of ROS has been noted, including superoxide radical anion and inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  , IL-1 $\beta$  in cells of Caco-2 line treated with visfatin in the concentration of 100 ng/ml.

**Conclusions.** Visfatin, depending on the concentration that has been used, has demonstrated different effects in relation to cells of Caco-2 line. Antioxidative and anti-

---

apoptotic effect has been noticed when Caco-2 cells were treated with visfatin in the concentration of 100 ng/ml.

**key words:** visfatin, reactive oxygen species, apoptosis, colorectal cancer

---