



**III Zjazd Polskiego
Towarzystwa Neuroendokrynologii**

25–26 listopada 2010 roku

Kraków, Audytorium Maximum
ul. Krupnicza 33

Współorganizatorzy:
Sekcja Endokrynologii Doświadczalnej PTE
Sekcja Neuroendokrynologii PTE

PROGRAM

Czwartek, 25 listopada 2010 roku

- 14.00 **Otwarcie Zjazdu**
- 14.15–16.30 **Sesja I**
Melatonina i neuroendokrynologia starzenia
Sesja dedykowana pamięci Profesora Michała Karaska
- 1. Profesor Michał Karasek (1937–2009) — życie i działalność**
Professor Michał Karasek (1937–2009) — his life and scientific activity
Marek Pawlikowski
 - 2. Starzenie a neuroendokrynologia**
Ageing and neuroendocrinology
Stefan Zgliczyński
 - 3. Udział czynników genetycznych i epigenetycznych w długowieczności**
Genetic and epigenetic factors in longevity
Monika Puzianowska-Kuźnicka
 - 4. Wzajemne oddziaływania między szyszynką a układem odpornościowym: dobowe i sezonowe zależności w funkcjonowaniu osi szyszynka — układ odpornościowy**
Pineal-immune axis — circadian and seasonal aspects of the reciprocal interrelationships
Krystyna Skwarło-Sołta, Markowska Magdalena, Majewski Paweł
 - 5. Regulacja ekspresji i funkcjonowania receptorów melatoninowych w splenocytach ptaków i ssaków**
Regulation of melatonin receptors expression and function in avian and mammalian splenocytes
Małgorzata Broszkiewicz, Małgorzata Nowicka, Urszula Śmietanka, Agnieszka Szczur, Magdalena Markowska
 - 6. Eksperymentalny stan zapalny otrzewnej kurcząt obniża biosyntetyczną aktywność szyszynki przez hamowanie ekspresji genu AANAT**
Peritonitis inhibits chicken pineal biosynthetic activity through the AANAT gene expression down regulation
Paweł Majewski, Aneta Piesiewicz, Urszula Kędzierska, Maria Waloch, Krystyna Skwarło-Sołta
- 16.45–18.15 **Sesja II**
Neuroendokrynologia rozrodu
- 1. Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of puberty in the rhesus monkey**
Tony M. Plant
 - 2. Molekularne mechanizmy syntezy gonadotropin**
Molecular mechanisms of gonadotropin biosynthesis
Alina Gajewska
 - 3. Ocena wpływu walproinianu sodu (VPA) na aktywność szlaku IP_3 /PKC w komórkach przedniego płata przysadki samicy szczura *in vitro***
Evaluation of sodium valproate (VPA) effect on IP_3 /PKC activity in anterior pituitary cells of female rats in vitro
Elżbieta Wasilewska-Dziubińska, Alina Gajewska, Anna Herman, Ewa Wolińska-Witort, Magdalena Chmielowska, Lidia Martyńska, Małgorzata Kalisz, Kazimierz Kochman

4. **Wpływ oreksyny A na wydzielanie LH i FSH z komórek przysadki niedojrzałych i dojrzałych samic szczura w warunkach hodowli pierwotnej**

The influence of orexin A on LH and FSH secretion in immature and mature female rat pituitary cells in primary culture

Lidia Martyńska, Ewa Wolińska-Witort, Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik, Elżbieta Wasilewska-Dziubińska, Małgorzata Kalisz, Bogusława Baranowska

18.30–19.45

Sesja III

Neurohormony w rozpoznawaniu i leczeniu nowotworów

1. **Antagoniści hormonu uwalniającego hormon wzrostu (GHRH) — perspektywy farmakologicznego leczenia nowotworów hormono-zależnych**

Growth hormone-releasing hormone (GHRH) antagonists — perspectives for pharmacological therapy of endocrine-related cancers

Henryk Stępień, Agnieszka Siejka, Hanna Ławnicka, Ewelina Motylewska, Gabriela Meleń-Mucha, Tomasz Stępień, Jan Komorowski

2. **Śmiertelność u pacjentów z chorobami układu podwzgórzowo-przysadkowego**
Mortality in patients with hypothalamic-pituitary disease

Wojciech Zgliczyński

3. **Przerzuty do przysadki — charakterystyka kliniczna i różnicowanie z gruczolakiem przysadki**

Pituitary metastases — clinical presentation and differentiation from pituitary adenoma

Włodzimierz Liebert, Janusz Szymaś, Ryszard Waśko, Bartosz Sokół, Magdalena Jaskuła

Piątek, 26 listopada 2010 roku

8.00–9.50

Sesja IV

Neuroendokrynologia zespołu metabolicznego

1. **Gut — brain interaction and regulation of energy homeostasis**

Karl-Heinz Herzig

2. **Metaboliczne i wazoprotekcyjne aspekty działania adiponektyny w okresie starzenia. Nadzieje i kontrowersje**

The metabolic and vasoprotective aspects of adiponectin action in aging. Promises and controversies

Bogusława Baranowska

3. **Neuroendokrynne odrębności zespołu metabolicznego.**

Neuroendocrine differences in metabolic syndrome

Wojciech Bik

4. **Atorwastatyna zmienia syntezę opioidów w przysadce prosiąt z cukrzycą**

Pituitary opioid synthesis affected by atorvastatin in diabetic piglets

Krystyna Pierzchała-Koziec, Joanna Zubel, Ewa Octoń, Jacek Fedorczyk

5. **Wpływ leptyny na aktywność sekrecyjną komórek przysadki samic szczura — badania *in vitro***

The effect of leptin on the secretory activity of pituitary cells of female rats — in vitro studies

Ewa Wolińska-Witort, Lidia Martyńska, Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik, Małgorzata Kalisz, Elżbieta Wasilewska-Dziubińska, Bogusława Baranowska

6. **Stężenie rezystyny i wisfatyny w przysadce hiperglikemicznych prosiąt**

Pituitary resistin and visfatin levels in the diabetic piglets

Joanna Zubel, Ewa Octoń, Jacek Fedorczyk, Krystyna Pierzchała-Koziec

10.05–11.40

Sesja V

Tematy różne

- 1. Setna rocznica odkrycia przez Stellę Starkel i Lesława Węgrzynowskiego strefy płodowej nadnerczy człowieka — do czego doszliśmy?**
100th anniversary of Stella Starkel and Lesław Węgrzynowski 's discovery of the human adrenal fetal zone — how far have we gone?
Ludwik K. Malendowicz
- 2. Występowanie i rola polipeptydów wywodzących się z preproghreliny oraz ich receptorów w nadnerczach szczura**
Expression and role of preproghrelin derived peptides and their receptors in the rat adrenal gland
Marcin Ruciński, Agnieszka Ziółkowska, Marianna Tyczewska, Ludwik K. Malendowicz
- 3. Ocena wykrywania makroprolaktyny metodą precypitacji i ultrafiltracji**
Evaluation of macroprolactin detection with precipitation and ultrafiltration methods
Karolina Beda-Maluga, Hanna Pisarek, Jan Komorowski, Marek Pawlikowski, Jacek Świętosławski, Katarzyna Winczyk
- 4. Zróżnicowana odpowiedź genu oksytocyny (OXY) oraz jej receptora w korze i rdzeniu nadnerczy podczas stresu**
Differential response of OXY and its receptor gene expression to stress in the adrenal cortex and medulla
Danuta Wrońska-Fortuna, Konrad Szychowski, Andrzej Sechman, Małgorzata Błachuta
- 5. Specyficzność różnic odpowiedzi hormonalnej na stresory może zależeć od indywidualnej wrażliwości na stres u świń**
Stressor-specific differences in hormonal responses could depend on individual stress vulnerability in pig
Ziemowit Ciepiewski, Wojciech Stojek, Wojciech Glac, Danuta Wrona
- 6. Lezje i stymulacje w regionie mezolimbicznego układu dopaminergicznego wpływają na wzrost udziału procentowego populacji komórek NK we krwi obwodowej**
Lesion and stimulation of the mesolimbic dopaminergic system increase blood NK cell percentage
Karolina Plucińska, Beata Grembecka, Wojciech Glac, Dorota Myslińska, Piotr Badke, Grażyna Jerzemowska, Danuta Wrona

11.50–12.45

Sesja VI

Sesja plakatowa

- 1. Ocena rytmu dobowego melatoniny u chorych z rakiem jelita grubego**
Estimation of melatonin circadian rhythm in patients with colon cancer
Michał Posmykiewicz, Krystyna Żylińska, Paweł Burski, Katarzyna Winczyk
- 2. Uwalnianie oksytocyny z układu podwzgórze — część nerwowa przysadki szczura *in vitro* jest nasilane przez tryptorelinę — agonistę gonadoliberyny**
Oxytocin secretion from the rat hypothalamo-neurohypophysial system in vitro is stimulated by gonadotropin-releasing hormone agonist — triptorelin
Marlena Juszcak, Magdalena Roszczyk
- 3. Pozagenomowy wpływ estradioli na poziom ATP w komórkach PC12 z supresją izoform plazmatycznej pompy wapniowej**
Nongenomic effect of estradiols on ATP level in PC12 cells with suppressed isoforms of plasma membrane calcium pump
Ludmiła Żylińska, Bożena Ferenc, Anna Kozaczuk, Tomasz Boczek

-
4. **Wpływ IL-1 β na poziom GnRH i amin biogennych w brzuszno przyśrodkowym podwzgórzu — wyniosłości przyśrodkowej (MBH-ME) u anestralnych owiec**
The influence of IL-1 β on the GnRH and biogenic amines concentration in the mediobasal hypothalamus — median eminence (MBH-ME) in anestrus ewes
Dorota Tomaszewska-Zaremba, Andrzej Herman, Tomasz Misztal
 5. **Napięcie przedmiesiączkowe. Paradygmat psychologiczny**
Premenstrual syndrom. Psychological paradigm
Leszek Lutyński
 6. **Rola analogów somatostatyny w leczeniu nieczynnych hormonalnie gruczolaków przysadki**
The role of somatostatin (SST) analogues in the therapy of non-functioning pituitary adenomas
Jolanta Kunert-Radek, Natalia Zawada, Hanna Pisarek, Magdalena Górską-Chrzęstek, Marek Pawlikowski
 7. **Ekspresja podtypów receptorów somatostatynowych w pierwotnych i nawrotowych gruczolakach gonadotropowych: czy istnieje związek między receptorami somatostatynowymi a nawrotami gruczolaków przysadki?**
Expression of somatostatin receptor subtypes in primary and recurrent gonadotropinomas: are somatostatin receptors involved in pituitary adenoma recurrence?
Hanna Pisarek, Jolanta Kunert-Radek, Maciej Radek, Jacek Świętosławski, Marek Pawlikowski
 8. **Ekspresja surwiwiny i markera proliferacji PCNA w guzach inwazyjnych i nieinwazyjnych przysadki**
Expression of survivin and proliferating marker PCNA in invasive and non-invasive pituitary tumors
Joanna Waligórska-Stachura, Anna Jankowska, Włodzimierz Liebert, Jerzy Sowiński, Ryszard Waśko
 9. **Metabolizm kwasu γ -aminomasłowego w warunkach stresu oksydacyjnego w komórkach GH3 z zablokowaną ekspresją PMCA**
GABA metabolism in PMCA-depleted GH3 cells under ethanol-induced oxidative stress conditions
Antoni Kowalski, Ludmiła Żylińska, Elżbieta Rębas
 10. **Procentowy udział komórek natural killer w warunkach ostrego i chronicznego stresu otwartego pola i podawania dezypraminy we krwi szczurów zróżnicowanych pod względem spontanicznej aktywności lokomotorycznej**
Blood natural killer cell percentage number following acute and chronic open field stress and desipramine injections in rats differing in spontaneous locomotor activity
Magdalena Listowska, Wojciech Glac, Karolina Plucińska, Dorota Myslińska, Danuta Wrona
 11. **Ekspresja speksyny w tkankach prawidłowych oraz dowody sugerujące udział tego białka w hamowaniu proliferacji komórek kory nadnercza szczura**
Expression of the spexin gene in normal rat tissues and evidences suggesting that spexin inhibits adrenocortical cell proliferation
Marcin Ruciński, Andrea Porzionato, Agnieszka Ziolkowska, Marta Szyszka, Veronica Macchi, Raffaele De Caro, Ludwik K. Malendowicz
 12. **Wpływ głodzenia na wydzielanie LH, FSH, PRL w warunkach *in vitro* — rola CART**
Effect of fasting on the pituitary hormones secretion in vitro — the role of CART
Magdalena Chmielowska, Lidia Martyńska, Ewa Wolińska-Witort, Wojciech Bik, Małgorzata Kalisz, Bogusława Baranowska

-
13. **Współzależność między czynnością osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA) oraz ekspresją adiponektyny i jej receptorów (AdipoR1, AdipoR2) w komórkach kory nadnercza oraz tkanki tłuszczowej**

Interrelationship between hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis functioning and adiponectin and its receptors (AdipoR1, AdipoR2) expression in adrenocortical cells and adipose tissue

Tomasz Zemleduch, Łukasz Paschke

14. **Ośrodkowy wpływ salsolinolu na aktywność wydzielniczą układu kortykotropowego u owcy w warunkach stresowych**

Central effect of salsolinol on the releasing activity of the corticotropic axis in sheep exposed to stress

Małgorzata Hasiec, Elżbieta Dobek, Konrad Górski, Katarzyna Romanowicz, Tomasz Misztal

15. **Cross-talk szlaków cAMP/PKA i cGMP/PKG w komórkach przysadki samic szczura *in vitro* po zależnej od gonadoliberyny i jej kompleksu z miedzią stymulacji receptora GnRH**

cAMP/PKA and cGMP/PKC pathway cross-talk in female rat anterior pituitary cells stimulated by GnRH and Cu-GnRH complex

Alina Gajewska, Anna Herman, Ewa Wolińska-Witort, Kazimierz Kochman

12.45

Walne Zgromadzenie Członków PTNE

Redakcja „Endokrynologii Polskiej” nie ponosi odpowiedzialności za treść streszczeń drukowanych w *Materiałach zjazdowych*.

Streszczenia Abstracts

Metaboliczne i wazoprotekcyjne aspekty działania adiponektyny w okresie starzenia. Nadzieje i kontrowersje

Bogusława Baranowska

Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Adiponektyna jest peptydem syntetyzowanym w adipocytach, złożonym z 244 aminokwasów. We krwi krążą 3 frakcje adiponektyny różniące się masą cząsteczkową: niskocząsteczkowa — trimer-LMW (*low molecular weight*), średnicząsteczkowa — heksamer-MMW (*middle molecular weight*) i wysokocząsteczkowa frakcja zawierająca 12–14 merów HMW (*high molecular weight*). Adiponektyna wywiera swoje działanie poprzez receptory Adipo R1 i Adipo R2. Receptor Adipo R1 występuje głównie w mięśniach szkieletowych, a Adipo R2 głównie w wątrobie. Ekspresję Adipo R1 stwierdzono również w komórkach śródbłonna naczyń i kardiomiocytach. Ekspresję Adipo R1 i Adipo R2 wykazano również w centralnym układzie nerwowym. Adiponektyna, a głównie jej frakcja HMW odgrywa istotną rolę w regulacji metabolizmu glukozy, lipidów i procesie zwiększania insulino-wrażliwości. Oprócz korzystnych efektów metabolicznych adiponektyna, a szczególnie frakcja HMW, wywiera wazoprotekcyjne działanie bezpośrednio na śródbłonek naczyń i wpływa hamująco na wszystkie stadia rozwoju miażdżycy. Obniżenie stężenia adiponektyny obserwowano w otyłości, cukrzycy typu 2, chorobie wieńcowej, nadciśnieniu tętniczym. Wielu autorów zwracało uwagę, że niskie stężenie adiponektyny w chorobach metabolicznych może stanowić zwiększone ryzyko wystąpienia ostrych zdarzeń sercowych lub udaru mózgowego. W ostatnich latach pojawiły się badania wykazujące, że wysokie stężenie adiponektyny u pacjentów z niewydolnością krążenia wiązało się z wyższym wskaźnikiem śmiertelności. Powstały zatem kontrowersje, czy adiponektyna jest czynnikiem ochronnym, czy jest czynnikiem zagrożenia. Jaki jest mechanizm wzrostu stężenia adiponektyny u ludzi z niewydolnością krążenia? W niewydolności krążenia dochodzi do zmian sekrecji i metabolizmu adiponektyny (upośledzona multimeryzacja, obniżenie klirensu nerkowego). Kardiomiocyty mogą produkować zwiększone ilości adiponektyny pod wpływem zwiększonej stymulacji przez BNP (*brain natriuretic peptide*). W nadciśnieniu tętniczym, chorobie wieńcowej, niewydolności krążenia dochodzi do obniżenia HMW adiponektyny i obniżenia stosunku HMW/Total adiponektyny.

Wnioski: Nasze badania własne wykazały obniżenie HMW i stosunku HMW/Total u chorych z udarem mózgowym i w chorobach

neurodegeneracyjnych, co korelowało z markerami stanu metabolicznego. Natomiast u ludzi długo żyjących wykazano wybitny wzrost frakcji wysokocząsteczkowej adiponektyny, która wywiera silniejsze działanie wazoprotekcyjne, kardioprotekcyjne i metaboliczne w porównaniu z całkowitą adiponektyną. Grant CMKP 501-1-1-30-34/08.

The metabolic and vasoprotective aspects of adiponectin action in aging. Promises and controversies

Bogusława Baranowska

Neuroendocrinology Department, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

Adiponectin is a 244 amino acid protein secreted by adipocytes. It has been found that there are three forms of adiponectin in the blood: LMW (low molecular weight) (trimer), a MMW (middle molecular weight) (hexamer) and HMW (high molecular weight) (12–18-mer). Adiponectin operates in conjunction with its two membrane receptors Adipo R1 and Adipo R2. Adipo R1 is present in skeletal muscles and liver, whereas Adipo R2 is mostly found in the liver. Adipo R1 is also expressed in endothelial cells and cardiomyocytes. The expression of Adipo R2 and Adipo R1 was also found in the central nervous system. Adiponectin is a beneficial modulator of glucose and lipid metabolism through the stimulation of fatty acid oxidation and the reduction of plasma triglycerides, as well as through the enhancement of insulin sensitivity. Besides the metabolic effects, adiponectin may have anti-atherogenic, anti-inflammatory, vaso- and cardioprotective properties. Adiponectin reveals vasoprotective effects against the initiation and progression of atherosclerosis. It has been suggested that HMW adiponectin has more metabolic and vasoprotective activities than total adiponectin. The decrease of adiponectin was observed in obesity, diabetes mellitus-2, hypertension and coronary disease. Some authors suggest that hypoadiponectinemia is associated with the risk of acute incidents of coronary arterial disease or cerebrovascular disease. Recently some controversial opinions have been reported. In patients with cardiovascular failure the higher adiponectin correlates with increased mortality. In patients with cardiovascular failure the enhancement of adiponectin may be a result of changes in the secretion and metabolism of adiponectin. The secretion of adiponectin by cardiomyocytes may be increased through the stimulation by BNP (brain natriuretic peptide). The impaired multimerization of adiponectin and the decrease of renal clearance also play an important role.

Conclusion: Our studies demonstrate a decrease of HMW adiponectin and HMW/Total adiponectin ratio in patients with cerebrovascular disease (ischemic stroke) and neurodegenerative disease (Alzheimer's disease). A correlation with components of metabolic syndrome has been found. However, in centenarians total HMW adiponectin was very high. HMW adiponectin is a better indicator of metabolic syndrome and has more potent metabolic and vasoprotective activities.

Grant CMKP 501-1-1-30-34/08.

Ocena wykrywania makroprolaktyny metodą precypitacji i ultrafiltracji

Karolina Beda-Maluga¹, Hanna Pisarek¹, Jan Komorowski², Marek Pawlikowski¹, Jacek Świętosławski¹, Katarzyna Winczyk¹

¹Zakład Neuroendokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Klinika Endokrynologii, I Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Wstęp: Makroprolaktyna (MaPRL) jest formą prolaktyny (PRL) zbudowaną z monomerycznej cząsteczki hormonu połączonej z immunoglobuliną G i nie wykazującą istotnej aktywności biologicznej. Kompleks ten zachowuje immunoreaktywność i przez testy laboratoryjne często nie jest odróżniany od monomerycznej postaci hormonu. W celu uniknięcia u osób z hiperprolaktynemią pomyłek diagnostyczno-terapeutycznych, zalecane jest wykonanie dodatkowych badań wykrywających MaPRL. Najlepszą metodą jest chromatografia żelowa, jednakże ze względu na jej złożoną procedurę i wysoki koszt wykorzystywana jest głównie w pracach badawczych. Obecnie do wykrywania MaPRL najczęściej stosowana jest precypitacja glikolem polietylenowym (PEG). Ostatnio pojawiły się doniesienia dotyczące wykorzystania ultrafiltracji do rozdzielenia różnych form PRL. Celem naszej pracy była ocena częstości występowania MaPRL u osób z hiperprolaktynemią i porównanie efektywności wykrywania MaPRL za pomocą precypitacji PEG i metodą ultrafiltracji.

Materiał i metody: Badaniu poddano próbki krwi uzyskane od pacjentów z hiperprolaktynemią hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii I Katedry Endokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Stężenie PRL oznaczano metodą chemiluminescencyjną systemem Immulite 1000 firmy Siemens. Makroprolaktynę wykrywano za pomocą precypitacji 25% glikolem polietylenowym i metodą ultrafiltracji, wykorzystując zestaw separacyjny Microcon YM-100. W obu technikach odzysk PRL mniejszy niż 40% przyjęto za wynik dodatni (obecność MaPRL).

Wyniki: Wśród 100 badanych osób z hiperprolaktynemią (59 kobiet z zespołem policystycznych jajników — PCOS i 41 osób z gruczolakami przysadki) MaPRL wykryto u 8 pacjentów. Zgodność wyników dotyczących MaPRL uzyskanych przy użyciu precypitacji i ultrafiltracji stwierdzono u 5 kobiet z PCOS. U jednego pacjenta z makrogruczolakiem prolaktynowym przysadki MaPRL wykryto tylko za pomocą precypitacji PEG, natomiast u dwóch innych chorych z gruczolakami prolaktynowymi (1 makro- i 1 mikrogruczolak) wynik dodatni uzyskano, jedynie stosując metodę ultrafiltracji.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że u osób z hiperprolaktynemią czynnościową obie metody wykrywania makroprolaktyny są jednakowo skuteczne. W celu ustalenia, którą z metod należy stosować u pacjentów z gruczolakami przysadki wskazane są dalsze badania obejmujące większą liczbę osób i przeprowadzenie weryfikacji uzyskanych wyników za pomocą chromatografii żelowej. Badania finansowane z funduszy Uniwersytetu Medycznego w Łodzi No 503-5084-1.

Evaluation of macroprolactin detection with precipitation and ultrafiltration methods

Karolina Beda-Maluga¹, Hanna Pisarek¹, Jan Komorowski², Marek Pawlikowski¹, Jacek Świętosławski¹, Katarzyna Winczyk¹

¹Department of Neuroendocrinology, Medical University, Lodz

²Clinic of Endocrinology, 1st Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

Introduction: Macroprolactin (MaPRL) is the form of prolactin which consists of monomeric molecule of the hormone linked with immunoglobulin G and has limited biological activity. Macroprolactin preserves immunoreactivity but laboratory tests do not differentiate this complex from monomeric prolactin. In order to avoid diagnostic mistakes and inappropriate treatment in people with hyperprolactinemia, it is recommended to perform additional tests to detect MaPRL. The best method is gel chromatography but it is applied mainly in scientific studies because of complex procedure and high cost. Nowadays the most often used method to detect MaPRL is precipitation with polyethylene glycol (PEG). Recently the separation of different forms of prolactin by using ultrafiltration method has been reported.

