

## Streszczenia prac przedstawionych na II Zjeździe Polskiego Towarzystwa Neuroendokrynologicznego

### SESJA I — Neuropeptydy i ich analogi

#### S1.03. Kliniczne zastosowanie analogów somatostatyny

**Wojciech Zgliczyński**

Klinika Endokrynologii CMKP, Warszawa

Gruczolaki przysadki (głównie wydzielające GH i TSH), wyspiaki trzustki (*gastrinoma*, *glukagonoma*, rzadziej *insulinoma*), guzy rdzenia nadnerczy (*pheochromocytoma*), nowotwory z komórek okołopęcherzykowych tarczycy (rak rdzeniasty) oraz rakowiaki — głównie przewodu pokarmowego, ale również płuc, grasicy, jajników — posiadają receptory dla somatostatyny. Zsyntetyzowanie analogów somatostatyny — ligandów receptora somatostatynowego (LRS): oktreotydu, lanreotydu i vapreotydu stworzyło nowe perspektywy dla endokrynologii klinicznej. Ligandy receptora somatostatynowego znalazły zastosowanie w scyntygraficznych badaniach lokalizacyjnych, leczeniu farmakologicznym i radioizotopowym nowotworów gruczołów dokrewnych wykazujących ekspresję receptorów somatostatyny.

W somatotropowych gruczolakach przysadki przebiegających z objawami akromegalii w badaniach scyntygraficznych z zastosowaniem oktreotydu znakowanego indem ( $^{111}\text{In}$ -octreoscan), wykazano obecność receptorów dla somatostatyny. Nie wykazano jednak przewagi tej metody w lokalizacji guzów nad ich obrazowaniem za pomocą MR. Na podstawie wyniku octreoscenu trudno również przewidzieć skuteczność leczenia LRS, która w akromegalii dotyczy około 50% przypadków. Alternatywą dla chorych nieodpowiadających na to leczenie może być zastosowanie nowo zsyntetyzowanych LRS o powinowactwie do większości z wszystkich 5 podtypów receptora somatostatyny, jak na przykład SOM 230. Skuteczność tego nowego LRS ostatnio wykazano również w gruczolakach kortykotropowych, przebiegających z objawami choroby Cushinga.

Wykazaliśmy, że przedoperacyjne zastosowanie LRS, takich jak lanreotyd i oktreotyd o przedłużonym działaniu nie tylko prowadzi do poprawy klinicznej, ale istotnie zwiększa skuteczność operacyjnego leczenia akromegalii.

W *tyreotropinoma* z objawami nadczynności tarczycy przedoperacyjne zastosowanie LRS doprowadziło do szybkiego ustąpienia nadczynności tyreotoksykozy. Umożliwiło to skuteczne usunięcie guza przysadki i definitywne wyleczenie 9 spośród 10 leczonych tym sposobem. Natomiast u żadnego z 8 pacjentów operowanych bez przygotowania LRS nie uzyskano wyleczenia.

W przypadkach nowotworów przebiegających z objawami ektopowego wydzielania ACTH badanie z zastosowaniem LRS znakowanych  $^{111}\text{In}$  lub  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  przyczyniło się do lokalizacji ognisk — głównie rakowiaka płuc i grasicy z nadmiernym wydzielaniem kortykotropiny oraz amin i peptydów jak serotonina, chromogranina,

gastryna. Przedoperacyjne zastosowanie LRS u większości chorych doprowadziło do zahamowania czynności wydzielniczej nowotworu. Towarzyszyła temu poprawa kliniczna umożliwiająca bezpieczne przeprowadzenie zabiegu operacyjnego. U chorych z ektopowym wydzielaniem ACTH i uogólnionym procesem nowotworowym przewlekłe leczenie LRS lub zastosowanie znakowanych izotopem analogów somatostatyny —  $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TOC spowodowało remisję objawów hiperkortyzolemii.

W guzach neuroendokrynnych przewodu pokarmowego (GEP), z których około 80% wykazuje ekspresję receptora somatostatyny typ 2, scyntygrafia tych receptorów przy użyciu oktreotydu znakowanego  $^{111}\text{In}$  lub  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  wydaje się być najlepszą metodą ich obrazowania. Metoda ta jest szczególnie skuteczna w lokalizacji guzów typu *gastrinoma*, *glukagonoma*, nieczynnych guzów trzustki i rakowiaków oraz ich przerzutów. Analogi somatostatyny znalazły też zastosowanie w leczeniu objawowym guzów neuroendokrynnych, przede wszystkim w zespole rakowiaka, *glukagonoma* i *VIP-oma*. U większości chorych z GEP zastosowanie LRS daje wyraźną poprawę kliniczną i zmniejszenie lub całkowite ustąpienie dolegliwości. W sposób istotny poprawia to komfort życia i wpływa korzystnie na rokowanie. Stabilizacja wielkości guza zdarza się w połowie przypadków, natomiast zmniejszenie wielkości guza znacznie rzadziej. U chorych z guzami GEP w okresie uogólnionego procesu nowotworowego jako leczenie paliatywne stosowana jest terapia LRS sprzężonymi z radioizotopami.