The aim of this study was to assess the occurrence of MaPRL in people with hyperprolactinemia and to compare efficiency of detecting MaPRL by PEG precipitation and ultrafiltration methods.

Material and methods: The blood samples received from patients with hyperprolactinemia hospitalized in Clinic of Endocrinology, Medical University of Lodz were examined. Prolactin concentration was measured by chemiluminescent method on Immulite 1000 system (Siemens). Macroprolactin was detected by precipitation with 25% polyethylene glycol and by ultrafiltration with using the separation unit Microcon YM-100. In both methods the recovery of monomeric prolactin less than 40% was regarded as the presence of MaPRL.

Results: Among 100 investigated people with hyperprolactinemia (59 women with polycystic ovary syndrome — PCOS and 41 people with pituitary adenomas) MaPRL was detected in 8 patients. Accordance of results concerning MaPRL obtained by the precipitation and ultrafiltration was stated in 5 women with PCOS. In one patient with the macroprolactinoma MaPRL was only detected by the precipitation with PEG, however, in two other patients with prolactinomas (1 macro- and 1 microadenoma) the positive result was obtained only by applying the ultrafiltration method.

Conclusions: Our results indicate that both methods of detecting macroprolactin are equally effective in people with functional hyperprolactinemia. In order to establish which method should be used in patients with pituitary adenomas, it is required to perform further studies conducted on a larger number of patients and to verify obtained results by using gel chromatography.

This study was supported by grant No. 503-5084-1 from Medical University of Łódź.

Neuroendokrynne odrębności zespołu metabolicznego

Wojciech Bik

Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Wstęp: Otyłość, będąca chorobą społeczną, skojarzona jest często z zespołem metabolicznym. Zespół metaboliczny (MS) jest jednostką chorobową, której patogenetycznym podłożem jest hiperinsulinizm z insulinopornością. W skład zespołu metabolicznego wchodzi: otyłość trzewna, zaburzenia lipidowe, nadciśnienie tętnicze i zaburzenia gospodarki węglowodanowej. Jednakże nawet w 20–30% przypadków pacjentów z otyłością olbrzymią (BMI ≥ 40 kg/m²) nie stwierdza się obecności zespołu metabolicznego. Pacjenci ci określane są jako otyli metabolicznie zdrowi. Tkanka tłuszczowa jest narządem wydzielania wewnętrznego produkującym liczne adipokiny. Zmiany stężeń adipokin wpływają na homeostazę metaboliczną, jak również mogą być potencjalnym wskaźnikiem stopnia nasilenia zaburzeń metabolicznych. W licznych pracach sugeruje się także możliwość wpływu polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) genów kodujących syntezę adipokin na ryzyko wystąpienia otyłości lub zespołu metabolicznego. Wyniki tych badań są niejednoznaczne.

Wyniki: W badaniach własnych przeprowadzonych u 369 kobiet w tym 265 z nadwagą lub otyłością [BMI ≥ 25 kg/m²; 125 MS(+) i 140 MS(-)] oraz 104 szczupłych kobiet (grupa kontrolna) wykazano, że pacjentki z nadwagą/otyłością MS(+) miały znamienne niższe poziomy adiponektyny i wyższe rezystyny w porównaniu z kobietami z nadwagą/otyłością MS(-). Stężenia HMW adiponektyny i rezystyny u kobiet z nadwagą i otyłością bez MS nie różniły się istotnie w stosunku do grupy kontrolnej. Ponadto u pacjentek z otyłością olbrzymią bez MS stwierdzono wyższe wartości adiponektyny i wisfatyny w odniesieniu do kobiet z otyłością olbrzymią z MS. Badania SNP genów adiponektyny i rezystyny nie wykazały istotnych statystycznie różnic pomiędzy pacjentkami z BMI ≥ 25 kg/m² MS(+) w stosunku do kobiet z BMI ≥ 25 kg/m² MS(-). Jednakże stwierdzono możliwość asocjacji następujących SNP: 11377 C/G i 276 G/T genu adiponektyny i 420 C/G genu rezystyny przy porównaniu kobiet z nadwagą i otyłością skojarzoną z MS w stosunku do grupy kontrolnej kobiet szczupłych.

Wnioski: Adipokiny, a szczególnie adiponektyna, mogą być dobrymi markerami zaburzeń metabolicznych w otyłości i otyłości olbrzymiej.

Badania finansowano z grantów: MNiSW 2P05B03028 i CMKP 501-1-31-32-10.

Neuroendocrine differences in metabolic syndrome

Wojciech Bik

Neuroendocrinology Department, Medical Centre for Postgraduate Education, Warsaw

Introduction: Obesity being a social disease is often associated with metabolic syndrome. Metabolic syndrome (MS) is correlated with insulin resistance, hypertension, diabetes, dyslipidemia and visceral obesity. However, MS is not expressed in all obese patients, even not in those with severe obesity (BMI ≥ 40 kg/m²). This group is named metabolically healthy obese. It is well known that adipose tissue is an endocrine organ which produces many adipokines. Adipokines influence metabolic homeostasis and may be a potential indicator of severity of metabolic disturbances. It has been also suggested that the single nucleotide polymorphisms of adipokine's

genes may influence the occurrence of obesity and metabolic syndrome but data are ambiguous.

Material and methods: Our studies were conducted on 265 overweight/obese women (BMI ≥ 25 kg/m²) including 125 MS(+) and 140 MS(-) and 104 non-obese women without metabolic syndrome as a control group.

Results: In the group of MS(+) overweight/obese women we observed higher levels of resistin and lower values of adiponectin compared with MS(-) overweight/obese subjects. MS(-) overweight/obese patients did not present significant differences in HMW adiponectin and resistin concentrations when compared with the controls. Moreover, higher levels of adiponectin and visfatin were found in MS(-) extremely obese women in comparison with obese MS(+). The investigation on SNP of adiponectin and resistin genes did not result in finding any significant differences between overweight/obese women with and without metabolic syndrome. Our genetic research showed the possible associations of 276G/T, 11377 C/G adiponectin gene polymorphisms and 420 C/G gene polymorphism in patients with obese and metabolic syndrome when comparing them to the control group of lean women.

Conclusions: Adipokines and especially adiponectin seem to be a good adipocyte derived marker of metabolic disturbances in obesity as well as in morbid obesity.

The study was supported with grants: MNiSW 2P05B03028 and CMKP 501-1-31-42-10.

Regulacja ekspresji i funkcjonowania receptorów melatoninowych w splenocytach ptaków i ssaków

Małgorzata Broszkiewicz, Małgorzata Nowicka,

Urszula Śmietanka, Agnieszka Szczur,

Magdalena Markowska

Zakład Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

Wstęp: Szyszynka przekształca informacje o otaczających warunkach świetlnych w sygnał chemiczny w postaci rytmicznie uwalnianej melatoniny. Ten hormon „ciemności” wraz z endogennym zegarem kontroluje powstawanie rytmów okołodobowych i okołorocznych, których istnienie także w układzie odpornościowym jest dobrze udokumentowane.

Celem naszych badań było ustalenie wpływu pory dnia, sezonu i różnych stężeń melatoniny na ekspresję mRNA i działanie błonowych receptorów melatoniny w splenocytach chomika syberyjskiego i kurcząt.

Materiał i metody: Poziom ekspresji mRNA badany był metodą RT-PCR, zaś jako wskaźnik funkcji receptorów przyjęto poziom drugorzędowych przekazywaczy: cAMP (RIA) i Ca²⁺ (spektrofluorymetrycznie).

Wyniki: W splenocytach chomika syberyjskiego poziom ekspresji mRNA receptora MT1 jest wyższy w dzień niż w nocy zaś dla receptora MT2 zależność ta jest odwrotna. Inkubacja splenocytów z farmakologicznymi stężeniami melatoniny powoduje wzrost, a fizjologiczne dawki obniżają ekspresję mRNA receptora MT1. Wyraźnie zaznacza się także wpływ sezonu na ekspresję obu receptorów błonowych u chomików: dzienna ekspresja mRNA obu podtypów receptorów jest wyższa w krótkim fotoperiodzie. U kurcząt ekspresja receptorów błonowych jest wyższa w nocy niż w dzień. U obu badanych gatunków aktywacja drugorzędowych wewnątrzkomórkowych ścieżek przekazywania melatoninowego jest niższa w nocy, co sugeruje desensytyzację i/lub internalizację błonowych receptorów melatoniny.

Wnioski: Ważnym aspektem w mechanizmie działania receptorów melatoniny w układzie odpornościowym wydaje się *status quo* tego układu, bowiem wywołanie reakcji zapalnej otrzewnej spowodowało zmiany w ekspresji mRNA receptorów melatoniny, zależne od rozwoju zapalenia. Podsumowując, poziom ekspresji i funkcjonowanie poszczególnych podtypów błonowych receptorów melatoniny, zależy od pory dnia, sezonu i stanu aktywności układu odpornościowego.

Finansowane z grantu No 2P04C 080 27 MNiSW.

Regulation of melatonin receptors expression and function in avian and mammalian splenocytes

Małgorzata Broszkiewicz, Małgorzata Nowicka, Urszula Śmietanka, Agnieszka Szczur, Magdalena Markowska

Department of Animal Physiology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Warsaw

Introduction: Diurnal and seasonal rhythmicity of immunity is already well accepted and the circadian and circannual pattern of the pineal melatonin synthesis and release is considered as a mediator between environmental light conditions and the immune system function. We investigated the effect of day-time, season, and melatonin on the expression of membrane bound melatonin receptors and post-receptor signaling in splenocytes of Siberian hamsters and chickens. Additionally, the effect of immune system activation (experimental peritonitis) was examined as well.

Material and methods: The expression of melatonin receptor mRNA was measured by RT-PCR, and melatonin signal transduction was examined by the intracellular level of cAMP (RIA) or Ca^{2+} (spectrofluorimetry).

Results: In hamster splenocytes the nocturnal level of MT1 receptor mRNA was lower while that of MT2 was higher than during the day. Melatonin added in pharmacological concentrations caused an increase while physiological doses decreased MT1 mRNA expression. The effect of season is evident in Siberian hamster splenocytes: during the day the expression of both MT1 and MT2 receptor mRNA is higher in a short photoperiod than in a long one. In chicken splenocytes the expression of all melatonin receptors subtypes increased at night. These changes are not always correlated with those in the intracellular second messengers. It seems to be a rule, however, that melatonin signal transduction is attenuated at night, as the inhibition of cAMP accumulation and the increase in Ca^{2+} evoked by melatonin addition to the splenocytes isolated at night was less pronounced. It suggests that endogenous melatonin causes a desensitization or internalization of its own membrane receptors. Moreover, inflammation modified receptor expression and post-receptor signaling, and the effect depends on the development of peritonitis.

Conclusion: To summarize, the effects exerted by melatonin in splenocytes seem to be regulated by lighting conditions and immune system status.

Supported by the Polish MSHE grant No 2P04C 080 27.

Wpływ głodzenia na wydzielanie LH, FSH, PRL w warunkach *in vitro* — rola CART

Magdalena Chmielowska, Lidia Martynyńska, Ewa Wolińska-Witort, Wojciech Bik, Małgorzata Kalisz, Bogusława Baranowska

Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Wstęp: CART (*cocaine and amphetamine regulated transcript*) jest peptydem powszechnie występującym w ośrodkowym układzie nerwowym oraz w wielu narządach wydzielania wewnętrznego. Fizjologiczna rola tego peptydu polega na modulacji kontroli łaknienia, zużycia energii, termoregulacji i wydzielania hormonów.

Cel: Celem pracy było zbadanie wpływu CART na wydzielanie LH, FSH, PRL u szczurów głodzonych i karmionych *ad libitum*.

Materiał i metody: Doświadczenie wykonano w pierwotnej hodowli komórek przysadki szczurów samców rasy Wistar, głodzonych przez 72 godziny i karmionych *ad libitum*. Komórki inkubowano w medium zawierającym CART w stężeniach: 0,1, 1, 10, 100 nM, lub w medium bez CART — grupa kontrolna. Po 60 min inkubacji w medium określono stężenie LH, FSH, PRL.

Wyniki: W grupie kontrolnej hodowli komórek przysadki szczurów niegłodzonych stężenia LH, FSH, PRL były wyższe w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt głodzonych. Wszystkie zastosowane dawki CART u zwierząt niegłodzonych spowodowały znaczące obniżenie stężenia LH. Stwierdzono, że jedynie dawki 0,1 i 1 nM CART zmniejszyły wydzielanie FSH, natomiast 10 i 100 nM dawki CART obniżyły wydzielanie PRL. U zwierząt głodzonych CART nie wpłynęła na wydzielanie LH i FSH. Zwiększenie stężenia PRL zaobserwowano po dawce 1 nM CART.

Wnioski:

1. CART wywiera hamujące działanie na wydzielanie LH, FSH, PRL z komórek przysadki szczurów.
2. Głodzenie zmienia aktywność wydzielniczą komórek przysadki w odpowiedzi na działanie CART.

Badania finansowane z grantu CMKP No. 501-1-1-28-22/05.

Effect of fasting on the pituitary hormones secretion *in vitro* — the role of CART

Magdalena Chmielowska, Lidia Martynyńska, Ewa Wolinska-Witort, Wojciech Bik, Małgorzata Kalisz, Bogusława Baranowska

Neuroendocrinology Department, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

Introduction: Cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) is widely expressed in the central nervous system and in several endocrine organs. The physiological role of this peptide includes the modulation of appetite, control of energy expenditure, thermoregulation and hormone secretion.

Aim: The aim of this study was to evaluate the effect of CART on LH, FSH, PRL release from pituitary cell culture in male rats after 72 hrs. starvation and feeding *ad libitum*.

Material and methods: CART in doses 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM was added to pituitary cell culture and the medium was collected 60 mins thereafter. The collected medium was stored at — 20°C until assayed for LH, FSH, PRL.

Results: LH, FSH and PRL concentrations were higher in rat pituitary cell culture in the non starved control group as compared to starved rats. CART in all doses in non starved animals decreased

LH concentration. Doses of 0.1 and 1 nM of CART decreased the release of FSH. Doses of 10 and 100 nM decreased PRL secretion. In starved animals CART did not affect the release of LH and FSH. The increase in PRL concentration was observed after the dose of 1 nM CART

Conclusions:

1. CART inhibits LH, FSH and PRL release from pituitary cell culture in non starved rats.
2. Starvation changes secretory activity of pituitary cells in response to CART action.

This study was supported by grant No. 501-1-1-28-22/05 from Medical Center of Postgraduate Education.

Specyficzność różnic odpowiedzi hormonalnej na stresory może zależeć od indywidualnej wrażliwości na stres u świń

Ziemowit Ciepielewski, Wojciech Stojek,
Wojciech Glac, Danuta Wrona

Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Gdański, Gdańsk

Przedstawiamy wyniki analizy porównania pomiędzy odpowiedzią stresową na dwa odmienne obciążenia fizyczne (unieruchomienie *v.* wymuszone chodzenie) mierzonego stężeniem hormonu wzrostu (GH), prolaktyny (PRL), beta-endorfiny (BEND), hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) oraz kortyzolu (COR) w osoczu u świń różniących się indywidualną, genetycznie uwarunkowaną wrażliwością na stres. Doświadczenia przeprowadzono na 30 chronicznie kaniulowanych świń, mieszańcach rasy Pietrain poddanych uprzednio testowi DNA (przy zastosowaniu PCR) wykrywającemu mutację genu receptora ryanodynowego RyR 1 i podzielonych na 3 grupy: homozygoty wrażliwe na stres — nn, oraz odporne na stres heterozygoty — Nn i homozygoty — NN. Jako modeli stresu użyto 4-godzinne unieruchomienia (RT) oraz powtórzonego wymuszonego chodzenia (RFW). Stężenia hormonów w osoczu krwi obwodowej oznaczano metodą RIA. Uzyskane wyniki pokazują, że oba stresory wpływały na wszystkie badane hormony, a intensywność odpowiedzi była zależna od genotypu zwierzęcia. Świnie wrażliwe na stres (nn) wykazywały najwyższą odpowiedź PRL na oba obciążenia i najwyższą odpowiedź GH na RFW, a świnie odporne na stres (NN) reagowały maksymalną odpowiedzią GH na RT. Poziom BEND był istotnie podniesiony w trakcie obu obciążeń, ale najistotniejsze zmiany wystąpiły u świń nosicieli genu wrażliwości na stres (Nn). RT istotnie wpływało na odpowiedź ACTH i COR u wszystkich genotypów, podczas gdy w trakcie RFW istotny wzrost ACTH, któremu towarzyszył wysoki wzrost COR wystąpił tylko u świń wrażliwych (nn). Uzyskane wyniki wykazują, że typ stresora może wpływać na hormonalną odpowiedź stresową zarówno na poziomie przysadki, jak i kory nadnerczy. Niezależnie od genotypu zwierzęcia, oś HPA wydaje się być bardziej wrażliwa na RT niż na RFW. Pozostałe osie hormonalne, jak również układ opioidowy, mogą być w różnym stopniu aktywowane w czasie stresu, jednakże intensywność ich odpowiedzi zależy w większym stopniu od genotypu zwierzęcia niż od rodzaju stresora.

Praca finansowana z grantu N N303 292334 MNiSW.

Stressor-specific differences in hormonal responses could depend on individual stress vulnerability in pig

Ziemowit Ciepielewski, Wojciech Stojek,
Wojciech Glac, Danuta Wrona

Department of Animal Physiology, University of Gdansk, Gdansk, Poland

Here we report the results of an analysis of the comparison between stress responses to two different physical stressors (restraint vs forced running) measured by plasma levels of growth hormone (GH), prolactin (PRL), beta-endorphin (BEND), adrenocorticotropin (ACTH) and cortisol (COR) in pigs of different, genetically based susceptibility to stress. The experiments were carried out on 30 chronically catheterised Pietrain crossbred pigs previously tested in DNA molecular diagnostic assay (PCR) for the mutation of the ryanodine receptor RyR 1 and divided into 3 groups: stress susceptible homozygotes — nn, and stress resistant heterozygotes — Nn and homozygotes — NN. The 4-hour restraint (RT) and the repeated forced walking (RFW) were used as stress models. The concentrations of peripheral blood plasma hormones were determined by RIA. The results obtained show that both stressors affected all investigated parameters and the intensity of the responses was genotype dependent. Stress susceptible (nn) pigs showed the highest response of PRL to both stressors, and of GH to RFW and stress resistant (NN) pigs reacted maximally in GH response to RT. The BEND level was markedly elevated during both stresses and the most significant changes occurred in stress susceptibility gene carriers pigs (Nn). RT markedly influenced the ACTH and COR responses in all genotypes whereas during RFW the significant increase in ACTH accompanied by high increases in COR occurred in susceptible (nn) pigs only. The results obtained show that the type of stressor could influence the hormonal stress response on both pituitary and adrenal levels. Independently of the genotype, the intensity of their responses is associated with the genotype status of an animal rather than with the stressor type. This work is supported by grant N N303 292334 of MSHE of Poland.

Molekularne mechanizmy syntezy gonadotropin

Alina Gajewska

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, PAN,
Jabłonna k/Warszawy

Gonadoliberyny (GnRH), której synteza i dojrzewanie zachodzi w wyspecjalizowanych neuronach podwzgórza, wraz z krwią wrotną dociera do przedniego płata przysadki, gdzie na błonie komórek gonadotropowych wiąże się ze swym specyficznym, sprzężonym z białkiem $G_{q/11}$ receptorem. Konsekwencją aktywacji receptora GnRH jest biosynteza i uwalnianie gonadotropin. Rodzina hormonów gonadotropowych składa się z hormonu luteinizującego (LH), folikulotropowego (FSH) oraz łożyskowej gonadotropiny (CG) opisanej u konia i naczelnych. Hormony te są heterodimerami, składającymi się z glikoproteinowej podjednostki α o sekwencji aminokwasowej identycznej dla wszystkich hormonów tej rodziny oraz odrębnej i odpowiedzialnej za specyficzność każdego hormonu, podjednostki β . Na promotorach genów podjednostek α , LH β i FSH β istnieją odrębne układy elementów cis- i trans regulatorowych. Za specyficzną aktywację genu α odpowiedzialny jest zestaw kilkunastu elementów regulatorowych promotora, wśród których szczególną rolę odgrywają: miejsce CRE, miejsce PGBE do którego wiążą się trans-działające białka z rodziny LIM i miejsce α BE odpowiedzialne za interakcję z białkami transkrypcyjnymi

α BP1 i α BP2. W podstawowej transkrypcji tego genu uczestniczy też białko Pitx-1. Do obszaru GSE wiążą się należący do nadrodziny białek receptorów jądrowych czynnik steroidogeny SF-1. Za wrażliwość genu α na stymulację GnRH odpowiedzialne są dwa elementy regulatorowe: obszar GnRH-RE, do którego wiążą się transdziałające białko z rodziny białek transkrypcyjnych Ets i region PGBE promotora, do którego wiążą się białka LIM. W obszarze dystalnym promotora genu LH β znajdują się dwa cis-regulatorowe miejsca wiążące białko Sp-1, a także tak zwany region CARG o sekwencji CCATTTTGG odgrywający krytyczną rolę we wrażliwości genu LH β na pulsację GnRH. W obrębie proksymalnej części promotora genu LH β do specyficznych cis-regulatorowych sekwencji wiążą się trzy transdziałające białka regulatorowe. Pierwszym z nich jest czynnik steroidogeny SF-1, który do DNA promotora genu LH β u szczura wiążą się do sekwencji TGACCTG i sekwencji CGGCCTTG. Białkiem, o kluczowej roli w regulacji transkrypcji genu LH β , jest białko Egr-1, które do promotora genu LH β wiążą się w pozycjach -112/-105pz (sekwencja CGCCCCCG) oraz -50/-42pz (sekwencja: CGCCCCAC). W pozycji -100/-95pz (sekwencja AGATTA) znajduje się miejsce wiązania białka Pitx-1. Stosunkowo najmniej poznany jest układ cis- i transdziałających elementów regulatorowych na promotorze genu FSH β . Zlokalizowano na nim dwa miejsca wiążące białko aktywatorowe AP-1, zaangażowane w zależną od GnRH stymulację tego genu. W proksymalnej części promotora genu FSH β znajdują się dwa miejsca wiążące czynnik SF-1, a także jedno miejsce wiążące czynnik transkrypcyjny NF. Na 5' końcu zlokalizowano miejsca wrażliwe na progesteron. W podstawowej aktywności promotora Rego genu uczestniczą też białka Pitx, a stymulacja przez aktywinę odbywa się przede wszystkim poprzez kompleks białek Smad 3/Smad 4, które wiążą się do sekwencji palindromicznej GTCTAGAC lub do motywu CAGA. Ostatnio wykazano także, iż należące do rodziny TGF β i odpowiedzialne za morfogenezę kości i tkanki chrzęstnej białka BMP6 i BMP7 stymulują aktywność promotora genu FSH β , a także ekspresję mRNA dla tej podjednostki.

Molecular mechanisms of gonadotropin biosynthesis

Alina Gajewska

The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAS, Jabłonna n Warsaw

Transcription activity of genes encoding three gonadotropin subunits: (α , LH β , FSH β) depends on specific *cis*- and *trans*-acting regulatory elements located on their promoters. Gonadotrope-specific activation of α GSU requires CREB protein binding to CRE, proteins belonging to LIM homeodomain family which bind to PGBE sites and proteins α BP1 i α BP2 which interact with *cis*-acting α BE site. Moreover, α GSU transcription depends on Pitx-1 transcription protein which binds to Pitx-1-RE as well as on SF-1 protein (*orphan nuclear receptor*) which interacts with GSE (*gonadotrophic specific element*) at -146/-111bp (human) or -398/-385 bp (mouse) of this promoter. Two *cis*-regulatory elements are responsible for GnRH-dependent α GSU gene activity: GnRH-RE which binds *trans*-acting transcription protein belonging to ETS family and PGBE region involved with LIM proteins interaction. Two distinct — distal and proximal — regulatory regions were identified on LH β promoter. In the rat it was shown that the distal part contains not only two *cis*-acting regulatory sites which interact with Sp-1 transcription proteins, but also CARG box (sequence CCATTTTGG) crucial for LH β gene sensitivity for GnRH pulses. At the proximal domain of LH β gene promoter three transcriptional proteins are responsible for this gene transcriptional activity regulation. SF-1 protein

interacts with two *cis*-acting gonadotrope-specific (GSE) sequences: located between -128/-121 bp and -59/-52 bp, respectively. Essential for GnRH-dependent LH β gene transcription activation is Egr-1 protein, the second transcriptional protein, which interacts with two proximally located specific sequences at positions -112/-105bp and -50/-42pz. Pitx-1, the third proximal active transcriptional protein, interacts between 100/-95bp of the LH β promoter. FSH β gene transcriptional activity is under the regulatory control of SF-1 and NFY proteins which bind to their specific *cis*-acting sequences located at the proximal region of the promoter. GnRH-dependent FSH β gene transcriptional activity requires AP-1 transcriptional protein which interacts with two sites located at the proximal part of this promoter and activin-dependent activation depends on proteins Smad 3/Smad 4 complex. Recently, BMP-6 and BMP-7 proteins from TGF β superfamily have been shown to be directly involved in FSH β gene promoter activation as well as mRNA expression for this subunit.

Cross-talk szlaków cAMP/PKA i cGMP/PKG w komórkach przysadki samic szczura *in vitro* po zależnej od gonadoliberyny i jej kompleksu z miedzią stymulacji receptora GnRH

Alina Gajewska¹, Anna Herman¹, Ewa Wolińska-Witort², Kazimierz Kochman¹

¹*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN, Jabłonna k./Warszawy*

²*Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa*

Wstęp: Różniące się konformacją cząsteczki GnRH i kompleksu Cu-GnRH, wiążąc się z receptorem gonadoliberyny wpływają odmiennie na profil sygnalizacji wewnątrzkomórkowej. W przeciwieństwie do formy natywnej kompleks stymuluje syntezę cAMP w komórkach gonadotropowych. Zdolność cząsteczki Cu-GnRH do pobudzania aktywności szlaku cAMP/PKA rodzi pytanie o jego wpływ na aktywność innych szlaków sygnalizacji między innymi szlaku cGMP/PKG. Celem podjętych badań było porównanie aktywności szlaku cAMP/PKA w komórkach przysadki po ich inkubacji z GnRH i Cu-GnRH w obecności inhibitora kinazy białkowej A, jak też określenie wpływu hamowania szlaku cAMP/PKA na aktywność szlaku cGMP/PKG w komórkach poddanych działaniu GnRH lub Cu-GnRH.

Materiał i metody: Wyizolowane komórki przysadki samic szczura (5×10^5 /ml) inkubowano przez 0,5, 3 i 5 godzin z 10^{-7} M GnRH, 10^{-7} M Cu-GnRH w obecności lub bez 30μ M specyficznego inhibitora kinazy białkowej A (H89). Końcowe stężenie cAMP w komórkach i medium doświadczalnym, a także LH w medium oznaczono metodą RIA.

Wyniki: Otrzymane wyniki wykazały, że wzrost stężenia cAMP w komórkach następuje tylko po aktywacji receptora przez Cu-GnRH, a zahamowanie aktywności kinazy białkowej A blokuje stymulujące oddziaływanie kompleksu na tę ścieżkę sygnalizacji. Różnica w konformacji obu cząsteczek nie wpłynęła natomiast na ich zdolność do pobudzania szlaku cGMP/PKG, gdyż zarówno GnRH, jak i Cu-GnRH stymulowały syntezę cGMP w komórkach gonadotropowych. Natomiast pobudzenie szlaku cGMP/PKG istotnie zmniejszało się, gdy stymulacja receptora przez GnRH lub Cu-GnRH odbywała się w obecności specyficznego inhibitora selektywnie hamującego aktywność kinazy białkowej A.

Wnioski: Konformacja liganda receptora GnRH może specyficznym determinować rodzaj aktywowanych dróg transdukcji sygnału. Zahamowanie aktywności ścieżki cAMP/PKA w komórkach gonadotropowych bezpośrednio wpływa na aktywność ścieżki cGMP/PKG, co wskazuje na zjawisko *cross-talk* między tymi szlakami.

cAMP/PKA and cGMP/PKC pathway cross-talk in female rat anterior pituitary cells stimulated by GnRH and Cu-GnRH complex

Alina Gajewska¹, Anna Herman¹, Ewa Wolińska-Witort², Kazimierz Kochman¹

¹The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAS, Jabłonna n/Warsaw

²Neuroendocrinology Department, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

Introduction: Cu-GnRH complex can effectively stimulate cAMP synthesis in gonadotrope cells after binding with GnRH receptor. If so, it cannot be excluded that Cu-GnRH may also affect other intracellular signaling pathways e.g. cGMP/PKG.

The aim of the study was to compare cAMP/PKA pathway stimulation in female anterior pituitary cells incubated with GnRH and Cu-GnRH in the presence of the specific PKA inhibitor. Moreover, this study also focused on the effect of PKA inhibition on cGMP/PKG pathway activation in anterior pituitary cells stimulated with GnRH or Cu-GnRH.

Material and methods: Anterior pituitary cells (5×10^5 /ml) were incubated for 0.5, 3 and 5 h with 10^{-7} M GnRH, or 10^{-7} M Cu-GnRH in the presence of 30μ M H89 (a specific inhibitor of PKA activity). After the incubation, intracellular and extracellular cAMP concentration as well as medium LH concentration were determined by RIA.

Results: Only Cu-GnRH complex promoted cAMP synthesis in anterior pituitary cells and the inhibition of PKA activity reduced Cu-GnRH-dependent cAMP/PKA pathway stimulation. In contrast, differences in GnRH and Cu-GnRH conformation did not affect their ability to activate cGMP/PKG pathway because cGMP concentration was elevated both after GnRH and Cu-GnRH stimulation. Moreover, in cells pretreated with H89 cGMP synthesis was also significantly diminished.

Conclusions: The obtained results revealed that ligand conformation (GnRH *v.* Cu-GnRH) may specifically determine intracellular pathways activity in gonadotrope cells. The inhibition of cAMP/PKA activity which directly affected cGMP/PKG stimulation suggests a cross-talk between those two intracellular signaling pathways.

Ośrodkowy wpływ salsolinolu na aktywność wydzielniczą układu koryktropowego u owcy w warunkach stresowych

Małgorzata Hasięc, Elżbieta Dobek, Konrad Górski, Katarzyna Romanowicz, Tomasz Misztal

Institut Fizjologii i Żywności Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN, Jabłonna k/Warszawy

Wstęp: Salsolinol (SAL), pochodna dopaminy, pełni funkcje neuromodulacyjne w ośrodkowym układzie nerwowym ssaków. Do najlepiej opisanych należy: stymulowanie sekrecji prolaktyny w okresie laktacji oraz hamowanie uwalniania adrenaliny i noradrenaliny do krwi obwodowej pod wpływem stresu. Dotychczas nie jest znane działanie SAL na aktywność wydzielniczą układu koryktropowego w warunkach stresowych.

Celem pracy było zbadanie na modelu owcy wpływu SAL, infundowanego dokomorowo, na uwalnianie ACTH indukowane stresem związanym z wykonywaniem infuzji.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono na dorosłych owcach, mających implantowane kaniule do trzeciej komory mózgu. Prace manualne przy zwierzęciu, poprzedzające wykonanie dokomorowej infuzji SAL ($n = 5$) lub płynu Ringera (kontrola, $n = 5$), trwały około 30 min. Infuzje wykonywano seryjnie: 5×30 min infuzji i 30 min przerwy (5 godzin); dawka SAL 30μ g/60 μ l/30 min. W okresie doświadczenia pobierano próbki krwi co 10 min, w których oznaczono stężenie ACTH metodą RIA.

Wyniki: U owiec, którym infundowano SAL, średnie stężenie ACTH w krwi było istotnie ($P < 0,001$) niższe, w porównaniu z koncentracją u owiec kontrolnych ($32,27 \pm 3,97$ *v.* $61,72 \pm 4,44$ pg/ml, odpowiednio). Analiza stężeń ACTH w przedziałach godzinowych wykazała, że najwyższą koncentrację hormonu obserwowano w 1. i 2. godzinie doświadczenia u owiec kontrolnych (maksymalnie: $97,14 \pm 8,37$ pg/ml) i tylko w 1. godz. u owiec otrzymujących SAL ($57,04 \pm 8,66$ pg/ml). Ponadto, stężenie ACTH we krwi owiec otrzymujących SAL było istotnie ($P < 0,001$) niższe w godzinie 2. i 3., w porównaniu ze stężeniem u owiec kontrolnych.

Wniosek: Otrzymane wyniki sugerują, że SAL redukuje aktywność wydzielniczą układu koryktropowego w warunkach stresowych.

Central effect of salsolinol on the releasing activity of the corticotropic axis in sheep exposed to stress

Małgorzata Hasięc, Elżbieta Dobek, Konrad Górski, Katarzyna Romanowicz, Tomasz Misztal

The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Jabłonna n/Warsaw

Introduction: Salsolinol (SAL), a derivative of dopamine, plays a neuromodulatory role within the central nervous system of mammals. Its best known actions concern the stimulation of prolactin secretion during lactation and the inhibition of stress-induced epinephrine and norepinephrine release into peripheral blood. So far, the effect of SAL on the corticotropic axis under stress conditions has remained unknown.

Investigation on a sheep model of the effect of intracerebroventricularly infused SAL on the ACTH surge induced by stress related to handling preceding infusion.

Material and methods: The experiment was performed on mature sheep implanted with a guide cannula into the third ventricle. The animals were handled for about 30 minutes before the Ringer-Locke solution (control, $n = 5$) or SAL ($n = 5$) infusion. The treatment was performed in a series of five 30-min infusions at 30-min intervals (5 hrs); the dose of SAL was 30μ g/60 μ l/30 min. The blood samples were collected every 10 minutes to determine the plasma ACTH concentration by RIA.

Results: In the SAL-infused sheep, the mean plasma ACTH concentration was significantly ($P < 0.001$) lower than in the control sheep (32.27 ± 3.97 *v.* 61.72 ± 4.44 pg/ml, respectively). The hourly distribution of ACTH concentrations showed that the highest level occurred in the 1st and 2nd hour of the experiment in the controls (maximum: 97.14 ± 8.37 pg/ml) and only in the 1st hour in the SAL-infused sheep (57.04 ± 8.66 pg/ml). Moreover, in the SAL-infused sheep, plasma ACTH concentrations were significantly ($P < 0.001$) lower in the 2nd and 3rd hour compared with controls.

Conclusion: It is suggested that SAL suppresses the releasing activity of the corticotropic axis under stress conditions.

Gut — brain interaction and regulation of energy homeostasis

Karl-Heinz Herzig

Institute of Biomedicine and Biocenter of Oulu, Oulu University, Aapistie 7, 90014 University of Oulu, Finland

Obesity is the biggest unrecognized public health problem in the world being a major risk factor for chronic diseases with a decreased life expectancy. Of the global population around 700 million adults are predicted to be obese by 2015 (IASO statement 2010). The increased body mass is a consequence of an imbalance between energy intake and energy expenditure and, therefore, the result of either an increased energy intake and/or a decreased physical activity. Ingested foods evoke satiety feelings in the GI tract primarily by two distinct pathways, i.e. by mechanical stimulation of nerve endings and by release of peptides. The CNS receives the GI satiety-related signals via vagal afferents and humorally from the intestine for a short term and from fat stores for a longer term energy regulation. The intestine secretes more than 20 different peptides, the adipose tissue produces a large number of adipokines. The hypothalamic nuclei then integrate these different peptide signals together with information from reward centers, brain stem and nutrient sensing resulting in the initiation or stop of food intake. Orexin, ghrelin and endocannabinoids have shown to be orexiogenic while cholecystokinin, glucagon-like peptide-1 and pancreatic polypeptide/peptide YY inhibit food intake. The release, signaling routes and integration of the action of these extremely diverse and tightly controlled signals are currently still poorly understood resulting in so far very limited therapeutic options in pharmacotherapy without significant side effects. Nanotechnology might offer the possibility to increase the bioavailability of these peptides and to interfere with the signaling routes. In addition, changes in food composition and structure might enable a more favorable approach modulating endogenous peptide release to maintain a higher degree of satiety. Supported by the Novo Nordisk Foundation and the Academy of Finland.

Uwalnianie oksytocyny z układu podwzgórze—część nerwowa przysadki szczura *in vitro* jest nasilane przez tryptorelinę — agonistę gonadoliberyny

Marlena Juszcak, Magdalena Roszczyk

Zakład Patofizjologii i Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Wstęp: Wcześniejsze badania wykazały, że gonadoliberyna (GnRH) odgrywa istotną rolę w regulacji uwalniania oksytocyny (OT). Ponieważ w praktyce klinicznej zamiast GnRH znacznie częściej stosuje się analogi tego hormonu, celem pracy było zbadanie czy agonista GnRH — tryptorelina zmienia uwalnianie OT z układu podwzgórze — część nerwowa przysadki (H-NH) szczura *in vitro*. **Materiał i metody:** Po wyosobnieniu z mózgu, układ H-NH umieszczano w próbkach zawierających 1 ml płynu Krebsa-Ringera (K-R) ogrzanego do temperatury 37°C oraz nasycanego karbogenem. Po okresie równoważenia (tj. około 80 min) do próbek dodawano płyn K-R zawierający podstawowe — płyn B1 lub zwiększone (56 mM) stężenie jonów K⁺ — płyn S1, a następnie płyny B1 lub S1 zawierające dodatkowo roztwór tryptoreliny w odpowie-

dnim stężeniu, tj. 10⁻¹¹–10⁻⁵ M (odpowiednio płyny B2 i S2). Po inkubacji układu H-NH w każdym z roztworów (kolejno: B1, S1, B2, S2) przez 20 minut, płyn inkubacyjny pobierano i natychmiast zamrażano do czasu oznaczenia w zebranych próbkach zawartości OT metodą RIA. Stopień uwalniania OT z układu H-NH *in vitro* wyrażano jako stosunek B2/B1 (uwalnianie podstawowe) lub S2/S1 (uwalnianie pobudzone nadmiarem jonów K⁺).

Wyniki: Wykazano, że agonista gonadoliberyny — tryptorelina istotnie zwiększa podstawowe uwalnianie OT do płynu inkubacyjnego *in vitro*, w stężeniach 10⁻⁹–10⁻⁵ M; najsilniejszy efekt pobudzający wywierały stężenia 10⁻⁷ i 10⁻⁸ M, podczas gdy stężenia 10⁻¹⁰ i 10⁻¹¹ M pozostały bez wpływu na badany proces. W warunkach pobudzania nadmiarem jonów K⁺, uwalnianie OT z układu H-NH do płynu inkubacyjnego, niezależnie od badanego stężenia tryptoreliny, nie różniło się istotnie od grupy kontrolnej.

Wnioski: Wyniki tych badań sugerują, że tryptorelina może modyfikować sekrecyjną aktywność neuronów oksytocynergicznycch u szczura, nasilając tym samym uwalnianie OT. Badania finansowane przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (grant Nr 503-6103-1).

Oxytocin secretion from the rat hypothalamo-neurohypophysial system *in vitro* is stimulated by gonadotropin-releasing hormone agonist — triptorelin

Marlena Juszcak, Magdalena Roszczyk

Department of Pathophysiology and Experimental Neuroendocrinology, Medical University of Lodz, Poland

Introduction: Previous studies have shown, that oxytocin (OT) secretion could be modified by gonadotropin-releasing hormone (GnRH). In medical practice, more often than GnRH itself, its analogs are used. The aim of the present investigation was, therefore, to study the effect of GnRH agonist — triptorelin on OT secretion from the isolated rat hypothalamo-neurohypophysial (H-NH) system.

Material and methods: Male rats served as donors of the H-N explants, which were placed in 1 ml of Krebs-Ringer fluid (KRF) heated to 37°C and constantly gassed with carbogen. The H-NH explants were incubated successively in: 1 — normal KRF {B1}; 2 — incubation fluid as B1 enriched with excess amount (56 mM) of K⁺ {S1}, 3 — incubation fluid as B1 enriched with an appropriate concentration of triptorelin, i.e., 10⁻¹¹–10⁻⁵ M {B2} and 4 — incubation fluid as S1 enriched with the same concentrations of the studied peptide {S2}. After 20 minute incubation, each medium (B1, S1, B2, S2) was collected and immediately frozen before OT estimation by the RIA. The OT secretion was determined by using B2/B1 (basal secretion) or S2/S1 (stimulated secretion) ratio for each H-NH explant.

Results: The results show that the GnRH agonist - triptorelin significantly stimulates OT release from the isolated H-NH system at the concentrations of 10⁻⁹–10⁻⁵ M. The strongest effect was displayed by the concentrations of 10⁻⁷ and 10⁻⁸ M, while the two others, i.e., 10⁻¹⁰ and 10⁻¹¹ M, remained inactive in modifying this hormone secretion *in vitro*. Under the conditions of K⁺ stimulation, triptorelin did not affect OT secretion *in vitro*.

Conclusion: The present results demonstrate that triptorelin may play a role as a neuromodulator contributing to the functional regulation of oxytocinergic neurons in the rat.

This study was supported by Medical University of Lodz (grant No 503-6103-1).

Metabolizm kwasu γ -aminomasłowego w warunkach stresu oksydacyjnego w komórkach GH3 z zablokowaną ekspresją PMCA

Antoni Kowalski, Ludmiła Żylińska, Elżbieta Rębas

Zakład Neurochemii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Wstęp: Szlak *GABA-shunt* jest główną drogą metabolizmu kwasu γ -aminomasłowego w komórkach pobudliwych. Może być też mechanizmem ochronnym, dostarczającym intermediatu cyklu Krebsa — bursztynianu, zapewniając uzupełnienie niedoborów ATP w warunkach stresowych, takich jak zaburzona homeostaza wapniowa czy stres oksydacyjny.

Celem badań było określenie jak zaburzona w wyniku blokady ekspresji izoform plazmatycznej pompy wapniowej (PMCA2, PMCA3) homeostaza wapniowa oraz indukowany etanolem stres oksydacyjny wpływają na aktywność enzymów szlaku *GABA-shunt*: dekarboksylazy glutaminianowej (GAD), aminotransferazy GABA (GABA-T) i dehydrogenazy semialdehydu bursztynianowego (SSADH).

Materiał i metody: Komórki linii GH3 pochodzące z guza przedniego płata przysadki mózgowej, kontrolne oraz z trwale zablokowaną ekspresją izoform PMCA2 i PMCA3 hodowane były w standardowym podłożu z dodatkiem 100 mM etanolu, przez 24, 48 i 72 godziny. Aktywność GAD oznaczano spektrofotometrycznie poprzez wykrywanie produktu kondensacji GABA z ninhydriną, natomiast aktywności GABA-T i SSADH oznaczano metodą polegającą na spektrofotometrycznym oznaczeniu NADH.

Wyniki i wnioski: W komórkach z zablokowaną ekspresją izoform PMCA zaobserwowano obniżoną aktywność GAD i SSADH. Po 24 godzinach inkubacji z etanolem w komórkach kontrolnych niewiele wzrosła aktywność GABA-T i znacznie, około 90% aktywność SSADH. Może to sugerować uruchomienie mechanizmu adaptacyjnego, zapewniającego dostarczenie bursztynianu do cyklu Krebsa i zabezpieczającego komórkę przed stratami energetycznymi. Zaburzona homeostaza wapniowa wydaje się wpływać na wywołane etanolem zmiany w aktywności enzymów *GABA-shunt*. W komórkach z zablokowaną ekspresją PMCA3 wzrastała jedynie aktywność GAD po 24 h inkubacji. Aktywność szlaku była obniżona przez wszystkie dni trwania eksperymentu.

Praca finansowana z funduszy MNiSW — NN401 076337 oraz Uniwersytetu Medycznego w Łodzi 502-16-810 i 503-6086-2.

GABA metabolism in PMCA-depleted GH3 cells under ethanol-induced oxidative stress conditions

Antoni Kowalski, Ludmiła Żylińska, Elżbieta Rębas

Department of Molecular Neurochemistry, Medical University of Lodz, Poland

Introduction: *GABA-shunt*, an enzymatic pathway consisting of enzymes — glutamate decarboxylase (GAD), GABA-transaminase (GABA-T) and succinic acid dehydrogenase (SSADH) is a major way of γ -aminobutyric acid metabolism in excitable cells. It is also supposed to be a protective mechanism, closely related to cell energetics, supporting ATP synthesis under stress conditions, as its final product — succinate — is an intermediate of Krebs cycle.

The aim was to determine how impaired calcium homeostasis, induced by suppressed expression of plasma membrane calcium ATPase isoforms (PMCA2, PMCA3), and ethanol-induced oxidative stress affect the activity of *GABA-shunt* enzymes.

Material and methods: Anterior pituitary tumor GH3 cell line, control and PMCA-depleted, were cultured for 24, 48 and 72 hours in

standard medium supplemented with 100 mM ethanol. GAD activity was assayed with spectrofluorimetric method based on detection of GABA condensed with ninhydrin. GABA-T and SSADH activities were estimated by spectrophotometric measurement of NADH formation.

Results and conclusions: Results show a significant decrease in GAD and GABA-T activity in PMCA-depleted cells. After 24 hours of ethanol application, in the control cells we observed a slight increase in GABA-T activity and a significant, about 90% increase in SSADH activity. It may indicate triggering the mechanism supplying succinate to Krebs cycle. Calcium homeostasis impairment seems to have an influence on *GABA-shunt* response to ethanol stress. In PMCA3 depleted cells only GAD activity was significantly increased after 24 hours of incubation. Generally, the whole pathway activity was decreased through all the days of the experiment. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education grant NN401 076337 and Medical University of Lodz grants 502-16-810 and 503-6086-2.

Rola analogów somatostatyny w leczeniu nieczynnych hormonalnie gruczolaków przysadki

Jolanta Kunert-Radek¹, Natalia Zawada¹, Hanna Pisarek², Magdalena Górską-Chrzęstek³, Marek Pawlikowski²

¹I Klinika Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Zakład Neuroendokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

³Zakład Medycyny Nuklearnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Wstęp: Nieczynne hormonalnie gruczolaki przysadki stanowią około 30% wszystkich chirurgicznie usuwanych makrogruczolaków. Objawy pojawiają się późno i wynikają z efektu masy guza. Operacja neurochirurgiczna stanowi leczenie pierwszego rzutu, jednak z powodu częstej nad- i okołosiodłowej ekspansji guza jest rzadko (< 36%) skuteczna. Pozostawia fragmenty guza, które są przyczyną pojawienia się nawrotów gruczolaka. Jedną z możliwości terapeutycznych w tych przypadkach są analogi somatostatyny, gdyż guzy wykazują ekspresję receptorów somatostatynowych. Leczenie analogami somatostatyny wiąże się z korzystnymi efektami (jak poprawa pola widzenia), rzadziej zmniejszeniem wielkości guza.

Celem pracy była ocena skuteczności leczenia analogiem somatostatyny — oktrotidem pacjentów z nieczynnymi hormonalnie gruczolakami przysadki.

Materiał i metody: Przeanalizowano historie leczenia 6 pacjentów ze zdiagnozowanymi nieczynnymi hormonalnie gruczolakami przysadki z Kliniki Endokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Pięciu z nich było kilkakrotnie leczonych neurochirurgicznie i/lub radioterapią z powodu nawrotów guza, a jeden pacjent nie wyraził zgody na operację. We wszystkich przypadkach wykazano silną ekspresję receptorów somatostatynowych i podtypu 2 w scyntygrafii. W badaniach immunohistochemicznych potwierdzono obecność wszystkich 5 typów receptorów somatostatynowych w tkance guza. Wszystkich pacjentów zakwalifikowano do leczenia analogiem somatostatyny — oktrotidem (Sandostatin LAR) 20 mg domięśniowo raz w miesiącu.

Wyniki: W wyniku terapii analogami somatostatyny obserwowano szybką poprawę kliniczną — ustąpienie bólów głowy i poszerzenie pola widzenia. Nie wykazano jednak istotnego wpływu na objętość guza. U leczonych osób nie zaobserwowano jakichkolwiek objawów niepożądanych.

Wnioski: Leczenie analogami somatostatyny poprawia stan kliniczny pacjentów z nieczynnymi hormonalnie guzami przysadki, jednak nie jest znacząco skuteczne w redukcji objętości guza.

The role of somatostatin (SST) analogues in the therapy of non-functioning pituitary adenomas

Jolanta Kunert-Radek¹, Natalia Zawada¹, Hanna Pisarek², Magdalena Górska-Chrzastek³, Marek Pawlikowski²

¹Chair of Endocrinology, Medical University, Łódź

²Department of Neuroendocrinology, Medical University, Łódź

³Department of Nuclear Medicine, Medical University, Łódź

Introduction: Non-functioning pituitary adenomas (NFPA) are estimated for about 30% of all surgically removed pituitary macroadenomas. The main symptoms of NFPA occur late and are due to the mass effect of the tumour. Neurosurgery is the first line treatment of NFPA. However, because of frequent supra- and parasellar extension, surgery is rarely curative (in less than 36%), leaving tumour remnants that regrow during long-term follow-up in a significant proportion of cases. Regarding pharmacotherapy of NFPA, the use of somatostatin analogues has been proposed in the majority of tumors as they reveal the expression of somatostatin receptors. Treatment with SST analogues results in beneficial effects on visual field defects and is followed by tumour shrinkage in the minority of cases.

The assessment of the effectiveness of octreotide treatment in patients with clinically non-functioning pituitary adenomas.

Material and methods: The case records of 6 patients with diagnosed NFPA treated in The Department of Clinical Endocrinology in Lodz were analyzed. Five patients underwent several neurosurgeries and/or radiotherapy due to tumor recurrence and one person did not agree to the surgery. In all the cases somatostatin receptor scintigraphy revealed a strong expression of SSTR2. Immunohistochemical examinations confirmed the presence of all 5 SSTRs in the tumour tissue. The therapy was introduced to all the patients — octreotide (Sandostatin LAR) 20mg intramuscular once a month.

Results: SST analogues therapy resulted in rapid clinical improvement in headaches and visual disturbances. No impact on tumor volume was revealed. No side effects of the applied therapy were observed among the treated patients.

Conclusions: SST analogues treatment results in the improvement of patients' clinical condition, however, it is not significantly effective in the reduction of the tumor volume.

Przerzuty do przysadki — charakterystyka kliniczna i różnicowanie z gruczolakiem przysadki

Włodzimierz Liebert¹, Janusz Szymas², Ryszard Waśko³, Bartosz Sokół¹, Magdalena Jaskuła³

¹Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii, Uniwersytet Medyczny, Poznań

²Katedra Patomorfologii, Uniwersytet Medyczny, Poznań

³Katedra i Klinika Endokrynologii Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny, Poznań

Wstęp: Przerzuty do przysadki mózgowej nie są częste, a ich symptomatologia może być podobna do typowego gruczolaka przysadki. Stąd przerzuty do przysadki muszą być uwzględniane w diagnostyce różnicowej procesów rozrostowych w okolicy siodła tureckiego. Według piśmiennictwa częstość występowania objawowych przerzutów do przysadki waha się od 1 do 4%. Najczęściej przerzuty do przysadki występują w raku piersi i płuca, ale źródłem przerzutu może być każdy nowotwór. Moczówka prosta, zaburzenia widzenia niedowład nerwu okoruchowego są objawami często występującymi w guzie przerzutowym.

Materiał i metody: W naszym materiale obejmującym 655 operacji przezklinowych nowotwór przerzutowy został potwierdzony histologicznie tylko u 2 (0,3%) chorych. Pierwszym pacjentem była kobieta w wieku 67 lat, u której w ciągu 2 tygodni rozwinęła się obustronna ślepotą i porażenie nerwów okoruchowych. Drugi pacjent to mężczyzna 57 lat z 3-miesięcznym wywiadem raka prostaty, u którego nagle wystąpiło porażenie nerwu okoruchowego lewego. U obu chorych w badaniu scyntygraficznym stwierdzono mnogie przerzuty do kości.

Wnioski: U chorego z guzem przysadki naciekającym zatoki jamiste, z zaburzeniami widzenia i porażeniem nerwu okoruchowego oraz rozpoznany wcześniej złośliwym procesem nowotworowym wystąpienie guza przerzutowego jest bardzo prawdopodobne.

Pituitary metastases — clinical presentation and differentiation from pituitary adenoma

Włodzimierz Liebert¹, Janusz Szymas², Ryszard Waśko³, Bartosz Sokół¹, Magdalena Jaskuła³

¹Department of Neurosurgery and Neurotraumatology University of Medical Sciences, Poznań

²Department of Pathology, University of Medical Sciences, Poznań

³Department of Endocrinology, Internal Diseases and Metabolism, University of Medical Sciences, Poznań

Introduction: Metastases to the pituitary gland are uncommon, but may mimic a typical pituitary adenoma and are an important part of the differential diagnosis of sellar mass lesions. The reported incidence of symptomatic pituitary metastasis is 1–4%. Most pituitary metastases have been associated with carcinoma of the breast and lung, but almost any primary tumor may metastasize to the pituitary gland. Diabetes insipidus, visual loss and oculomotor nerve palsy are the frequent features of tumor metastasis.

Cases presentation: In our surgical series of 655 transsphenoidal operations metastatic disease was diagnosed only in 2 (0.3%) patients. The first patient was a 67-year-old female, with plasmacytoma. She rapidly developed biocular blindness and ophthalmoplegia. The second patient was a 57-year-old man with a 3 month history of prostate cancer. He had a sudden onset of ophthalmoplegia of the left eye. Bone scintigraphy demonstrated widespread bone metastases in the both cases.

Conclusion: When a patient with a known malignant neoplasm develops a pituitary mass invading the cavernous sinus with visual symptoms and oculomotor palsy, the diagnosis of metastasis is very probable.

Procentowy udział komórek natural killer w warunkach ostrego i chronicznego stresu otwartego pola i podawania dezypraminy we krwi szczurów zróżnicowanych pod względem spontanicznej aktywności lokomotorycznej

Magdalena Listowska, Wojciech Glac, Karolina Plucińska, Dorota Myślińska, Danuta Wrona

Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Gdański

Często chorobie nowotworowej towarzyszy depresja. Ponieważ komórki natural killer (NK) są odpowiedzialne za wrodzoną odporność przeciwnowotworową, w prezentowanych badaniach określiliśmy procentowy udział komórek NK po podaniu antydepresanta dezypraminy (DEZ), poprzedzającym ekspozycję na ostry lub

chroniczny stres otwartego, jasno oświetlonego pola (OF) u szczurów różniących się spontaniczną aktywnością lokomotoryczną i wrażliwością na stres.

Samce szczurów szczepu Wistar podzielono na wysoko (HR) i nisko (LR) aktywne w teście nowości i poddano dootrzewnowym iniekcjom DEZ (10 mg/kg) (n = 15) lub soli (SAL, n = 15) przez okres 14 dni po ekspozycji na ostry (30 minut, grupa DEZ) lub chroniczny (7 dni, grupa HAB) stres OF. Udział procentowy komórek NK we krwi oznaczano metodą cytometrii przepływową (Beckman-Coulter).

Zarówno ostry, jak i chroniczny stres OF i iniekcje DEZ nie wpłynęły istotnie na procentowy udział komórek NK u zwierząt w grupie niepodzielonej na grupy behawioralne ($13,98 \pm 4,61\%$ lub $15,49 \pm 4,42\%$ v. $13,45 \pm 3,84\%$, odpowiednio dla grupy DEZ, HAB i SAL). W grupach zwierząt różnicowanych pod względem poziomu spontanicznej aktywności lokomotorycznej w nowym polu, procent komórek NK istotnie ($p \leq 0,01$) obniżył się u zwierząt LR poddanych iniekcji DEZ po stresie ostrego OF w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi LR ($12,39 \pm 2,60\%$ v. $19,22 \pm 5,32\%$). W przecięństwie do tego, chroniczny stres OF (grupa HAB) nie wpłynął istotnie na procent komórek NK we krwi, zarówno u zwierząt HR ($15,64 \pm 4,39\%$), jak i LR ($15,34 \pm 4,79\%$) poddanych iniekcji DEZ.

Uzyskane wyniki sugerują, że indywidualne różnicowanie poziomu aktywności lokomotorycznej i podatności na stres odgrywa istotną rolę w modulowaniu wpływów dezypraminy na dystrybucję komórek NK podczas depresji behawioralnej, wywołanej ostrym, a nie chronicznym stresem otwartego pola.

Praca została sfinansowana z grantu N 303 3335336 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Blood natural killer cell percentage number following acute and chronic open field stress and desipramine injections in rats differing in spontaneous locomotor activity

Magdalena Listowska, Wojciech Glac, Karolina Plucińska, Dorota Myślińska, Danuta Wrona

Department of Animal Physiology, University of Gdańsk

Cancer disease is usually accompanied with depression. As natural killer cells (NK) are responsible for innate antitumor activity, blood NK cell percentage number after chronic anti-depressant desipramine (DEZ) treatment followed by an acute or chronic, white and illuminated open field (OF) stress in rats differing in spontaneous locomotor activity and stress susceptibility was investigated in the present study.

Male Wistar rats were divided into high (HRs) and low (LRs) responsive to novelty and subjected to DEZ (10 mg/kg) (n = 15) or saline (SAL, n = 15) i.p. injections for 14 days followed by an acute (30 minutes, DEZ group) or chronic (7 day, HAB group) OF stress. The percentage of blood (cardiac puncture) NK cells was assessed by flow cytometry (Beckman-Coulter).

There was no significant influence of acute or chronic OF stress and DEZ injections on blood NK cell percentage in the animals non-divided into behavioral groups ($13,98 \pm 4,61\%$ or $15,49 \pm 4,42\%$ v. $13,45 \pm 3,84\%$ for DEZ or HAB groups and SAL controls, respec-

tively). In the animal groups differing in the level of spontaneous locomotor activity in novelty, NK cell percentage significantly ($p \leq 0,01$) decreased in LR rats with DEZ injections followed by an acute OF as compared to LR saline controls ($12,39 \pm 2,60\%$ v. $19,22 \pm 5,32\%$). In contrast, chronic OF stress (HAB group) had no significant effect on blood NK cell percentage in HR ($15,64 \pm 4,39\%$) and LR ($15,34 \pm 4,79\%$) animals with DEZ injections.

The obtained results suggest that individual differences in locomotor activity and stress susceptibility play an important role in the effects of desipramine on NK cell distribution during acute but not chronic OF stress-induced behavioral depression.

This work was supported by a research grant N 303 3335336 from the Ministry of Science and Higher Education.

Eksperymentalny stan zapalny otrzewnej kurcząt obniża biosyntetyczną aktywność szyszynki przez hamowanie ekspresji genu AANAT

Paweł Majewski¹, Aneta Piesiewicz¹, Urszula Kędzierska¹, Maria Waloch², Krystyna Skwarło-Soñta¹

¹Zakład Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

²Zakład Parazytologii Lekarskiej, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Wyniki naszych poprzednich badań wykazały istnienie u kurcząt dwukierunkowych oddziaływań pomiędzy pobudzonym układem odpornościowym a biosyntetyczną aktywnością szyszynki. Rozwijający się stan zapalny otrzewnej (SZO) znosi okołodobowy rytm syntezy melatoniny (MEL), a traktowanie kurcząt egzogenną MEL powoduje zahamowanie napływu leukocytów do otrzewnej. Celem niniejszej pracy jest identyfikacja mechanizmu, za pośrednictwem którego zapalenie otrzewnej obniża aktywność biosyntetyczną szyszynki kurcząt.

Doświadczenia przeprowadzono na 16-dniowych kogutach rasy Hi-Line, przetrzymywanych od dnia wyklucia w kontrolowanych warunkach oświetlenia (L:D 12:12). SZO wywołano dootrzewnową iniekcją tioglikolatu (TG) 2 h przed końcem fazy jasnej (ZT10). Ptaki kontrolne i nastrzyknięte TG skrwawiano w ZT14 i 18, co odpowiadało 4 h i 8 h od wywołania SZO, której rozwój sprawdzano, określając liczbę leukocytów otrzewnowych. Od kurcząt z obu grup doświadczalnych wyizolowano szyszynki, w których oznaczono zawartość prekursorów MEL (tryptofan i serotonina, ELISA) oraz poziom mRNA (QRT-PCR) dla wszystkich enzymów szlaku biosyntezy MEL (TPH1, AADC, AANAT i HIOMT). Ponadto zbadano poziom białka AANAT oraz chroniącego go przed proteosomalną degradacją białka 14-3-3.

Rozwojowi SZO u kurcząt towarzyszył spadek w ich szyszynkach poziomu mRNA dla wymienionych enzymów szlaku biosyntezy MEL, jedynie poziom mRNA dla AANAT w 8 h od iniekcji TG nie różnił się w porównaniu z grupą kontrolną. Nie odnotowano natomiast różnic ani w ilości prekursorów MEL, ani w poziomie białka 14-3-3. Jednak ilość białka AANAT w szyszynkach z grupy TG była w obu punktach czasowych niższa niż u ptaków z grupy kontrolnej. Otrzymane wyniki wskazują, że hamowanie aktywności biosyntetycznej szyszynki przez pobudzony układ odpornościowy związane jest z obniżeniem ekspresji genu kodującego AANAT, mechanizm/y tej transkrypcyjnej regulacji jest obecnie przedmiotem naszych badań.

Finansowane ze grantów MNiSW NN303317733 i NN303503438.

Peritonitis inhibits chicken pineal biosynthetic activity through the AANAT gene expression down regulation

Paweł Majewski¹, Aneta Piesiewicz¹, Urszula Kędzierska¹, Maria Waloch², Krystyna Skwarło-Sońta¹

¹Department of Animal Physiology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Poland

²Department of Medical Parasitology, National Institute of Hygiene, Warsaw, Poland

Recently, we have demonstrated bidirectional interrelationships between the activated immune system and the pineal gland function in chicken. Developing peritonitis caused a decrease in the pineal melatonin (MEL) biosynthesis leading to the disappearance of its circadian rhythm. Reciprocally, treatment with exogenous MEL inhibited the development of peritonitis estimated as an increase in peritoneal leukocyte (PTLs) number. The aim of the present study was to find the step(s) in MEL biosynthesis pathway inhibited during peritonitis.

The experiments were performed on 16-day-old male Hi-Line chickens reared from the day of hatch under controlled conditions (L:D 12:12). Peritonitis was evoked by ip. injection of thioglycollate solution (TG) 2h before darkness (ZT10). Intact control and TG treated chickens were sacrificed at ZT 14 and 18, corresponding to 4h and 8h post injection, respectively, and the development of peritonitis was verified by the number of retrieved PTLs. The pineal glands were isolated under dim red light, immediately frozen prior to the analysis of MEL precursors content (tryptophan and serotonin, ELISA) and the level of mRNA (QRT-PCR) for all enzymes participating in MEL biosynthesis pathway (TPH1, AADC, AANAT, HIOMT). Protein content of AANAT and its chaperone 14-3-3 protein were estimated by Western blotting.

Peritonitis induction was accompanied with a significant decrease in the level of mRNA encoding all above-mentioned enzymes with one exception — 8h after TG treatment mRNA for AANAT was the same as in the control group. In inflamed birds neither the content of pineal MEL precursors nor 14-3-3 protein were changed while that of AANAT protein was significantly decreased at both time points examined.

The obtained results indicate that the inhibition of MEL biosynthesis in the chicken pineal gland by peritonitis occurs at the AANAT gene transcriptional level. The mechanism(s) of transcriptional regulation of AANAT and other pineal enzymes during peritonitis is under consideration.

Supported by the Polish MSHE grants NN303317733 and NN303503438.

Setna rocznica odkrycia przez Stellę Starkel i Lesława Węgrzynowskiego strefy płodowej nadnerczy człowieka: do czego doszliśmy?

Ludwik K. Malendowicz

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny, Poznań

Rok 2010 to setna rocznica opisanego przez Stellę Starkel i Lesława Węgrzynowskiego, polskich lekarzy z Instytutu Anatomii Patologicznej Uniwersytetu we Lwowie, strefy płodowej nadnercza człowieka. Cały świat naukowy nie kwestionuje pierwszeństwa tego odkrycia, a ich publikacja jest ciągle cytowana w piśmienn-

nictwie światowym. Czego dotyczyły ich badania? Publikacja ukazała się w niemieckim Arch. Anat. Physiol., a jej oryginalny tytuł to „Beitrag zur Histologie der Nebenniere bei Feten und Kindern“. Badania przeprowadzono na 100 nadnerczach płodów (od 6. miesiąca ciąży) i dzieci (do 5. roku życia). Opisałi oni strefę płodową jako „strefę rdzeniową”, również jako „niedojrzałą korę”, która ulega involucji w pierwszych latach życia. Odnotowali oni również, że u noworodków masa nadnercza ulega znacznemu obniżeniu. Starkel i Węgrzynowski opublikowali wyniki swoich badań również w warszawskiej Medycynie i Kronice Lekarskiej (1910).

W roku 1961 H. Kuński — w Pol. Med. Sci. Hist. Bull. — przypomniał to wielkie odkrycie. Setna rocznica odkrycia strefy płodowej nadnerczy człowieka stanowi okazję przedstawienia najważniejszych wyników badań nad rozwojem nadnercza człowieka, w szczególności jego strefy płodowej.

Ta przejściowa struktura ciągle interesuje świat nauki. Pomimo rozległych badań, pochodzenie, rozwój, wzrost i czynność steroidogenna strefy płodowej nadnercza człowieka nie jest w pełni poznana. Przedstawione zostaną najważniejsze wyniki badań w zakresie embriologii i czynności dokrewnej strefy płodowej. Dalsze badania nad nią — szczególnie przy użyciu technik biologii molekularnej — pozwolą na poszerzenie wiedzy o rozwoju i funkcji tej strefy.

100th anniversary of Stella Starkel and Lesław Węgrzynowski 's discovery of the human adrenal fetal zone: how far have we gone?

Ludwik K. Malendowicz

Department of Histology and Embryology, Poznan University of Medical Sciences

Year 2010 marks a centennial anniversary of the description of the fetal zone of the human fetal adrenal gland by Stella Starkel and Lesław Węgrzynowski, Polish physicians from the Institute of Pathological Anatomy, University of Lwów. In the entire scientific world the priority of their discovery is unquestionable and their publications are still cited in international literature. What did the study concern? The paper appeared in the German Arch. Anat. Physiol. and its original title was „Beitrag zur Histologie der Nebenniere bei Feten und Kindern“ („Contribution to histology of adrenals of fetuses and children“). The studies were performed on 100 adrenal glands obtained from fetuses (from 6th month of gestation) and children up to 5 years old. They described the fetal zone as a “medullary zone”, also as “immature cortex” which undergoes involution in first years of life. They also noted, that in neonates the weight of human fetal adrenal gland underwent rapid and notable lowering. Starkel and Węgrzynowski also published their findings in Polish, in the Warsaw medical journal entitled “Medycyna and Kronika Lekarska” (Medicine and Medical Chronicle) (1910). In 1961 H. Kuński recalled this great discovery in the Pol. Med. Sci. Hist. Bull. The centennial anniversary of the first description of the human adrenal fetal zone gave opportunity to present the most important findings on the development of the human adrenal gland, in particular its fetal zone.

This transitory zone still intrigues numerous world scientists. Despite extensive studies, the origin, development, growth and steroidogenic function of the human adrenal fetal zone is not fully understood. The present review aimed to highlight the most important findings in this field of embryology and endocrinology. Future studies directed to these issues will extend our knowledge of the development and function of the human adrenal fetal zone.

Wpływ oreksyny A na wydzielanie LH i FSH z komórek przysadki niedojrzałych i dojrzałych samic szczura w warunkach hodowli pierwotnej

Lidia Martyńska, Ewa Wolińska-Witort,
Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik,
Elżbieta Wasilewska-Dziubińska, Małgorzata Kalisz,
Bogusława Baranowska

Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Wstęp: Oreksyna A (OxA), peptyd syntetyzowany głównie w obszarze bocznego podwzgórza, wykazuje szerokie działanie zarówno w centralnym układzie nerwowym, jak i w tkankach obwodowych. Reguluje łaknienie, metabolizm, uczestniczy również w regulacji uwalniania hormonów tropowych przysadki. OxA działa przez 2 typy receptorów, Ox1R i Ox2R, których obecność wykazano także w przysadce.

Celem pracy było określenie czy OxA bezpośrednio reguluje wydzielanie LH i FSH z komórek przysadki niedojrzałych (ND) i dojrzałych płciowo (D) samic szczura.

Materiał i metody: Przysadki szczurze do badań *in vitro* pobrano od samic 30-dniowych (ND) oraz 3-miesięcznych, poddanych usunięciu jajników (D/OVX) i dodatkowo samic D/OVX po iniekcji estradiolu (D/OVX+E₂). Komórki przysadek w hodowli pierwotnej zostały poddane inkubacji z OxA w stężeniach: 0,1 nM lub 100 nM (wydzielanie podstawowe) oraz z OxA w obecności 1 nM GnRH (wydzielanie stymulowane).

Wyniki: Stwierdzono, że OxA zwiększa podstawowe wydzielanie LH z komórek przysadek ND o 125% (0,1 nM; $p < 0,001$) i o 100% (100 nM; $p < 0,01$), natomiast w hodowli przysadek D/OVX obniża je o 40% (0,1 nM; $p < 0,05$, 100 nM; $p < 0,01$), w porównaniu z grupami kontrolnymi. OxA zmniejsza wydzielanie FSH stymulowane GnRH o 50% ($p < 0,05$) w grupie ND oraz LH o 35% ($p < 0,05$) i FSH o 20% ($p < 0,05$) w grupie D/OVX. OxA nie zmienia wydzielania gonadotropin w grupie D/OVX+E₂.

Wnioski: Oreksyna A może wpływać na podstawowe i stymulowane GnRH wydzielanie LH i FSH, działając bezpośrednio na komórki przysadki.

Praca finansowana w ramach projektu CMKP nr 501-2-1-27-19/06.

The influence of orexin A on LH and FSH secretion in immature and mature female rat pituitary cells in primary culture

Lidia Martyńska, Ewa Wolińska-Witort,
Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik,
Elżbieta Wasilewska-Dziubińska, Małgorzata Kalisz,
Bogusława Baranowska

Neuroendocrinology Department, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

Introduction: Orexin A (OxA), a peptide synthesized mainly in the lateral hypothalamus, shows a wide effect in the central nervous system as well as in the peripheral tissues. It regulates food intake, energy expenditure and also pituitary hormones secretion. OxA acts via two types of receptors Ox1R and Ox2R, which recently have been spotted in pituitary cells.

The aim of the study was to determine whether Ox A regulates the LH and FSH secretion from pituitary cells of immature (ND) and mature (D) female rats.

Material and methods: Pituitaries for *in vitro* study were taken from 30-day-old female rats (ND) and 3-month-old ovariectomized (D/OVX)

female rats and in addition D/OVX females treated with estradiol (D/OVX+E₂). The primary pituitary cells cultures were incubated with OxA at doses of 0.1 or 100 nM and after stimulation of 1nM GnRH.

Results: We found that OxA increased basal LH secretion from ND pituitary cells by 125% (0.1 nM; $p < 0.001$) and by 100% (100 nM; $p < 0.01$), however, decreased it by 40% in the D/OVX group (0.1nM; $p < 0.05$; 100 nM; $p < 0.01$), compared to the controls.

OxA decreased GnRH-stimulated FSH secretion by 50% ($p < 0.01$) in the ND group and secretion of LH by 35% ($p < 0.05$) and FSH by 20% ($p < 0.05$) in the D/OVX group. OxA did not alter gonadotrophins secretion in D/OVX+E₂ group.

Conclusion: OxA may modulate LH and FSH release directly on the pituitary level as well might change sensitivity of gonadotrophs during GnRH stimulation.

This study was financed by CMKP project no. 501-2-1-27-19/06.

Profesor Michał Karasek (1937–2009)

— życie i działalność

Marek Pawlikowski

Zakład Neuroendokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

W dniu 18 lutego 2009 roku zmarł Prof. Michał Karasek, wybitny endokrynolog, współredaktor czasopisma „Endokrynologia Polska”, wieloletni przewodniczący Sekcji Neuroendokrynologii oraz członek honorowy Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego. Urodził się w Łodzi 26 września 1937 roku. W 1960 r. ukończył Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Łodzi. Stopień doktora nauk medycznych uzyskał w 1967 r., a stopień doktora habilitowanego w 1973 r. W 1988 r. otrzymał tytuł profesora. Prof. Karasek był morfologiem i endokrynologiem, a przedmiotem jego szczególnego zainteresowania były szyszynka i jej hormon melatonina. Badaniom nad tym gruczołem dokrewnym poświęcona jest większość spośród ponad 300 jego publikacji naukowych, w tym kilka podręczników i monografii. Był uznanym autorytetem światowym w badaniach szyszynki. W ostatnich latach przedmiotem jego szczególnych zainteresowań była także endokrynologia starzenia. Pracę naukową i dydaktyczną Michał Karasek rozpoczął w Zakładzie Histologii i Embriologii swojej macierzystej Uczelni, następnie pracował w Zakładzie Histologii i Embriologii Wojskowej Akademii Medycznej (1966–1969). Później przez wiele lat (1969–2004) kierował Pracownią Mikroskopii Elektronowej Akademii Medycznej, afiliowanej kolejno do różnych jednostek organizacyjnych Uczelni. Od roku 2004, aż do ostatnich dni swego życia, Prof. Karasek pełnił funkcję kierownika Zakładu Neuroendokrynologii Katedry Endokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, a od roku 2000 także funkcję Zastępcy Kierownika Kliniki Endokrynologii i Chorób Metabolicznych Instytutu „Centrum Zdrowia Matki Polki”. Za swoje osiągnięcia naukowe Prof. Karasek otrzymał szereg nagród i wyróżnień, wśród których szczególnie należy wymienić tytuł doktora honoris causa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie (2001). Prof. Karasek należał do grona najczęściej cytowanych polskich uczonych z zakresu nauk biomedycznych, z liczbą 1593 cytowań Jego prac. Był członkiem, a także zasiadał we władzach wielu towarzystw naukowych, krajowych i międzynarodowych, m.in. Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego, Polskiego Towarzystwa Neuroendokrynologii, Europejskiego Towarzystwa Badań nad Szyszynką. Brał udział także w radach redakcyjnych licznych naukowych czasopism krajowych i międzynarodowych. Był m.in. redaktorem naczelnym organu Łódzkiego Towarzystwa Naukowego *Folia Medica Lodziana* oraz zastępcą redaktora naczelnego międzynarodowych czasopism *Neuroendocrinology Letters* i *Journal of Pineal Research*.

Był człowiekiem życzliwym ludziom, miał licznych przyjaciół nie tylko w Polsce, lecz niemal na wszystkich kontynentach. Wrażliwy na piękno przyrody, wyrażał to w fotografii artystycznej, która była Jego pozazawodową pasją.

Professor Michał Karasek (1937–2009) — his life and scientific activity

Marek Pawlikowski

Department of Neuroendocrinology, Medical University of Lodz

On 18th February, 2009 Professor Michał Karasek, a prominent endocrinologist, co-editor of the Polish Journal of Endocrinology, chairman of the Neuroendocrinology Section and Honorary member of the Polish society of Endocrinology passed away. He was born in Lodz on September, 26th, 1937. In 1960 he graduated from the Medical Faculty, Medical University of Lodz. In 1967 he obtained the degree of PhD, in 1973 doctor habilitatus and in 1988 the degree of professor. Professor Karasek was a morphologist and endocrinologist. He was involved especially in the research of the pineal gland and its hormone - melatonin. The majority of his over 300 scientific papers concerned mainly the research of this endocrine gland, including some monographs and textbooks. He was world-wide acknowledged expert in pineal research. In the last years, he focused his research on the endocrinology of human aging. He started his research and didactic activity in the Department of Histology and Embryology of the Medical University of Lodz, then in the Department of Histology and Embryology of the Military Medical School (1966–1969). Later during several years he was the head of the Laboratory of the Electron Microscopy, affiliated to the different units of the Medical University (1969–2004). From 2004 to the last days of his life, he was the head of the Department of Neuroendocrinology of the Chair of Endocrinology, Medical University of Lodz. From 2000 he was also a deputy director of the Department of Clinical Endocrinology and Metabolic Diseases of the Health Center of the Polish Mother. The achievements of Professor Karasek were honored by many distinctions and prizes, including the title of doctor honoris causa of the Warmian-Mazurian University (2001). Professor Karasek was one of the most frequently cited Polish scientists in the biomedical sciences (1593 citations of his papers). He was a member, and even a member of authorities of many national and international scientific societies, among others Polish Society of Endocrinology, Polish Society of Neuroendocrinology, European Society of Pineal Research. He participated also in numerous editorial boards of either national or international journals. He was the editor-in-chief of *Folia Medica Lodziensia*, the organ of Societas Scintiarum Lodzienia and the deputy editor of the international journals *Neuroendocrinology Letters* and *Journal of Pineal Research*. He was very friendly to other people. He had many friends not only in Poland, but almost on all continents. He was very sensitive to the beauty of nature, which he expressed through his hobby—the art of photography.

Atorwastatyna zmienia syntezę opioidów w przysadce prosiąt z cukrzycą

Krystyna Pierzchała-Koziec, Joanna Zubel, Ewa Ocioń, Jacek Fedorczyk

Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy, Kraków

Wstęp: Atorwastatyna (ATOR), inhibitor 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-reduktazy koenzymu A, stosowana jest w prewencji chorób

sercowo-naczyniowych. Stwierdzono, że ATOR ma przeciwbólowe właściwości w modelu, w którym mediatory reakcji zapalnej stymulują wydzielanie opioidów mających bezpośrednie analgetyczne działanie.

Celem badań było określenie wpływu atorwastatyny na syntezę i sekrecję Met-enkefalin z przysadki prosiąt z indukowaną cukrzycą.

Materiał i metody: Doświadczenie wykonano na 8-tygodniowych prosiątach (samice) podzielonych na grupę kontrolną otrzymującą sól fizjologiczną i trzy eksperymentalne traktowane dootrzewnowo streptozotocyną (STZ, 150 mg/kg mc.), ATOR (0,6 mg/kg mc.) przez 7 dni oraz otrzymujące łącznie STZ+ATOR. Przysadki przeznaczono do określenia stężenia wolnej i związanej formy Met-enkefalin przy użyciu metody RIA, pomiaru ekspresji mRNA proenkefalin, stosując hybrydyzację *in situ* oraz oceny stopnia sekrecji opioidów podczas inkubacji tkanek.

Wyniki: Otrzymane wyniki wyraźnie wykazały, że podczas indukowanej cukrzycy stężenie wolnej i związanej Met-enkefalin w przysadce było istotnie wyższe, odpowiednio o 40 i 30%. Atorwastatyna podawana zarówno oddzielnie, jak i w połączeniu z STZ obniżyła stężenie Met-enkefalin poniżej poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych. Efekt ten był następstwem znacznych zmian w ekspresji mRNA genu proenkefalin, wywołanych przez STZ i atorwastatynę. Zarówno STZ, jak i atorwastatyna zmieniły *in vitro* sekrecję Met-enkefalin z przysadki.

Wnioski: Podsumowując, można sugerować zaangażowanie atorwastatyny w proces analgezji regulowanej przez opioidy centralnego układu nerwowego podczas hiperglikemii. Prosięta mogą być właściwym modelem do badań rozwoju i przebiegu cukrzycy typu 1 i 2.

Finansowane przez Grant z NCBiR Nr: N R12 0064/2009.

Pituitary opioid synthesis affected by atorvastatin in diabetic piglets

Krystyna Pierzchała-Koziec, Joanna Zubel, Ewa Ocioń, Jacek Fedorczyk

Department of Animal Physiology and Endocrinology, University of Agriculture, Kraków

Introduction: Atorvastatin (ATOR) is an inhibitor of the enzyme 3-hydroxyl-3-methylglutaryl coenzyme A reductase used to prevent coronary heart disease. It was found that ATOR has an analgesic effect in inflammatory models in which a sequential release of mediators and chemokine links the stimulus with release of directly acting agents such as opioid peptides.

The study was focused on the effects of atorvastatin on the synthesis and secretion of Met-enkephalin from the pituitary of piglets with induced diabetes.

Material and methods: The experiment was performed on 8-weeks old female piglets divided into groups: control treated with saline, and three experimental injected i.p. with streptozotocin (STZ, 150 mg/kg b.w.), ATOR (0.6 mg/kg b.w.) for 7 days or streptozotocin together with atorvastatin (STZ+ATOR). The pituitaries were directed for the estimation of native and cryptic Met-enkephalin concentrations by RIA, measurement of the proenkephalin gene expression by *in situ* hybridization and for the estimation of the *in vitro* opioids release by a tissues incubation method.

Results: The results clearly showed that during diabetes native and cryptic Met-enkephalin concentrations were significantly increased by 40 and 30% respectively. Atorvastatin alone and with the combination with STZ decreased the Met — enkephalin concentration below the level observed in the control animals. Such changes fol-

lowed the significant modulation of the expression of mRNA proenkephalin caused by STZ and atorvastatin. STZ and atorvastatin changed also the *in vitro* secretion of native Met-enkephalin from the pituitary.

Conclusions: In conclusion it can be postulated that atorvastatin is involved in analgesia regulated by opioids in the central nervous system during hyperglycemia. Piglets might be a suitable model for human diabetes type 1 and 2.

Financed by the NCBiR grant No: N R12 0064/2009.

Ekspresja podtypów receptorów somatostatynowych w pierwotnych i nawrotowych gruczolakach gonadotropowych: czy istnieje związek między receptorami somatostatynowymi a nawrotami gruczolaków przysadki?

Hanna Pisarek¹ Jolanta Kunert-Radek², Maciej Radek³, Jacek Świętosławski¹, Marek Pawlikowski¹

¹Zakład Neuroendokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Klinika Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

³Klinika Neurochirurgii i Chirurgii Nerwów Obwodowych, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Leczenie neurochirurgiczne makrogruczolaków przysadki jest często nie w pełni skuteczne ze względu na ich nawroty po zabiegu operacyjnym. Przyczyny nawrotów są złożone, lecz jedną z nich może być wysoki potencjał wzrostowy gruczolaka. Z uwagi na to, że receptory somatostatynowe pośredniczą w antyproliferacyjnym, antyangiogennym i proapoptycznym działaniu somatostatyny, wydaje się uzasadnione badanie ich ekspresji w zależności od nawrotów guzów. Zbadano 37 guzów typu gonadotropinomas, usuniętych operacyjnie u 17 pacjentów. Ten typ guzów został wybrany ze względu na ich względnie wysoki odsetek nawrotów. Fenotyp guzów oraz ekspresję podtypów receptorów somatostatynowych (SSTR1–5) badano metodą immunohistochemiczną, a poziom ekspresji SSTR oceniano w sposób półilościowy. Stwierdzono wyższą ekspresję podtypów SSTR1, 2A, 3 i 5 w guzach nawrotowych w porównaniu z pierwotnymi. Jednakże pierwotne guzy u pacjentów, u których nastąpiły nawroty miały niższą ekspresję SSTR2A i 3 w porównaniu z pierwotnymi guzami u pacjentów, u których w ciągu minimum 5 lat nie obserwowano nawrotu. Zaproponowano hipotezę, że SSTR mogą, przynajmniej częściowo, zapobiegać nawrotom guzów przysadki. Z drugiej strony, można przypuszczać, że nawrotowe gonadotropinomas mogą być bardziej wrażliwe na leczenie analogami somatostatyny niż guzy pierwotne. Obie hipotezy wymagają dalszych badań dla ich ewentualnego potwierdzenia.

Expression of somatostatin receptor subtypes in primary and recurrent gonadotropinomas: are somatostatin receptors involved in pituitary adenoma recurrence?

Hanna Pisarek¹ Jolanta Kunert-Radek², Maciej Radek³, Jacek Świętosławski¹, Marek Pawlikowski¹

¹Department of Neuroendocrinology,

²Department of Clinical Endocrinology,

³Department of Neurosurgery and Surgery of Peripheral Nerves, Medical University of Łódź, Poland

Surgical treatment of pituitary macroadenomas often fails because of tumor recurrence after the operation. The causes of tumor recurrence are complex, but one of them may be the high growth

potential of the adenoma. As somatostatin receptors mediate anti-proliferative, anti-angiogenic and pro-apoptotic actions, it seemed reasonable to investigate their expression in dependence on the adenoma recurrence. Twenty-seven samples of primary and recurrent gonadotropinomas excised surgically from 17 patients were examined. This type of pituitary adenomas was chosen because of its relatively high recurrence rate. The adenoma phenotype and expression of somatostatin receptor subtypes 1–5 (SSTR1–5) were investigated by immunohistochemistry, and the level of SSTR expression was semiquantitatively scored. It was found that the recurrent tumors show higher expression of SSTR1, 2A, 3 and 5 subtypes than their primary counterparts. However, primary adenomas which later recurred have lower expression of SSTR2A and 3 in comparison to those which did not recur during 5 years. It is hypothesized that SSTR may, at least in part, counteract adenoma recurrence. On the other hand, it can be also presumed that the recurrent gonadotropinomas may be more sensitive to somatostatin analog treatment than primary ones. These hypotheses need to be confirmed in further studies.

Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of puberty in the rhesus monkey

Tony M. Plant

Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Sciences, University of Pittsburgh School of Medicine, USA

Puberty in monkeys is triggered by robust pulsatile GnRH release after a protracted phase of juvenile development when pulsatility is arrested. This “up-down-up” pattern of GnRH unfolds in the absence of the gonad, and may be viewed to result from application of a neurobiological brake that restrains GnRH during juvenile development. Kisspeptin expression by KNDy neurons in the mediobasal hypothalamus (MBH) changes in parallel with GnRH release, and intermittent stimulation of the kisspeptin receptor (also known as GPR54) in the juvenile immediately induces a sustained precocious pubertal pattern of GnRH release. Similar stimulation with neurokinin B, which is co-expressed with kisspeptin in KNDy neurons, elicits a transient discharge of GnRH but does not sustain the release of this hypophysiotropic factor. KNDy perikarya are located in the arcuate nucleus, while GnRH cells are found more laterally in the MBH. Extensive and intimate association between kisspeptin/neurokinin B and GnRH axonal projections in median eminence (ME) indicates that regulation of GnRH by kisspeptin/neurokinin B may be exerted at the ME. It remains to be determined whether KNDy neurons are a component of a pubertal clock or growth tracking device, or serve as a link to relay information for such a puberty control center to the GnRH neurons. Similarly, there is a need to integrate KNDy neuron signaling with that of other pathways (GABA, neuropeptide Y, glutamate, and glial derived growth factors) implicated in the development regulation of the GnRH network.

Supported by NIH grants HD 008610 and 013254.

Lezje i stymulacje w regionie mezolimbicznego układu dopaminergicznego wpływają na wzrost udziału procentowego populacji komórek NK we krwi obwodowej

Karolina Plucińska, Beata Grembecka, Wojciech Glac, Dorota Myślińska, Piotr Badke, Grażyna Jerzemowska, Danuta Wrona

Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Gdański, Gdańsk

Jądro półleżące (Acb) jest głównym regionem eferentnym dopaminergicznego układu mezolimbicznego, którego stacją początkową stanowi brzuszne pole nakrywkowe śródmózgowia (VTA), odgrywa kluczową rolę w behawiorze napędowo-emocjonalnym. Celem pracy było zbadanie wpływu manipulacji w obrębie dopaminergicznego układu mezolimbicznego identyfikowanego z „mózgowym układem nagrody” na populację komórek NK (*natural killer*), naturalną aktywność cytotosyczną komórek NK (ACNK) i poziom kortykosteronu (COR) we krwi obwodowej u swobodnie poruszających się szczurów.

Szczury poddano stereotaktycznej implantacji elektrod domózgowych: stymulacyjnych do VTA i leżyjnych do Acb. Elektryczna stymulacja VTA indukowała behawior pobierania pokarmu lub eksploracji. Próbkę krwi obwodowej pobrano z serca zwierząt: w 3 tygodnie po implantacji elektrod, po 2 tygodniach chronicznej stymulacji VTA, w 2 dniu po lezji Acb i w 14 dniu ponownej stymulacji VTA po lezji Acb.

W porównaniu z grupą kontrolną (sham) chroniczna stymulacja VTA, jednostronna lezja Acb i powtórna 14 dniowa stymulacja w warunkach wcześniejszej lezji Acb, wpłynęła na znaczący wzrost udziału procentowego populacji komórek NK we krwi obwodowej ($15,09 \pm 3,72\%$ v. $40,59 \pm 16,69\%$; $12,32 \pm 3,35\%$ v. $23,86 \pm 3,36\%$; $10,35 \pm 4,1\%$ v. $24,26 \pm 6,97\%$, $p < 0,01$). Jednakże nie zaobserwowano znaczącego wpływu na ACNK. Poziom ACNK po chronicznej stymulacji VTA ($30,45 \pm 10,85\%$ v. $34,11 \pm 11,59\%$), po lezji Acb ($34,56 \pm 9,32\%$ v. $34,57 \pm 7,52\%$) i w 14 dniu po ponownej stymulacji VTA poprzedzonej lezją Acb ($24,33 \pm 8,52\%$ v. $34,84 \pm 8,74\%$) nie zmienił się znacząco w porównaniu z grupą sham. W porównaniu z grupą kontrolną nie zaobserwowano znaczących różnic w poziomie COR ($116,03 \pm 27,25$ ng/ml v. $144,10 \pm 34,82$ ng/ml; $141,53 \pm 34,36$ ng/ml v. $121,79 \pm 20,69$ ng/ml) z wyjątkiem 2. dnia po lezji Acb ($394,31 \pm 149,47$ ng/ml v. $127,36 \pm 31,25$ ng/ml, $p < 0,01$). Otrzymane wyniki wskazują, że manipulacje w obrębie regionów mózgu należących do „mózgowego układu nagrody” wpływają na dystrybucję komórek NK, które odgrywają główną rolę we wrodzonej obronie przeciwnowotworowej.

Lesion and stimulation of the mesolimbic dopaminergic system increase blood NK cell percentage

Karolina Plucińska, Beata Grembecka, Wojciech Glac, Dorota Myślińska, Piotr Badke, Grażyna Jerzemowska, Danuta Wrona

Department of Animal Physiology, University of Gdansk, Gdańsk

The nucleus accumbens (Acb), a major terminal field for the mesolimbic dopamine fibres originating in the ventral tegmental area (VTA) plays a pivotal role in emotionally motivated behaviour. In the present work we assessed the effects of manipulation in the mesolimbic dopaminergic system known as “brain reward system” on peripheral blood natural killer (NK) cell percentage (flow cytometry), NK cell cytotoxicity (NKCC) (^{51}Cr -release assay) and plasma level of corticosterone (COR) (RIA method) in freely moving rats.

Peripheral blood was collected from rats exposed to a chronic 14 day VTA electrical stimulation to obtain feeding or exploration response and with a lesion electrode aimed at the Acb: 3 weeks after electrode implantation, after 2 weeks of chronic VTA stimulation, on the 2nd day after the Acb lesion and on the 14th VTA stimulation day following the Acb lesion.

As compared to the respective sham animals, chronic VTA stimulation, unilateral lesion of the Acb and a 14 day VTA stimulation following the Acb lesion caused significant increase in blood NK cell percentage ($15.09 \pm 3.72\%$ v. $40.59 \pm 16.69\%$; $12.32 \pm 3.35\%$ v. $23.86 \pm 3.36\%$; $10.35 \pm 4.1\%$ v. $24.26 \pm 6.97\%$, $p < 0.01$). In contrast, there was no significant effect on blood NKCC. Blood NKCC level following chronic VTA stimulation ($30.45 \pm 10.85\%$ v. $34.11 \pm 11.59\%$), after Acb lesion ($34.56 \pm 9.32\%$ v. $34.57 \pm 7.52\%$), and on the 14th VTA stimulation day following the Acb lesion ($24.33 \pm 8.52\%$ v. $34.84 \pm 8.74\%$) was not significantly different from the respective sham animals. As compared to the sham controls, there were no significant differences in plasma COR level (116.03 ± 27.25 ng/ml v. 144.10 ± 34.82 ng/ml; 141.53 ± 34.36 ng/ml v. 121.79 ± 20.69 ng/ml) except for the 2nd post-lesion day (394.31 ± 149.47 ng/ml v. 127.36 ± 31.25 ng/ml, $p < 0.01$).

The results obtained indicate that manipulation in “the reward-related brain areas” influences the distribution of peripheral blood NK cells that play an important role in an innate antitumor response.

Ocena rytmu dobowego melatoniny u chorych z rakiem jelita grubego

Michał Posmykiewicz¹, Krystyna Żylińska¹, Paweł Burski², Katarzyna Winczyk¹

¹Zakład Neuroendokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Oddział Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej, Szpital Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji, Łódź

Wstęp: Melatonina (MLT) jest hormonem syntezowanym głównie w szyszynce. Badania ostatnich lat wykazały, że wytwarzana jest także przez komórki enterochromafinowe przewodu pokarmowego. Melatonina, modulując motorykę przewodu pokarmowego i działając antyoksydacyjnie wpływa cytoprotekcyjnie na układ trawienny. Wiadomo, że dobowa produkcja hormonu zależy ściśle od ekspozycji na światło i ulega zmianie wraz z wiekiem, a istotny wpływ na syntezę MLT mają również stany chorobowe między innymi nowotwory. Zaburzony rytm dobowy MLT wpływa na ogólny stan chorego i samopoczucie, a także na przebieg choroby, jak również efektywność stosowanego leczenia. U ludzi zmniejszone wydzielanie hormonu wykazano w nowotworach, takich jak: rak gruczołu krokowego, rak trzonu macicy i rak piersi. Doniesienia dotyczące stężenia MLT we krwi u osób z nowotworami przewodu pokarmowego są dość nieliczne i dlatego celem naszej pracy była ocena rytmu dobowego MLT u chorych z rakiem jelita grubego.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 14 pacjentów (9 mężczyzn i 5 kobiet) w wieku od 61 do 84 lat operowanych z powodu raka jelita grubego. Przed zabiegiem chirurgicznym u wszystkich chorych oceniono dobowe wydzielanie MLT, dokonując pomiaru stężenia hormonu we krwi o godzinie 8:00, 12:00, 16:00, 20:00, 24:00, 2:00, 4:00, 6:00, 8:00. U 9 pacjentów w tydzień po operacji ponownie zbadano stężenia MLT. Grupę kontrolną stanowiło 6 osób (2 mężczyzn i 4 kobiety) w wieku od 53 do 83 lat bez wywiadu onkologicznego i chorób przewodu pokarmowego.

Wyniki: Na podstawie badania histopatologicznego nowotworów u wszystkich operowanych osób rozpoznano raka gruczołowego jelita grubego. U 6 chorych stwierdzono zaawansowanie choroby

w stadium 0–I, a u 8 osób w stadium II–IV. Przerzuty do węzłów chłonnych i przerzuty odległe wykryto u 6 chorych. Rytm dobowy MLT był prawidłowy u 8 osób. U 6 chorych z rakiem jelita grubego obserwowano zaburzone wydzielania hormonu. Po operacji u 3 pacjentów (stadium II–IV) stwierdzono poprawę rytmu dobowego polegającą na wzroście wydzielania hormonu w godzinach nocnych. Średnie stężenia MLT u osób operowanych z powodu raka były niższe niż w grupie kontrolnej, a najniższe wartości hormonu stwierdzono u chorych w początkowym stadium choroby (0–I). Ponadto w okresie pooperacyjnym u chorych w stadium 0–I obserwowano dalsze obniżenie maksymalnych stężeń MLT w przeciwieństwie do osób z nowotworami w stadium II–IV, u których stężenia hormonu przed i po zabiegu nie wykazywały istotnych różnic lub po operacji uległy zwiększeniu.

Wnioski: Na podstawie uzyskanych wyników możemy stwierdzić, że u chorych z rakiem jelita grubego stężenia MLT we krwi są niższe niż u osób bez choroby nowotworowej, jednakże rytm dobowy hormonu tylko u części chorych jest zaburzony i w niektórych przypadkach ulega poprawie po operacji.

Badania finansowane z funduszy Uniwersytetu Medycznego w Łodzi No 503-5084-1.

Estimation of melatonin circadian rhythm in patients with colon cancer

Michał Posmykiewicz¹, Krystyna Żylińska¹,
Paweł Burski², Katarzyna Winczyk¹

¹Department of Neuroendocrinology, Medical University, Łódź

²Department of Oncological and Reconstructive Surgery, Ministry of Home Affairs and Administration Hospital, Łódź

Introduction: Melatonin (MLT) is a hormone produced mainly by the pineal gland. Last study has shown that MLT is also secreted by the enterochromatofine cells of the digestive tract. Melatonin, modulating the motor activity of the digestive tract and acting as antioxidant, influences cytoprotectively the gastrointestinal system. It was known that a diurnal production of the hormone depends on the exposition to light and it decreases with age, however, also some diseases (ex. cancer) influence its synthesis. The disorders of MLT circadian rhythm MLT influence patient's general condition and mood, as well as the course of the disease and treatment effectiveness. In human, the diminished secretion of pineal hormone in neoplasm such as: prostate cancer, breast cancer, endometrial cancer has been found. However, the reports related to blood MLT levels in people with neoplasm of the gastrointestinal system are scarce, therefore, the aim of our work has been the assessment of MLT circadian rhythm in patients with colon cancer.

Material and methods: The investigated group consisted of 14 subjects (9 male and 5 female) at the age from 61 to 84 qualified to surgical treatment for colon cancer. Before the operation in all the patients the diurnal secretion of MLT was examined by measuring the hormone concentration in the blood at the following times: 8:00, 12:00, 16:00, 20:00, 24:00, 2:00, 4:00, 6:00, 8:00. In 9 subjects the assessment of MLT circadian rhythm was performed again one week after the surgery. The control group consisted of 6 volunteers (2 male and 4 female) at the age of 53 to 83 with no history of cancer or digestive system diseases.

Results: In all the patients colon adenocarcinomas have been diagnosed on the basis of histopathological examination of tumours. Six patients with tumour were in the early clinical stages 0–I and 8 patients were in more advanced disease (II–IV) stages. The metastases were found in 6 patients. The MLT circadian rhythm was normal in 8 patients with colon cancer and in 6 patients the secretion of MLT was abnormal. After the surgery in 3 patients (II–IV

stage) the improvement of MLT circadian rhythm was noted in the form of the secretion increase at night-time. The mean concentrations of MLT in the patients with colon cancer were lower than in the control group. The lowest levels of the hormone were found in the 0–I disease stages. Moreover, in the postoperative period in the patients with cancer of stage 0–I the further decrease of the highest hormone concentrations were noted. On the contrary, in the group of the patients in stage II–IV, the levels of MLT hormone before and after the surgery were not changed significantly or they even increased after the tumour excision.

Conclusions: It can be stated on the basis of our results, that the blood concentrations of the melatonin in patients with colon cancer are lower than in people without neoplasm. However, the melatonin circadian rhythm is disordered only in some of the patients and after surgery in part of the cases the secretion of the hormone is improved.

This study was supported by grant No.503-5084-1 from Medical University of Łódź.

Napięcie przedmiesiączkowe. Paradygmat psychologiczny

Leszek Putyński

Zakład Psychopatologii i Psychologii Klinicznej, Instytut Psychologii,
Uniwersytet Łódzki, Łódź

Cel badań: Celem podjętych badań była ocena zależności między poziomem i natężeniem objawów napięcia przedmiesiączkowego a zmiennymi psychologicznymi, takimi jak struktura osobowości, nastrój, mechanizmy obronne, strategie radzenia sobie z bólem i strategie radzenia sobie ze stresem.

Material i metody: Badaniem objęto grupę 126 kobiet w wieku 22–35 lat, stosując własnej konstrukcji kwestionariusz do badania objawów napięcia przedmiesiączkowego oraz baterię adekwatnych testów psychologicznych.

Wyniki i wnioski: Badanie wykazało, że określone cechy osobowości, strategie radzenia sobie z bólem i strategie radzenia sobie ze stresem są istotnymi psychologicznymi czynnikami modyfikującymi intensywność odczuwanych objawów napięcia przedmiesiączkowego. Nie stwierdzono zależności między nastrojem a symptomami napięcia przedmiesiączkowego. Przedyskutowano teoretyczne i praktyczne implikacje uzyskanych rezultatów i wytyczono kierunki dalszych badań.

Premenstrual syndrom. Psychological paradigm

Leszek Putyński

Department of Psychopathology and Clinical Psychology, Institute of Psychology,
University, Łódź

Introduction: The aim of this study is to correlate the level and intensity of premenstrual syndrome (PMS) symptoms with psychological variables such as personality structure, mood, defence mechanisms, pain coping strategies and stress coping strategies.

Material and methods: 126 women aged 22–35 years were tested using a self-developed questionnaire including questions concerning the occurrence of the PMS symptoms and the battery of psychological tests to measure psychological variables.

Results and conclusions: The results suggest that personality features, pain coping strategies and stress coping strategies are the most important psychological factors influencing the intensity of the PMS symptomatology. No correlations are found between mood and PMS symptoms. The theoretical and clinical implications of the findings are discussed and the directions for future research are offered.

Udział czynników genetycznych i epigenetycznych w długowieczności

Monika Puzianowska-Kuźnicka^{1,2}

¹Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa

²Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Starzenie jest procesem nieuniknionym. Obecnie uważa się, że starzenie nie jest zaprogramowane genetycznie, jest natomiast skutkiem nagromadzenia przypadkowych uszkodzeń materiału genetycznego, któremu towarzyszy uszkodzenie innych typów cząsteczek — kluczowych białek i lipidów. Tempo starzenia zależy od wielu czynników. Są to czynniki pozagenetyczne (w tym środowiskowe — 75%) i genetyczne (25%). Geny o potwierdzonym wpływie na regulację tempa procesu starzenia to na przykład geny kodujące następujące białka: będące składnikami szlaku insuliny i insulinopodobnego czynnika wzrostu 1, regulujące tempo metabolizmu i syntezy produktów ubocznych — reaktywnych form tlenu (ROS, obecnie uważane za najistotniejszy czynnik sprawczy starzenia), dysmutazy nadtlenkowe (SOD1-3), które dezaktywują ROS oraz sirtuiny — enzymy deacetylujące różne białka. Najnowsze badania pozwoliły na stworzenie modelu zawierającego 150 polimorfizmów jednonukleotydowych (SNP) zlokalizowanych w różnych genach i poza nimi. Model ten pozwala z 77-procentową dokładnością przewidzieć, czy dana osoba będzie ekstremalnie długowieczna.

Środowisko ma wpływ na tempo starzenia między innymi poprzez modyfikowanie epigenomu. Modyfikacje epigenetyczne (metylacja DNA, różne modyfikacje białek chromatyny, działanie mikroRNA) zmieniają aktywność genów bez zmiany ich sekwencji, na przykład metylacja DNA i deacetylacja białek chromatyny zwykle powodują zahamowanie transkrypcji. Zaobserwowano, że z wiekiem w większości tkanek globalna metylacja DNA zmniejsza się, zaś tak zwane wyspy CpG w promotorach różnych genów ulegają hipermetylacji. Ponadto, w sposób zależny od wieku zmieniają się modyfikacje białek histonowych. Powoduje to wzrost tak zwanego „szumu transkrypcyjnego” i nieadekwatnie niską ekspresję kluczowych genów. Zmiany te określono mianem „dryftu epigenetycznego”. Na modyfikacje epigenetyczne bardzo znaczący wpływ mają składniki pokarmowe diety. W promocji długowieczności niezwykle ważną rolę odgrywa również ograniczenie kaloryczności pożywienia (dieta pełnowartościowa z ograniczeniem kalorii, CR). Ludzie stosujący CR są również zdrowsi niż osoby w tym samym wieku, pozostające na typowej diecie.

Reasumując, odpowiednie odżywianie oraz styl życia, poprzez modyfikację epigenomu, mają istotne znaczenie w promocji długowieczności.

Genetic and epigenetic factors in longevity

Monika Puzianowska-Kuźnicka^{1,2}

¹Medical Research Center, PAS, Warsaw

²Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw

Aging is inevitable. Currently, it is thought that aging is not genetically programmed; instead, it is considered to be a result of accumulation of stochastic damage to the genomic DNA, accompanied by the damage to other molecules — key proteins and lipids. The rate of aging depends on many factors, both non-genetic (including environmental factors, 75%) and genetic (25%). Genes whose impact on the rate of aging have been experimentally proved are genes that encode: proteins involved in insulin and insulin-like transcription factor 1 pathways, proteins that regulate the rate of metabolism and synthesis of its by-products — reactive oxygen spe-

cies (ROS, currently considered the most important aging-promoting molecules), superoxide dismutases (SOD1-3) that de-activate ROS, and genes encoding sirtuins — enzymes that deacetylate various proteins. The newest research has allowed to build a genetic model that includes 150 single nucleotide polymorphisms (SNPs) and it could predict extreme longevity with 77% accuracy.

Environment modifies the rate of aging by the modification of the epigenome, among others. Epigenetic modifications (DNA methylation, various modifications of chromatin histone proteins, microRNA) influence transcriptional activity of genes while leaving their sequences intact; for example, methylation of the DNA and deacetylation of chromatin proteins usually result in the repression of transcription. It was observed that aging is accompanied by the decrease of global methylation of the genomic DNA, and by the increase of methylation of so-called CpG islands located in promoters of various genes. In addition, the pattern of modifications of histone proteins also changes in an age-dependent manner. Such a change results in the increase of “transcriptional noise” and in inadequately low expression of key genes; altogether it is called an “epigenetic drift”. The epigenetic modifications are heavily influenced by many components of food. In addition, longevity is promoted by long-term calorie restriction (well balanced calorie restriction diet, CR). Persons who are calorie-restricted are also healthier compared to persons of the same age, but without CR.

To sum up, proper nutrition and lifestyle, by modification of the epigenome, plays an important role in the promotion of longevity.

Ekspresja speksyny w tkankach prawidłowych oraz dowody sugerujące udział tego białka w hamowaniu proliferacji komórek kory nadnercza szczura

Marcin Ruciński¹, Andrea Porzionato²,

Agnieszka Ziółkowska¹, Marta Szyszka¹, Veronica Macchi²,

Rafaele De Caro², Ludwik K. Malendowicz²

¹Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny, Poznań

²Department of Human Anatomy and Physiology, Section of Anatomy, University of Padua, Italy

Wstęp: Speksyna (SPX) jest niedawno odkrytym peptydem, zidentyfikowanym przy udziale technik bioinformatycznych, składającym się z 14 aminokwasów. Ekspresję SPX na poziomie mRNA wykazano w mózgowiu, przewodzie pokarmowym, układzie dokrewnym i moczowym. Sugeruje się, iż peptyd ten może brać udział w regulacji ww. układów, jak również w odpowiedzi na stres.

Celem niniejszych badań było przesłedzenie ekspresji SPX w narządach wielu układów na poziomie mRNA i białka, szczegółowe przesłedzenie tej ekspresji w elementach osi HPA oraz zbadanie wpływu SPX na podstawową i wyspecjalizowaną czynność komórek kory nadnercza.

Materiał i metody: Ekspresję SPX na poziomie mRNA i białka oceniano odpowiednio za pomocą RT-PCR oraz techniki immunohistochemicznej. W celu zbadania wpływu SPX na czynność komórek kory nadnercza posłużono się szeregiem technik *in vitro* (hodowla pierwotna oraz świeżo izolowane komórki kory nadnercza szczura) i *in vivo* (stres eterowy, ostre podanie ACTH, przewlekłe podawanie ACTH i deksametazonu, regeneracja kory nadnercza wywołana enukleacją gruczołu).

Wyniki: Zarówno RT-PCR, jak i reakcje immunohistochemiczne wykazały ekspresję SPX w niemal wszystkich badanych narządach. Przewlekłe podawanie ACTH *in vivo* obniżyło, a deksametazonu zwiększyło ekspresję SPX w nadnerczach na poziomie mRNA. W regenerujących nadnerczach u zwierząt poddanych enukleacji

gruczołu zaobserwowano stopniowy wzrost ekspresji SPX mRNA do 8. dnia po zabiegu, a następnie spadek do poziomu obserwowanego w grupie kontrolnej. SPX w stężeniu 10^{-6} M stymuluje podstawowe wydzielanie aldosteronu przez świeżo izolowane komórki warstwy kłębkowatej kory nadnercza. Przewlekła ekspozycja na SPX komórek kory nadnercza w hodowli pierwotnej hamuje wydzielanie kortykosteronu oraz zwiększa stopień inkorporacji BrdU. **Wnioski:** Ekspresja SPX w tak wielu narządach sugeruje możliwą rolę tego peptydu w regulacji ich czynności. Doświadczenia z użyciem hodowli pierwotnej i modelu regeneracji gruczołu sugerują natomiast hamujący efekt SPX na proliferację badanych komórek.

Expression of the spexin gene in normal rat tissues and evidences suggesting that spexin inhibits adrenocortical cell proliferation

Marcin Ruciński¹, Andrea Porzionato²,
Agnieszka Ziółkowska¹, Marta Szyszka¹, Veronica Macchi²,
Rafaele De Caro², Ludwik K. Malendowicz²

¹Department of Histology and Embryology, Poznan University of Medical Sciences, Poland

²Department of Human Anatomy and Physiology, Section of Anatomy, University of Padua, Italy

Introduction: Spexin (SPX) is a recently identified, highly conserved peptide which is processed and secreted. It is composed of 14 aa residues. On mRNA level SPX gene is widely expressed in the brain, digestive tract, endocrine and urinary system and it has been suggested that SPX peptide may be involved in the regulation of those systems as well as in stress response.

In the present work we analysed the SPX gene and its protein product in a wide range of rat organs. Moreover, we examined whether SPX is involved in the regulation of corticosteroid secretion and in the growth of adrenocortical cells.

Material and methods: SPX expression on mRNA and protein level in selected organs were examined by RT-PCR and immunohistochemistry. To determine SPX expression in the adrenal gland precisely as well as to examine its function in this gland, the experiment with the use of cortical and medullary cells originated from different *in vitro* (adrenocortical cell isolation and primary culture) and *in vivo* (acute ACTH administration, ether stress, prolonged ACTH and dexamethasone (DX) administration and adrenocortical regeneration) models was performed.

Results: Both RT-PCR and immunohistochemistry identified SPX mRNA in almost all the examined tissues. The prolonged ACTH administration lowered and DX increased adrenal SPX mRNA levels *in vivo*. Adrenal enucleation produced a significant linear increase in SPX mRNA levels, with the highest value occurring on the 8th day after the surgery. At 10^{-6} M SPX concentration peptide stimulated basal aldosterone secretion by freshly isolated zona glomerulosa cells. The prolonged exposure of cultured rat adrenocortical cells to SPX (10^{-6} M) resulted in an increase in corticosterone secretion and a decrease in BrdU incorporation.

Conclusions: A widespread expression of SPX suggests its role in many different physiological functions. The obtained results suggest the direct involvement of SPX in the regulation of adrenocortical cell proliferation; however, the mechanism of the action remains unknown

Występowanie i rola polipeptydów wywodzących się z preproghreliny oraz ich receptorów w nadnerczach szczura

Marcin Ruciński, Agnieszka Ziółkowska,
Marianna Tyczewska, Ludwik K. Malendowicz

Katedra Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Wstęp: Prepro-ghrelina jest białkiem prekursorowym co najmniej dwóch biologicznie aktywnych peptydów — ghreliny (GHREL) oraz obestatyny (OBS). GHREL pełni szereg funkcji, jednak głównie opisywana jest jako peptyd stymulujący wydzielanie GH oraz posiadający silne właściwości oreksygenne. OBS opisywana jest jako peptyd anoreksygeny, czyli o właściwościach przeciwnych do GHREL. Dla obu peptydów zidentyfikowano receptory komórkowe — GHS-R1a i GHS-R1b jako receptory GHREL, podczas gdy GPR39v1 oraz GPR39v2 są najprawdopodobniej receptorami OBS. Wykazano również, że w procesie biosyntezy GHREL ważną funkcję pełni acyltransferaza GOAT, konwertująca GREL do jej formy aktywnej. Istnieją dane wykazujące, że GHREL jest także zaangażowana w regulację aktywności osi HPA.

Analiza ekspresji ppGHREL, GOAT, oraz receptorów GHREL i OBS w nadnerczu szczura.

Celem pracy była analiza wpływu badanych peptydów na aktywność wydzielniczą oraz stopień proliferacji komórek kory nadnercza szczura. Prześledzenie ścieżek sygnałnych komórek kory nadnercza modyfikowanych przez GHREL i OBS.

Materiał i metody: Zastosowano metody RT-PCR, western blot, macierze PCR, pierwotne hodowle komórek kory nadnercza szczura, oznaczanie stopnia proliferacji komórek oraz poziomu kortykosteronu.

Wyniki i wnioski: Ekspresję ww. genów wykazano we wszystkich komponentach nadnercza szczura. Po 24 h inkubacji, tylko najwyższa ze stosowanych dawek GHREL (10^{-6} M) stymulowała wydzielanie kortykosteronu, przy braku wpływu na proliferację (efekt różny od ACTH). Stymulującemu wpływowi GHREL na sekrecję kortykosteronu towarzyszył wzrost poziomu CYP11A mRNA (analogicznie jak ACTH). Mimo że w nadnerczach następuje ekspresja GPR39v1 oraz GPR39v2, OBS nie zmieniała ani ekspresji badanych genów, ani też stopnia proliferacji i czynności wydzielniczej badanych komórek. Jak wykazały badania macierzy, stymulujący wpływ GREL na wydzielanie kortykosteronu zachodzi za pośrednictwem innych ścieżek sygnałnych, niż w przypadku aktywacji ACTH.

Expression and role of preproghrelins derived peptides and their receptors in the rat adrenal gland

Marcin Ruciński, Agnieszka Ziółkowska,
Marianna Tyczewska, Ludwik K. Malendowicz

Department of Histology and Embryology, Poznan University of Medical Sciences

Introduction: Preproghrelins is a precursor of at least two biologically active peptides — ghrelins (GHREL) and obestatin (OBS). GHREL has multiple functions, but its principal effects are GH-releasing and orexigenic functions. It is believed that OBS exerts functions opposite to that of GHREL. Two GHREL receptors have been identified — GHS-R1a and GHS-R1b; while GPR39v1 and GPR39v2 have been suggested as a putative receptors of OBS. Recently, the role of GOAT acyltransferase has been recognized as an enzyme converting GHREL to its active form. Some data suggest the involvement of GHREL in regulating HPA axis.

To analyse the expression of ppGHREL, GOAT, and GHREL and OBS receptor genes in the rat adrenal gland. To analyse effects of GHREL and OBS on proliferative and secretory activity of adrenocortical cells. To identify GHREL and OBS modulated intracellular signaling pathways in adrenocortical cells.

Material and methods: The following methods were applied: RT-PCR, Western blotting, PCR array profiles, primary culture of rat adrenocortical cells, estimation of proliferative and secretory activity of cultured rat adrenocortical cells.

Results and conclusions: In all compartments of the rat adrenal gland the expression of the above mentioned genes was found. After 24h incubation, only the highest concentration of GHREL (10^{-6} M) stimulated corticosterone output by the cultured cells, however, their proliferative activity remained unchanged (effect opposite to that evoked by ACTH). Both, GHREL and ACTH, increased CYP11A mRNA levels in the studied cells. Despite the expression of GPR39v1 and GPR39v2 genes in cultured cells, OBS changed neither the expression levels of studied genes nor the proliferative and secretory activity of the cultured cells. As PCR array profiles revealed, the stimulating effect of GHREL on corticosterone secretion by the cultured cells is mediated by pathways different from that of ACTH.

Wzajemne oddziaływania między szyszynką a układem odpornościowym: dobowe i sezonowe zależności w funkcjonowaniu osi szyszynki — układ odpornościowy

Krystyna Skwarło-Sońta, Magdalena Markowska, Paweł Majewski

Zakład Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Większość procesów biochemicznych, fizjologicznych i behawioralnych kręgowców wykazuje zmienność dobową i sezonową, generowaną przez endogenne zegary biologiczne i synchronizowaną z warunkami świetlnymi otoczenia. Czynnikiem pełniącym funkcję przekaźnika tej środowiskowej informacji świetlnej jest melatonina, metoksyindolowy hormon produkowany w sposób rytmiczny przez szyszynkę z niskimi wartościami w dzień i wyraźnym nocnym wzrostem syntezy i uwalniania do krwi. Hamowanie szyszynkowej syntezy melatoniny przez światło u ssaków dokonuje się na drodze nerwowej, rozpoczynającej się w siatkówce oka, natomiast pinealocyty ptaków mają ponadto zdolność bezpośredniej fotorecepcji. Wśród wielu fizjologicznych funkcji melatoniny jej działanie przeciwzapalne i immunomodulujące uzyskało powszechne uznanie, a ostatnio gromadzone są dowody na istnienie także drogi odwrotnej, przekazującej informacje od pobudzonego układu odpornościowego do szyszynki. Okazuje się bowiem, że rozwijająca się reakcja odpornościowa/zapalenie moduluje syntezę melatoniny zarówno u ssaków, jak i kurcząt; u tych ostatnich oddziaływanie te wykazują również zależności sezonowe. Wydzielane w toku zapalenia cytokiny prozapalne blokują syntezę melatoniny w szyszynce, zapobiegając nocnemu wzrostowi jej poziomu w krwi, co z kolei ułatwia przemieszczanie się leukocytów do miejsca zapalenia. Jednakże towarzyszące temu wydzielanie przeciwzapalnych glikokortykoidów pozwala przywrócić nocny wzrost syntezy melatoniny i ujawnić jej aktywność przeciwzapalną.

Oznacza to, że choroba wyłącza chronobiologiczną organizację organizmu spod kontroli środowiskowej, która powraca po zakończeniu stanu zapalnego jako zależność rytmu dobowego melatoniny od warunków świetlnych otoczenia.

Finansowane z grantów MNiSW NN303317733 i NN303503438.

Pineal — immune axis: circadian and seasonal aspects of the reciprocal interrelationships

Krystyna Skwarło-Sońta, Magdalena Markowska, Paweł Majewski

Department of Animal Physiology, Faculty of Biology, University of Warsaw

Majority of biochemical, physiological and behavioral processes exhibit circadian and seasonal rhythmicity generated by the endogenous biological clock and synchronized with the environment. A methoxy-indole hormone melatonin, synthesized and released by the pineal gland in darkness, is considered as a neurochemical transducer of the information on external lighting conditions. Light suppresses pineal melatonin synthesis in mammals via the neuronal pathway starting in the retina while the avian pinealocytes are also directly photosensitive. Among numerous melatonin functions its immunomodulatory and anti-inflammatory activity is generally well accepted, and moreover, circadian/seasonal component is attributed to the immune processes development and intensity. It has been demonstrated in several experimental approaches that soluble mediators of the developing immune response importantly influence pineal biosynthetic activity. Pro-inflammatory cytokines inhibit melatonin synthesis in the rat pineal gland and block its nocturnal surge, which allows transmigration of the immune cells to mount the inflammatory response. Similar effects were observed in chickens, in which additionally, season-related differences in the inflammation development were demonstrated. However, the immune response/inflammation is modulated also by the endogenous anti-inflammatory factors, among them glucocorticoid hormones, which stimulate melatonin synthesis and allow the pineal gland to participate in the resolution of inflammation.

Therefore, it has to be pointed out that inflammation (infection, injury) disconnects an organism from the control by environmental lighting conditions via circadian rhythmical melatonin synthesis and release while the recovery restores the adjustment to the light/dark cycle.

Supported by the Polish MSHE grants NN303317733 and NN303503438.

Antagoniści hormonu uwalniającego hormon wzrostu (GHRH) — perspektywy farmakologicznego leczenia nowotworów hormono-zależnych

Henryk Stępień¹, Agnieszka Siejka², Hanna Ławnicka¹, Ewelina Motylewska¹, Gabriela Meleń-Mucha¹, Tomasz Stępień³, Jan Komorowski²

¹Zakład Immunoendokrynologii, I Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Klinika Endokrynologii, I Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

³Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, I Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Hormon uwalniający hormon wzrostu (GHRH, somatoliberyna) nie tylko pobudza wydzielanie hormonu wzrostu (GH) z przysadki, ale również znacząco wpływa na proliferację i różnicowanie niektórych tkanek prawidłowych i nowotworowych. Ekspresję GHRH i jego mRNA stwierdzono w komórkach wielu nowotworów u ludzi, w tym rakowiaku, raku trzustki, drobnokomórkowym raku płuca i w guzach nadnerczy. Podobnie, w tkankach wielu nowotworów wykazano obecność przysadkowego typu receptora dla GHRH (GHRH-R) i jego czterech wariantów, tak zwanych *splice variants* (SV1–SV4). Przyjmuje się, że przeciwnowotworowe działanie antagonistów GHRH zachodzi poprzez zmniejszone wytwarzanie

i uwalnianie przez komórki guza: GHRH, GH, IGF-I/IGF-II oraz angiogennych czynników wzrostu, takich jak naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) i czynnik wzrostu fibroblastów (FGF). Działanie antyproliferacyjne i proapoptotyczne antagonistów GHRH wydaje się być jednakże również wynikiem bezpośredniego wpływu na komórki nowotworowe (efekty autoparakryne) przez blokowanie receptorów GHRH (zarówno formy przysadkowej, jak i SV1–SV4) znajdujących się na powierzchni komórek nowotworowych. W oparciu o postępy w rozumieniu roli GHRH w rozwoju i progresji nowotworów, zsyntezowano nowe grupy antagonistów GHRH. W niniejszej pracy przedstawiono najnowsze informacje na temat roli antagonistów GHRH w diagnostyce i leczeniu nowotworów układu dokrewnego oraz onkologii.

Growth hormone-releasing hormone (GHRH) antagonists: perspectives for pharmacological therapy of endocrine-related cancers

Henryk Stępień¹, Agnieszka Siejka², Hanna Ławnicka¹, Ewelina Motylewska¹, Gabriela Meleń-Mucha¹, Tomasz Stępień³, Jan Komorowski²

¹Department of Immunoenocrinology, I Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

²Department of Clinical Endocrinology, I Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

³Department of General and Endocrinological Surgery, I Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

Growth hormone-releasing hormone (GHRH, somatoliberin) not only stimulates the secretion of growth hormone (GH) from the pituitary but also significantly influences proliferation and differentiation of certain normal and tumoral tissues. Immunoreactive growth hormone-releasing hormone and its mRNA are expressed in several human tumors, including carcinoids, pancreatic cancers, small-cell lung carcinomas, and adrenal tumors. The presence of pituitary type receptor for GHRH (GHRH-R) and four splice variants of the GHRH-R (SV1–SV4) was demonstrated in several human cancers. The suppressive effects of GHRH antagonists on human malignancies are mediated by a reduced production of GHRH, GH, IGF-I/IGF-II and angiogenic growth factors, such as vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF). In addition, antiproliferative and proapoptotic effects of GHRH antagonists may be the result of the direct effect on tumoral cells (auto/paracrine action) through the blockade of GHRH receptors (both pituitary type and SV1–SV4) located on the tumoral cell surface. The new GHRH antagonists are being developed on the basis of the recent advances in the understanding of the role of GHRH in tumor growth and progression. In this review we demonstrate updated information on the antineoplastic role of GHRH antagonists with emphasis on potential diagnostic and therapeutic applications in clinical endocrinology and oncology.

Wpływ IL-1 β na poziom GnRH i amin biogennych w brzuszno-przysadkowym podwzgórz — wyniosłości przysadkowej (MBH-ME) u anestralnych owiec

Dorota Tomaszewska-Zaremba, Andrzej Herman, Tomasz Misztal

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, PAN, Jabłonna k/Warszawy

Wstęp: Stres immunologiczny hamuje funkcje rozrodcze u ludzi i zwierząt. Sugeruje się, że to hamujące działanie zachodzi na pozio-

mie podwzgórz przez zmianę w sekrecji gonadoliberyny (GnRH). Istotną rolę w komunikacji pomiędzy układem immunologicznym i rozrodczym odgrywa IL-1 β . Cytokina ta może wpływać bezpośrednio na neurony GnRH lub pośrednio za pośrednictwem innych neurotransmiterów, takich jak aminy katecholowe.

Celem pracy było zbadanie wpływu centralnego podania IL-1 β na uwalnianie GnRH i amin biogennych w MBH-ME u anestralnych owiec.

Materiał i metody: Owcom (n = 8) wykonano perfuzję płynu Ringera do MBH-ME i 2 godziny od rozpoczęcia perfuzji podano IL-1 β w dawce 50 mg icv. lub płyn Ringera icv. Perfuzję wykonywano 5 godzin z szybkością przepływu 7 ml/min. W perfuzatach oznaczono stężenia GnRH (przy użyciu kitu ELISA) i amin biogennych i ich metabolitów metodą HPLC z EC.

Wyniki: Centralne podanie IL-1 β spowodowało istotny spadek poziomu GnRH w perfuzatach z MBH-ME w stosunku do wyjściowego poziomu tego hormonu oraz w stosunku do grupy kontrolnej. W perfuzatach nie wykryto dopaminy, natomiast poziom noradrenaliny nie wykazywał istotnych statystycznie zmian pod wpływem badawczego czynnika, chociaż zaobserwowano tendencję wzrostową pod wpływem podania cytokiny. Odnotowano istotny statystycznie spadek stężenia takich metabolitów amin, jak MHPG, HVA i 5-HIAA. **Wnioski:** IL-1 β bierze udział w komunikacji między układem immunologicznym a rozrodczym. Jej oddziaływanie w rejonie podwzgórz powoduje zmiany w sekrecji neuronów GnRH. Wpływ tej cytokiny na sekrecję GnRH może przebiegać bezpośrednio poprzez receptory IL-1 na neuronach GnRH, jak również pośrednio poprzez oddziaływanie na układ katecholaminergiczny.

The influence of IL-1 β on the GnRH and biogenic amines concentration in the mediobasal hypothalamus — median eminence (MBH-ME) in anestrus ewes

Dorota Tomaszewska-Zaremba, Andrzej Herman, Tomasz Misztal

The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, PAN, Jabłonna k/Warszawy

Introduction: Immune stress causes inhibition of reproduction in animals and humans. It is suggested that this inhibitory action occurs at the level of the hypothalamus through the changing GnRH secretion. IL-1 β could be one of the key molecules involved in the information transfer between the immune and reproductive systems. IL-1 β can affect directly GnRH neurons activity or indirectly influence other neurotransmitters such as biogenic amines.

Aim: The aim of the study was to determine the influence of icv. IL-1 β injection on the GnRH release and concentration of biogenic amines in the perfusates from MBH-ME in anestrus ewes.

Material and methods: In the presented study experiments were conducted on adult female anestrus ewes (n = 8). Interleukin -1 β was administered icv. in dose 50mg. The perfusion of MBH-ME was performed during 5 hours. In the perfusates we determined GnRH concentration (ELISA kit) and biogenic amines and their metabolites concentration (HPLC with EC).

Results: It was demonstrated that icv. injection of IL-1 β caused a significant decrease in the GnRH release in anestrus ewes. The noradrenaline level had a tendency to increase but this increase was not statistically significant. We observed statistically significant decrease in the concentration of aminergic metabolites: MHPG, HVA and 5-HIAA.

Conclusions: This study suggests that IL-1 β is involved in direct communication between immune and reproductive systems. IL-1 β acts in the region of the hypothalamus and causes changes in the

secretions of the GnRH neurons. This cytokine can affect directly the GnRH neurons activity through the IL-1 receptors on the GnRH neurons or indirectly through the influence on catecholaminergic system.

Ekspresja surwiwiny i markera proliferacji PCNA w guzach inwazyjnych i nieinwazyjnych przysadki

Joanna Waligórska-Stachura, Anna Jankowska,
Włodzimierz Liebert, Jerzy Sowiński, Ryszard Waśko

Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, SPSK nr 2, Poznań

Wstęp: Surwiwina jest białkiem należącym do rodziny białek hamujących apoptozę. Poziom ekspresji surwiwiny wykazuje dodatnią korelację z szybką progresją guza oraz z krótkim okresem przeżycia, w związku z powyższym została ona zaproponowana jako negatywny czynnik prognostyczny dla wielu nowotworów. Celem niniejszej pracy była ocena ekspresji surwiwiny w różnego typu guzach przysadki i porównanie ekspresji w komórkach guzów inwazyjnych i nieinwazyjnych oraz w komórkach guzów z komórkami przysadki prawidłowej. Ponadto sprawdzenie czy surwiwina jest produkowana przez komórki proliferujące guza przy użyciu markera proliferacji PCNA.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono na materiale pooperacyjnym gruczolaków przysadki pobranych od 43 chorych, wśród których było: 22 guzy somatotropowe, 16 guzów niewydzielających, 4 guzy typu *prolactinoma* i 1 guz adrenokortykotropowy. Kontrolę stanowiły fragmenty przysadek prawidłowych pochodzące z badań autopsyjnych. Drugą grupę kontrolną — pozytywną, stanowiło RNA wyizolowane z komórek nowotworowych raka szyjki macicy linii HeLa. Ocena ekspresji surwiwiny przeprowadzono metodami RT-PCR, qRT-PCR oraz immunohistochemiczną. W celu oceny proliferacji komórek guza przysadki testowano obecność PCNA (jądrowego antygenu proliferacyjnego) zarówno na poziomie mRNA, jak i białka.

Wyniki: Przeprowadzone badania wykazały obecność surwiwiny w 39 spośród 43 badanych guzów przysadki. Zarówno mRNA, jak i białkowy produkt genu kodującego surwiwinę odnaleziono także w przysadce prawidłowej. Poziom ekspresji surwiwiny rejestrowany za pomocą qRT-PCR różnił się znamiennej pomiędzy komórkami guzów przysadki a komórkami przysadki prawidłowej. W przypadku prawidłowej przysadki, relatywna ilość mRNA surwiwiny była 6-krotnie niższa niż ta obserwowana w guzach. Różnica poziomu ekspresji surwiwiny w guzach inwazyjnych i nieinwazyjnych nie była istotna statystycznie. Natomiast koekspresja surwiwiny i markera PCNA była wyraźnie nasiloną w przypadku guzów inwazyjnych przysadki.

Wnioski: Ekspresję surwiwiny obserwowano zarówno w komórkach gruczolaków, jak i w prawidłowych komórkach przysadek, co może sugerować, że odgrywa ona ważną funkcję regulatorową zarówno w komórkach prawidłowych, jak i nowotworowych. Koekspresja surwiwiny i antygenu proliferacyjnego PCNA w jądrach komórkowych w guzach przysadki, wyraźnie nasiloną w przypadku guzów inwazyjnych, wydaje się potwierdzać korelację surwiwiny z proliferacją komórkową. Akumulacja białka surwiwiny może być jednym z czynników odgrywających rolę w transformacji nowotworowej przysadki.

Expression of survivin and proliferating marker PCNA in invasive and non-invasive pituitary tumors

Joanna Waligórska-Stachura, Anna Jankowska,
Włodzimierz Liebert, Jerzy Sowiński, Ryszard Waśko

Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases, Poznań University of Medical Sciences, Poznań

Introduction: Survivin is a protein belonging to the family of apoptosis inhibitors. Its expression was found in most of human tumours. Since the level of survivin expression was found to have a positive correlation with the fast tumour progression and short survival periods of patients it has been proposed as a negative prognostic factor for many numerous tumours.

The aim of the study was to determine the survivin expression in different types of pituitary tumours, and the comparison of the expression in invasive and non-invasive adenomas as well as in tumours and normal pituitary. Moreover, we planned to determine if survivin was expressed by proliferating tumour cells.

Material and methods: The research was conducted on postoperative material of pituitary adenoma samples taken from 43 patients including: 22 somatotropinoma, 16 non-functional adenomas, 4 prolactinoma and 1 adrenocorticotropinoma. A control group contained fragments of normal pituitary glands taken during autopsy. The other control group — the positive one — included RNA isolated from cervical cancer HeLa cells. The expression of survivin was assessed with the use of RT-PCR, qRT-PCR and immunohistochemical methods. To determine the proliferation of pituitary tumour cells PCNA (proliferating cell nuclear antigen) on the mRNA and protein level was tested.

Results: We demonstrated the presence of survivin in 39 out of 43 examined pituitary tumours. Both mRNA and a protein product of the survivin coding gene were found in the cells of the normal pituitary. The level of survivin expression recorded with the use of qRT-PCR considerably differed between the neoplastic cells of pituitary tumours and the cells of the normal pituitary. In the case of the normal pituitary gland a relative amount of survivin mRNA was six times lower compared with the one observed in the tumours. There was no significant statistic difference between survivin expression in invasive and no invasive pituitary tumours cells. Moreover, the co-expression of survivin and PCNA predominated in invasive tumours cells.

Conclusions: Survivin was found in a few cells of the normal pituitary gland, which may suggest that survivin plays an important regulatory function in both normal and cancerous cells. The co-expression of survivin and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in pituitary tumours, clearly increased in the case of the invasive tumours, seems to confirm the correlation between survivin and cell proliferation. The accumulation of survivin protein may be one of the factors playing a role in the cancerous transformation of pituitary glands.

Ocena wpływu walproinianu sodu (VPA) na aktywność szlaku IP_3 /PKC w komórkach przedniego płata przysadki samicy szczura *in vitro*

Elżbieta Wasilewska-Dziubińska¹, Alina Gajewska²,
Anna Herman², Ewa Wolińska-Witort¹,
Magdalena Chmielowska¹, Lidia Martyńska¹,
Małgorzata Kalisz¹, Kazimierz Kochman²

¹Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej CMKP, Warszawa

²Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Jabłonna k/Warszawy

Wstęp: VPA — lek przeciwpadaczkowy może wywoływać zaburzenia w układzie rozrodczym u kobiet. Wcześniej wykazaliśmy, że podawanie *i.v.* VPA samicom szczura OVX prowadziło do zmniejszonego uwalniania LH, FSH, PRL i TSH z przysadki *in vivo* oraz, że podanie VPA nie wpływa na podstawowe wydzielanie LH, FSH, PRL i TSH, natomiast hamowało stymulowane przez GnRH uwalnianie LH z komórek przedniego płata przysadki samicy szczura *in vitro*. Wydaje się, że hamowanie stymulowanego przez GnRH wydzielania LH przez VPA może być związane z wpływem VPA na aktywność szlaku sygnalizacyjnego IP_3 /PKC w komórkach gonadotropowych.

Celem pracy było porównanie wpływu VPA i GnRH na stężenie IP_3 w komórkach gonadotropowych *in vitro*.

Materiał i metody: Komórki przedniego płata przysadki mózgowej szczuryc były inkubowane wstępnie przez 24 godz. z $1\mu\text{Ci}$ myo-[²³H]-inozytolu i 30 min z 10 mM LiCl, następnie przez 3 godz. z VPA (1 μM , 10 μM), 100 nM GnRH oraz łącznie VPA i GnRH. Stężenie IP_3 oznaczano metodą chromatografii jonowymiennej.

Wyniki: Wykazano, że synteza IP_3 w komórkach traktowanych przez VPA, GnRH oraz łącznie VPA i GnRH była znacząco wyższa od syntezy w grupie kontrolnej i poziom syntezy IP_3 w komórkach przysadki nie zależał od dawki VPA.

Wnioski: Otrzymane wyniki sugerują, że VPA może stymulować aktywność szlaku IP_3 /PKC w komórkach gonadotropowych, zatem mechanizm odpowiedzialny za hamujący wpływ VPA na stymulowane przez GnRH uwalniane LH wymaga dalszych badań.

Praca finansowana w ramach projektów CMKP nr 501-1-31-58/09 i 501-1-31-45-10.

Evaluation of sodium valproate (VPA) effect on IP_3 /PKC activity in anterior pituitary cells of female rats *in vitro*

Elżbieta Wasilewska-Dziubińska¹, Alina Gajewska²,
Anna Herman², Ewa Wolińska-Witort¹, Magdalena
Chmielowska¹, Lidia Martyńska¹, Małgorzata Kalisz¹,
Kazimierz Kochman²

¹Neuroendocrinology Department, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

²The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Science, Jabłonna n/Warsaw

Introduction: VPA — an antiepileptic drug was shown to affect the reproductive process in women. In a previous study we found that VPA administered to OVX female rats resulted in diminished LH, FSH, PRL and TSH release *in vivo* but when added to anterior pituitary cells culture it did not affect these hormones basal release. In contrast, VPA inhibited GnRH-induced LH release *in vitro* which suggests its effect on IP_3 /PKC signaling in gonadotrope cells.

The aim of this study was to compare GnRH and VPA stimulation on IP_3 /PKC signaling pathway activity in gonadotrope cells.

Material and methods: Anterior pituitary cells were preincubated for 24h with $1\mu\text{Ci}$ myo-[²³H]-inositol and for 30min with 10 mM LiCl and then for 3 h treated with VPA (1 μM and 10 μM), 100 nM GnRH or coincubated with VPA+GnRH. Ion exchange chromatography was applied to determine intracellular phosphoinositols concentration

Results: IP_3 synthesis was significantly elevated in the cells incubated with VPA, GnRH as well as combined VPA+GnRH treatment. IP_3 synthesis did not depend on applied VPA concentration.

Conclusions: The obtained results suggest that VPA may stimulate IP_3 /PKC pathway activity, therefore, the mechanism responsible for inhibitory effect of VPA on GnRH-stimulated LH release requires further investigation.

This study was supported by CMKP grants 501-1-31-58-09 and 501-1-31-45-10.

Wpływ leptyny na aktywność sekrecyjną komórek przysadki samic szczura — badania *in vitro*

Ewa Wolińska-Witort, Lidia Martyńska,
Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik,
Małgorzata Kalisz, Elżbieta Wasilewska-Dziubińska,
Bogusława Baranowska

Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Wstęp: Leptyna uczestniczy w kontroli podstawowych procesów życiowych związanych z pobieraniem pokarmu, wydatkowaniem energii oraz rozrodem. Swoje działanie może wywierać na komórki przysadki przez udział w kontroli syntezy i sekrecji hormonów tropowych. Na aktywność sekrecyjną tych komórek znaczący wpływ ma również estradiol.

Celem pracy było zbadanie, czy efekt działania leptyny na podstawową sekrecję LH, FSH, PRL oraz TSH jest zależny od zróżnicowanej przez estradiol aktywności komórek przysadki użytych do hodowli.

Materiał i metody: Komórki do hodowli pozyskiwano od owariotomizowanych (OVX) lub owariotomizowanych i następnie traktowanych estradiolem (OVX/E₂) trzymiesięcznych szczuryc. Hodowle komórek prowadzono przez 20 godzin w medium zawierającym: 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM leptyny lub bez leptyny (kontrola).

Wyniki: W hodowli komórek przysadki szczurów OVX tylko 10 nM leptyny znacząco stymulowało uwalnianie hormonów tropowych, odpowiednio: LH o 68%, FSH o 43%, PRL o 48% oraz TSH o 24% w porównaniu z kontrolą.

W hodowli komórek przysadki zwierząt OVX+E₂ 10nM leptyny stymulowało uwalnianie badanych hormonów: LH o 27%, FSH o 40%, PRL o 58% oraz TSH o 45% w porównaniu z kontrolą. Również obecność niższych dawek leptyny w medium hodowlanym spowodowała uwalnianie: FSH o 48% (1 nM), PRL o 11% (0,1 nM) oraz 17% (1 nM), TSH o 21% (0,1 nM) oraz 26% (1 nM) w porównaniu z kontrolą.

Wniosek: Uzyskane wyniki sugerują, że estradiol modyfikuje odpowiedź komórek przysadki na działanie leptyny.

Badania finansowane przez CMKP grant 501-1-128-33/05.

The effect of leptin on the secretory activity of pituitary cells of female rats — *in vitro* studies

Ewa Wolińska-Witort, Lidia Martyńska,
Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik,
Małgorzata Kalisz, Elżbieta Wasilewska-Dziubińska,
Bogusława Baranowska

Department of Neuroendocrinology, Medical Center of Postgraduate Education,
Warszawa

Introduction: Leptin takes part in the control of basal vital processes connected with food intake, energy homeostasis and reproduction. It is able to act on the pituitary through the control of synthesis and secretion of trophic hormones. Estradiol also has a significant influence on the secretory activity of the pituitary cells. The aim of this study was to investigate whether the effect of leptin on the basal LH, FSH, PRL and TSH secretion depends on pituitary cells activity modified by estradiol.

Material and methods: The pituitary cells were obtained from ovariectomised (OVX) or ovariectomised and then 17 β -estradiol treated (OVX+E₂) three month old female rats. The cells were cultured for 20 hours in the medium containing 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM of leptin or leptin-free (control).

Results: In the culture of the pituitary cells obtained from OVX rats only 10 nM of leptin significantly stimulated the release of trophic hormones, respectively: LH by 68%, FSH by 43%, PRL by 48% and TSH by 24% compared to the control.

In the culture of the pituitary cell of OVX+E₂ rats 10 nM of leptin caused a significant increase of the investigated hormones release, respectively: LH by 27%, FSH by 40%, PRL by 58% and TSH by 45% compared to the control. Also the presence of lower doses of leptin in the medium stimulated the release of FSH by 48% (1 nM), PRL by 11% (0.1 nM) and by 17% (1 nM), and TSH by 21% (0.1 nM) and by 26% (1 nM) compared to the control.

Conclusion: The obtained results suggest that estradiol modifies the response of the pituitary cells to leptin.

The study was supported by CMPK grant 501-1-128-33/05.

Zróźnicowana odpowiedź genu oksytocyny (OXY) oraz jej receptora w korze i rdzeniu nadnerczy podczas stresu

Danuta Wrońska-Fortuna, Konrad Szychowski,
Andrzej Sechman, Małgorzata Błachuta

Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy,
Kraków

Oksytocyna (OXY), neurohormon syntetyzowany przez jądra neurosekrecyjne PVN i SON podwzgórza, osłabia aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, a więc reakcji stresowej na poziomie mózgowia. Wyniki ostatnich badań *in vitro* sugerują lokalną syntezę OXY w rdzeniu nadnerczy, jak również jej hamujący wpływ na wydzielanie amin katecholowych oraz kortyzolu.

Celem podjętych badań było porównanie wpływu pojedynczego oraz powtarzanego stresu na ekspresję genu OXY oraz jej receptora (OXTR) w korze i rdzeniu nadnerczy.

Doświadczenie zostało wykonane na dojrzałych owcach poddanych 1- i 3-krotnej izolacji od stada w odstępach 24 h. Pomiar ekspresji genu OXY i jej receptora zostały przeprowadzone metodą *real-time* qPCR. Startery i sondy TaqMan MGB dla genu OXY oraz OXTR zaprojektowano w firmie Applied Biosystems.

Wyniki wykazały, że po pojedynczym stresie ekspresja genu OXY zmniejszyła się zarówno w korze jak i rdzeniu, natomiast powtarzany stres spowodował odwrotny efekt w rdzeniu nadnerczy. Nieoczekiwanie pojedynczy stres przyczynił się do znacznego zwiększenia ekspresji receptora genu OXY w korze oraz istotnego zmniejszenia w rdzeniu.

Wnioski: Wyniki jasno wskazują na udział OXY i OXTR w reakcji nadnerczy na stres. Ekspresja badanych genów zmniejszyła się po wielokrotnym stresie, co może wskazywać na adaptację.

Praca finansowana z grantu MNiSW NN311 098834 oraz DS 3243/KFiEZ.

Differential response of OXY and its receptor gene expression to stress in the adrenal cortex and medulla

Danuta Wrońska-Fortuna, Konrad Szychowski,
Andrzej Sechman, Małgorzata Błachuta

Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie,
Chair of Animal Physiology and Endocrinology, Agriculture University, Kraków

It is well known that oxytocin (OXY), a neurohormone synthesized in PVN and SON nuclei of the hypothalamus decreases hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, therefore stress response at the brain level. Our previous results of *in vitro* experiment suggest local OXY synthesis in the adrenal gland medulla and also its inhibitory influence on catecholamines and cortisol release.

The aim of this study was to compare the effect of single and repeated stress on the OXY and its receptor (OXTR) gene expression in the adrenal cortex and medulla.

The experiment was performed on adult sheep stressed by single or repeated (3 times every 24h) 60 min of isolation. Adrenals were divided into medulla and cortex and immediately placed in the RNAlater. Measurements of the gene expression of OXY and OXTR were performed using Real-time qPCR method. Starters and TaqMan MGB probes were designed by Applied Biosystem.

Single stress decreased the expression of OXY gene in the cortex and medulla. In contrast, repeated stress caused a reversal effect on the mRNA amount in medulla. Unexpectedly, single stress caused differential changes in the expression of OXTR gene — overexpression in the cortex and down regulation in the medulla.

Conclusions: The results clearly showed the involvement of OXY and its receptor in the stress response in the adrenal gland. The expression of both genes was diminished by repeated stress, which might indicate adaptation state.

Supported by grant NN311 098834 and DS 3243/KFiEZ.

Współzależność między czynnością osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA) oraz ekspresją adiponektyny i jej receptorów (AdipoR1, AdipoR2) w komórkach kory nadnercza oraz tkanki tłuszczowej

Tomasz Zemleduch, Łukasz Paschke

Studenckie Koło Naukowe, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii,
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Poznań

Wstęp: Adiponektyna (ADN) jest czynnym peptydem wydzielanym głównie przez tkankę tłuszczową i działającym przez dwa receptory: AdipoR1 i AdipoR2. W wielu tkankach, takich jak serce, wątroba i gonady, opisano występowanie miejscowych systemów ADN. Postulowany jest potencjalny związek pomiędzy funkcjami układu ADN a osią PPN.

Celem pracy było zbadanie wzorca ekspresji genów układu ADN w nadnerczu szczura. Zbadano również wpływ zaburzeń równowagi osi HPA na ekspresję ww. genów w nadnerczu oraz tkance tłuszczowej (podskórnej i trzewnej).

Materiał i metody: Za pomocą RT-PCR i immunoblottingu zbadano ekspresję ADN i jej receptorów w nadnerczu szczura oraz izolowanych komórkach kory nadnercza, a także w nadnerczach regenerujących i rozwojowych. W celu zbadania wpływu adiponektyny na steroidogenezę i proliferację komórek kory nadnercza wykorzystano odpowiednią pierwotną hodowlę komórkową oraz świeżo izolowane komórki. Z użyciem szczurów Wistar wykonano badanie *in vivo* testujące wpływ osi PPN na ekspresję ww. genów.

Wyniki: Adiponektyna i jej receptory ulegają ekspresji w nadnerczu szczura oraz izolowanych komórkach kory nadnercza. Ekspresja ADN jest ograniczona do strefy kłębkowatej i ulega stymulacji w stanach zwiększonej proliferacji. Stwierdzono znacząco większą ekspresję AdipoR1 niż AdipoR2 w nadnerczu szczura. Globularna domena ADN pobudza proliferację komórek kory nadnercza i ma wpływ na ich steroidogenezę. Zaburzenia czynności osi HPA wywołują istotne zmiany w ekspresji ADN i AdipoR1, AdipoR2 w nadnerczach oraz podskórnej tkance tłuszczowej, natomiast nie w tkance tłuszczowej trzewnej.

Wnioski: Geny układu ADN ulegają ekspresji w nadnerczu szczura oraz komórkach kory nadnercza i ulegają ontogenetycznej i fizjologicznej regulacji. Zmiany w ekspresji ADN i jej receptorów w tkance tłuszczowej i nadnerczach wynikające z zaburzeń czynności osi HPA mogą mieć istotne znaczenie fizjo- i patofizjologiczne.

Interrelationship between hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis functioning and adiponectin and its receptors (AdipoR1, AdipoR2) expression in adrenocortical cells and adipose tissue

Tomasz Zemleduch, Łukasz Paschke

Students' Scientific Group, Department of Histology and Embryology, Poznan University of Medical Sciences, Poznan

Introduction: Adiponectin (ADN) is a regulatory peptide secreted mostly by adipose tissue and acting via two receptors: AdipoR1 and AdipoR2. Local systems of ADN have already been identified in numerous tissues including the heart, liver and gonads. Several authors suggested possible interactions between ADN system and hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis.

The aim of the study was to investigate the expression pattern of ADN system genes in the rat adrenal gland. The influence of HPA axis functional alterations on above-mentioned genes in adrenals as well as in subcutaneous (SAT) and visceral adipose tissue (VAT) was also studied.

Material and methods: The expression of ADN and its receptors was studied in the rat adrenal gland and adrenocorticoocytes as well as in postnatally developing rats and regenerating adrenals by means of RT-PCR and immunoblotting. Primary adrenocortical cell culture (PACC) and freshly isolated adrenocortical cells (FIAC) were employed to test adiponectin influence on steroidogenesis and proliferation rate. *In vivo* HPA axis functional alteration study was also performed.

Results: Adiponectin and its receptors are expressed in the rat adrenal gland and in isolated adrenocortical cells. ADN expression is limited to zona glomerulosa cells and is upregulated in states of active adrenocortical cells proliferation. AdipoR1 is much more abundantly expressed in adrenal than AdipoR2. Globular domain of ADN enhanced adrenocortical cells proliferation and influenced adrenal steroidogenesis. HPA axis alterations produced marked

changes in the expression of adiponectin and its receptors in adrenals and SAT, while almost no changes were observed in VAT. **Conclusion:** ADN system genes are expressed in the rat adrenal gland and adrenocorticoocytes and are subjected to ontogenetical and physiological regulation. Changes in ADN and its receptors expression in adipose tissue and adrenals following HPA axis alterations may be of important physio- and pathophysiological relevance.

Starzenie a neuroendokrynologia

Stefan Zgliczyński

Klinika Endokrynologii, Centrum Kliniczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Starzenie wiąże się ze zmniejszeniem funkcji neuroendokrynnej ośrodkowego układu nerwowego. Łączy się to z rozwojem szeregu chorób zależnych od wieku. Chociaż proces starzenia nie jest bezpośrednio wywołany zaburzeniami czynności neuroendokrynnych, to jednak ich wyrównanie może mieć istotny wpływ na poprawę jakości życia. W związku z tym duże nadzieje wiąże się z uzupełnianiem niedoborów hormonalnych w menopauzie u kobiet i związanym z wiekiem hipogonadyzmie mężczyzn. Także wyrównywanie niedoborów hormonu wzrostu lub tyroksyny w wieku podeszłym powinno być dyskutowane. Wiele innych problemów związanych ze starzeniem pacjentów może wiązać się z neuroendokrynnym wydzielaniem wazopresyny, oksytocyny, dopaminy, greliny, leptyny oraz ze zmniejszeniem czynności sprzężeń zwrotnych pomiędzy podwzgórzem, przysadką i gruczołami obwodowymi.

Ageing and neuroendocrinology

Stefan Zgliczyński

Department of Endocrinology, Medical Center for Postgraduate Education, Warsaw

Ageing results in a decline of neuroendocrine function. It has been implicated as a potential factor in the development of several age-related diseases. Also the ageing process itself may not have a neuroendocrine basis, identification and correction of the associated neuroendocrine dysfunction may be important in enhancing the quality of life. There is much of interest in the preventive and therapeutic potential of hormonal substitution therapy for the age-related situations such as menopause in women and late onset hypogonadism in men. Also the replacement of growth hormone or thyroxin in elderly age is discussed. Many other problems encountered in ageing patients can be related to neuroendocrine secretion of vasopressin, oxytocin, dopamine, ghrelin, leptin and blunted function in feedback mechanism between the hypothalamus, the pituitary and peripheral glands.

Śmiertelność u pacjentów z chorobami układu podwzgórzowo-przysadkowego

Wojciech Zgliczyński

Klinika Endokrynologii, Centrum Kliniczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Z racjonalnego punktu widzenia głównym celem leczenia pacjentów z chorobami układu podwzgórzowo-przysadkowego (P-P) winno być wydłużenie im życia i poprawa jego komfortu. Zgon z powodu obecności nawet dużej masy guza w okolicy okolicznej należy do rzadkości. Zdarza się w przypadkach agresywnego przebiegu zespołu Nelsona bądź najbardziej

złośliwych nowotworów tej okolicy. Coraz rzadziej mają miejsce zgony z powodu nierozpoznanej wtórnej niedoczynności kory nadnerczy lub powikłań leczenia neurochirurgicznego. Do chorób układu P-P, które najczęściej mogą prowadzić do śmierci należy zaliczyć: niedoczynność przysadki, akromegalię, chorobę Cushinga, *craniopharyngioma* poddane leczeniu oraz guzy okolicy siodła tureckiego poddane radioterapii.

Częstość niedoczynności przysadki to około 450 przypadków/milion, a śmiertelność w tej grupie głównie z przyczyn sercowo-naczyniowych zwiększa się ponad 2-krotnie w porównaniu z populacją ogólną. Częstość akromegalii to około 60 przypadków na milion, a śmiertelność w tej grupie chorych jest zwiększona w porównaniu z populacją ogólną 3-krotnie. Należy pamiętać, że przebyta radioterapia dodatkowo zwiększa śmiertelność u pacjentów z akromegalią. Częstość choroby Cushinga wynosi około 30 przypadków/milion, a śmiertelność w tej grupie jest 5-krotnie większa niż w populacji ogólnej. Przeżycie 10-letnie wśród pacjentów z *craniopharyngioma* — najczęstszym guzem okolicy podwzgórza sięga 100%. Jednak w przypadku podjęcia radykalnego leczenia operacyjnego okres 10 lat przeżywa jedynie 62% chorych. Gdy zabieg jest nieradykalny, ale uzupełniony radioterapią — 10-letnie przeżycie dotyczy 74% pacjentów, a gdy zastosujemy samą radioterapię — przeżywa 81% leczonych w ten sposób. Przyjmuje się, że ogólna śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych chorych leczonych z powodu *craniopharyngioma* sięga 22%. Wiadomo również, że przebyta radioterapia z powodu guza przysadki 4-krotnie zwiększa ryzyko zgonu w porównaniu z populacją ogólną. Planując więc leczenie guza układu P-P, należy je tak oszacować, aby jego skutki nie były gorsze od samej choroby. W tym celu należy: kierować na operację tylko do ośrodków referencyjnych, ograniczyć radioterapię, a w przypadkach niedoczynności przysadki stosować odpowiednią substytucję hormonalną.

Mortality in patients with hypothalamic-pituitary disease

Wojciech Zgliczyński

Department of Endocrinology, Medical Center for Postgraduate Education, Warsaw

It is reasonable that the main aim of treating the patients with hypothalamic-pituitary disease is to prolong and improve the quality of their lives.

The presence of even a large parasellar tumor is rarely the immediate reason of death. It could occur in the cases of aggressive Nelson's syndrome or in the most malignant tumors. Mortality as a result of undiagnosed secondary adrenal insufficiency or complications following neurosurgical procedures is decreasing. The increased risk of death is noted in patients with hypopituitarism, acromegaly, Cushing's disease, treated for craniopharyngioma and those after radiotherapy for parasellar tumours. The prevalence of hypopituitarism is approximately 450 cases per million and these patients have more than doubled mortality risk comparing to the general population, predominantly due to cardiovascular disease. The prevalence of acromegaly is approximately 60 cases per million and the mortality in this group of patients is increased threefold compared to the general population. Radiation treatment further increases mortality in acromegaly patients. The prevalence of Cushing's disease is approximately 30 cases per million and the risk of death is increased five times compared to the general population. Ten-year survival rates in patients with the most frequent hypothalamic tumor — craniopharyngioma is almost 100%. However, the survival rate of ten years is decreased to 62% in patients treat-

ed with neurosurgery, to 74% when non-radical surgery is accompanied by radiotherapy and 81% with radiotherapy alone. Mortality due to cardiovascular disease in patients treated for craniopharyngioma reaches 22%. It is also known that the previous radiotherapy for pituitary tumors poses a fourfold risk increase of death.

Careful risk-benefit assessment is important when planning the treatment of hypothalamic-pituitary tumours. The effects of the treatment cannot be worse than the disease itself. To improve the outcome, it is necessary to have patients operated by experienced surgeons in the reference centers, to limit radiotherapy and to manage patients with hypopituitarism appropriately.

Stężenie rezystyny i wisfatyny w przysadce hiperglikemicznych prosiąt

Joanna Zubel, Ewa Ocioń, Jacek Fedorczyk, Krystyna Pierzchała-Koziec

Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy, Kraków

Wstęp: Regulacja gospodarki węglowodanowej znajduje się pod kontrolą układu nerwowego i endokrynnego. Zarówno hormony trzustki, jak i żołądka regulują przemianę glukozy w licznych tkankach między innymi w mięśniach, mózgowiu, wątrobie czy tkance tłuszczowej. Ostatnio wykazano wpływ dokomorowej iniekcji rezystyny i wisfatyny (adipocytokiny tkanki tłuszczowej) na indukcję insulinooporności. Z drugiej strony zaburzenia w metabolizmie glukozy modulują działanie centralnego układu nerwowego.

Celem pracy była ocena wpływu indukowanej cukrzycy typu 1 i 2 na zmiany stężenia wisfatyny i rezystyny w przysadce prosiąt.

Materiał i metody: Doświadczenie przeprowadzono na 8-tygodniowych prosiątach dwóch ras: wrażliwej — Puławska oraz odpornej na syndrom metaboliczny — Polska Biała Zwisloucha (PBZ). Prosięta podzielono na 3 grupy otrzymujące iniekcje: 0,9% NaCl, i.p. (kontrola), streptozotocyny 150 mg/kg mc., i.p. (cukrzyca typu 1) oraz glikokortykoidy 100 µg/kg mc., i.p. (cukrzyca typu 2). Poziom rezystyny i wisfatyny w przysadce zwierząt oznaczono przy użyciu gotowych zestawów Elisa firmy Phoenix Pharmaceuticals.

Wyniki: Stężenie obu adipocytokin w przysadce zwierząt kontrolnych było o ponad 100% wyższe u prosiąt rasy Puławskiej niż u PBZ (rezystyna 127% i wisfatyna 161%). Cukrzyca typu 1 i 2 obniżyła koncentrację adipocytokin w przysadce od 10–81% ($P < 0,01$). Zaobserwowano silniejsze zmiany poziomu wisfatyny i rezystyny w przysadce prosiąt rasy Puławskiej z cukrzycą typu 2. **Wnioski:** Zróznicowana odpowiedź rezystyny i wisfatyny podczas hiperglikemii sugeruje zaangażowanie adipocytokin przysadki w regulację gospodarki węglowodanowej na poziomie ośrodkowego układu nerwowego.

Grant NCBiR: NR 12 0064 06 oraz Grant MNiSW: NN 311 227 138.

Pituitary resistin and visfatin levels in the diabetic piglets

Joanna Zubel, Ewa Ocioń, Jacek Fedorczyk, Krystyna Pierzchała-Koziec

Department of Animal Physiology and Endocrinology, University of Agriculture, Kraków, Poland

Introduction: It is known that the regulation of carbohydrates turnover is under the nervous and endocrine systems control. Glucose regulation is an exquisite orchestration of many hormones, both pancreas and gut, that exert effect on multiple target tissues, such

as muscles, the brain, the liver and adipocyte. Recently, it was found that some adipocytokines, mainly resistin and visfatin are involved in the process of insulin resistance when injected icv. On the other hand, disturbances of the glucose metabolism affect the central nervous system.

The study will focus on the effect of diabetes type 1 and 2 (DM 1 and DM 2) on the visfatin and resistin changes within the piglets pituitary.

Material and method: The experiments were conducted on 8-weeks old male piglets of two strains — susceptible (Pulawska) and resistant (PBZ) to metabolic syndrome. The piglets were treated with physiological saline (control group), 150 mg/kg.b.w. of streptozotocin (induction of DM 1), 100 µg/kg b.w. of glucocorticoid (induction of DM 2). The concentrations of resistin and visfatin in the pituitaries from all the animals were measured by ELISA method (Phoenix Pharmaceuticals).

Results: The control level of both adipocytokines in the pituitary was more than 100% higher in Pulawska than in PBZ piglets (127% for resistin and 161% for visfatin). The induction of DM 1 and DM 2 decreased the concentration of adipocytokines by 10–81% ($p < 0.01$) in the tested piglets. The changes of visfatin and resistin level were stronger in DM 2 animals of Pulawska strain.

Conclusions: The differential response of resistin and visfatin to the hyperglycemia suggested the involvement of pituitary adipocytokines in the regulation of diabetic status in piglets at the central nervous system level.

Grant from the NCBiR No: NR 12 0064 06 and Grant from the Ministry of Science and Higher Education No. NN 311 227 138.

Pozagenomowy wpływ estradioli na poziom ATP w komórkach PC12 z supresją izoform plazmatycznej pompy wapniowej

Ludmiła Żylińska, Bożena Ferenc, Anna Kozaczuk, Tomasz Boczek

Zakład Neurochemii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Wstęp: Wiadomym jest, że szybkie, pozagenomowe działanie wywierane przez niektóre steroidy odgrywa ważną rolę w integracji i przetwarzaniu sygnałów neuronalnych, zaś jony Ca należą do najważniejszych cząsteczek sygnałowych. Z drugiej strony wykazano, że estradiol w sposób pozagenomowy może modulować poziom wewnątrzkomórkowego Ca^{2+} . Plazmatyczna pompa wapniowa (PMCA) odpowiada za usuwanie Ca^{2+} na zewnątrz komórki, zużywając ATP w tym procesie. Enzym jest kodowany przez cztery geny, zaś w tkance nerwowej występują wszystkie 4 izoformy. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że w komórkach PC12 z obniżoną ekspresją izoform PMCA2 lub PMCA3, transport $^{45}Ca^{2+}$ nie ulegał zmianie w obecności nieaktywnego transkrypcyjnie 17- α -E, natomiast 17- β -E wpływał stymulująco w zakresie stężeń od 1 nM do 1 µM.

Material i metody: Analizowano powiązania między działaniem estradioli i rolą PMCA2 oraz PMCA3 w regulacji cytozolowego Ca^{2+} ,

badając wpływ 17- α -E i 17- β -E (1 nM i 100 nM) na poziom ATP w komórkach PC12 z supresją izoform PMCA.

Wyniki: Oznaczenia wykonane przy użyciu sondy Fura-2/AM wykazały, że w badanych liniach komórkowych obie formy estradioli odmiennie modulowały cytozolowe stężenie Ca^{2+} oraz jego zawartość w magazynach wewnątrzkomórkowych wrażliwych na tapsygarginę. Zmiany te korelowały ze zmianami stężenia ATP, szczególnie w linii PC12 z obniżoną zawartością PMCA2.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że estradiol może regulować poziom cytozolowego Ca^{2+} , wpływając na aktywność systemu zużywającego ATP, przy czym efektywność tej modulacji zależy od struktury i stężenia steroidów. Ponadto, izoforma PMCA2 wydaje się być bardziej podatna na regulację przez estradiol.

Prace realizowane w ramach tematów 502-16-810 i 503-6086-2 Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Nongenomic effect of estradiols on ATP level in PC12 cells with suppressed isoforms of plasma membrane calcium pump

Ludmiła Żylińska, Bożena Ferenc, Anna Kozaczuk, Tomasz Boczek

Department of Molecular Neurochemistry, Medical University, Lodz, Poland

Introduction: It is now well established that short-term actions of some steroids play an important role in the integration and processing of neuronal signals. Among signaling molecules, Ca^{2+} appears to be the most ubiquitous and pluripotent. On the other hand, estradiol was shown to modulate intracellular Ca^{2+} level using fast, nongenomic mechanisms. Plasma membrane calcium pump (PMCA) is primarily responsible for removing Ca^{2+} outside the cells, using ATP for Ca^{2+} transport across the membrane. The enzyme is encoded by four genes, and all 4 isoforms are present in the nervous tissue. Our previous study showed that in PC12 cell line with suppressed PMCA2 or PMCA3 isoforms $^{45}Ca^{2+}$ transport was not altered by transcriptionally inactive 17- α -E, but 17- β -E stimulated Ca^{2+} transport at the concentrations ranging from 1 nM to 1 µM.

Material and methods: To elucidate a possible link between estradiols action and the role of PMCA2 and PMCA3 in regulation of cytosolic Ca^{2+} level, we analyzed the effects of 17- α -E and 17- β -E (at 1 nM and 100 nM) on ATP level in PMCA-reduced PC12 cells.

Results: Fura-2/AM assays revealed that estradiols altered cytosolic Ca^{2+} level in a different way, as well as its amount in tapsygargin-sensitive stores in examined cell lines. In addition, these changes correlated with ATP concentration, particularly in PMCA2-suppressed PC12 cells.

Conclusions: These findings indicate that estradiols may regulate cytosolic Ca^{2+} level using ATP-driven system and these modulations depend on the structure and steroid concentration. Moreover, PMCA2 isoform appears to be more vulnerable to estradiol-induced regulation.

Supported by the grants: 502-16-810 and 503-6086-2 from the Medical University of Lodz.