**Podsumowanie:** Wprowadzenie LRS stało się przełomem w rozpoznawaniu i leczeniu nowotworów gruczołów dokrewnych. Ligandy receptora somatostatynowego znalazły zastosowanie zarówno w diagnostyce lokalizacyjnej guzów neuroendokrynnych (*octreoscan*), jak i w leczeniu gruczolaków przysadki wydzielających GH i TSH. Zastosowanie LRS jest postępowaniem z wyboru w leczeniu zespołu rakowiaka, *VIP-oma*, *glukagonoma*. Obiecującym też jest zastosowanie LRS w celowanej terapii radioizotopowej u chorych z GEP w okresie uogólnienia procesu nowotworowego.

#### Clinical applicability of somatostatin analogs

**Wojciech Zgliczyński**

Department of Endocrinology, Medical Center for Postgraduate Education, Warsaw

Somatostatin receptors are present in hypophysial adenomas (secreting mainly GH and TSH), insulinoma (*gastrinoma*, *glucagonoma*, more seldom *insulinoma*), tumors of adrenal medulla (*pheochromocytoma*), parafollicular cells neoplasms of thyroid gland (medullary carcinoma) as well as carcinoids — mainly of alimenta-

ry tract, but also of lungs, thymus and ovaries. Somatostatin receptor ligands (SRL): octreotide, lanreotide and vapreotide — created neoplasia new perspective for clinical endocrinology. SRL have found application in scintiscanner localizing examinations as well as in pharmacological and radioisotope treatment of endocrine neoplasia with expression of somatostatin receptors.

In somatotrophic hypophysial adenomas with the symptoms of acromegaly presence of somatostatin receptors were shown in scintiscanner examination with octreotide labeled marked Indium ( $^{111}\text{In}$ ). However, the superiority of this method over MR imaging in localizing tumors was not shown. It is also difficult to forecast predict the efficacy of SRL treatment, which in acromegaly is about 50% of cases. For not responding patients the alternative may be treatment with newly synthesized SRL with affinity to all 5 sub-types of somatostatin receptor — for example SOM 230. The efficacy of this new SRL was recently shown for corticotrophic adenomas with the symptoms of Cushing's disease.

We have shown that preoperative treatment with SRL such as prolonged activity lanreotide and octreotide gives not only clinical improvement but substantially increases the efficacy of surgical treatment of acromegaly.

Preoperative treatment with SRL in cases of thyrotropinoma with symptoms of hyperthyreosis have led to fast normalizing of the thyroid gland function. Successful removal of pituitary gland tumor was thus enabled and definite cure of 9 out of 10 patients followed. In contrast the cure was not obtained in any of the 8 patients who underwent surgery without prior treatment with SRL. In cancers with symptoms of ectopic secretion of ACTH examination with Indium 111 or Technetium 99m labeled SRL was useful in localization of carcinoids' foci, mainly of lungs and thymus, with excessive secretion of corticotropin and peptides such as chromo-

granin, serotonin and gastrin. In the majority of patients preoperative treatment with SRL caused suppression of tumors secretory activity. Clinical improvement was achieved, which enabled a safe surgery. Patients with ectopic secretion of ACTH and generalized neoplastic disease who were undergoing a prolonged treatment with SRL or with isotope labeled somatostatin analogs —  $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TOC experienced reduction of hypercortisolemia.

In patients with neuroendocrine tumors of alimentary tract (GEP/NET) 80% of whom show expression of somatostatin type 2 receptor, the best method of imaging seems to be scintiscanning of the receptors with the use of Indium or Technetium labeled octreotide. This method is especially efficient in localization of tumors of the gastrinoma and glucagonoma type, inactive pancreatic tumors and carcinoids, as well as their metastases. Somatostatin analogs found use also in symptomatic treatment of neuroendocrine tumors, first and foremost in carcinoid syndrom, glucagonoma and VIP-oma. Most patients with GEP experience clear improvement in clinical status and lessening or total ceasing of discomfort. The quality of life is essentially improved which has positive effect on prognosis. In half of cases a stabilization of tumors' dimension occurs, however diminishing of the tumor occurs much more seldom. In patients with GEP-type tumors in the period of generalized neoplastic disease, SRL therapy conjugated with radioisotopes is used as a palliative treatment.

**Summary:** Introduction of SRL was a step forward in diagnosis and treatment of endocrine glands' cancers. SRL found use both in localizing diagnostic of neuroendocrine tumors (octreoscan) and in treatment of hypophysial adenomas secreting GH and TSH. SRL is a treatment of choice for carcinoid syndrom, glucagonoma and VIP-oma. Application of SRL is also promising in targeted radioisotope therapy in patients with GEP-type tumors in the period of generalized neoplastic disease.

## SESJA II — Choroby podwzgórza i przysadki cz. I

### S2.01. Receptory somatostatynowe w „klinicznie nieczynnych hormonalnie” gruczolakach przysadki — występowanie i czynność

Marek Pawlikowski

Zakład Neuroendokrynologii Katedry Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Guzy przysadki rozpoznawane klinicznie jako nieczynne hormonalnie (CNFPA, *clinically nonfunctioning pituitary adenomas*) stanowią heterogenną grupę guzów, z których większość wykazuje ekspresję gonadotropin lub ich wolnych podjednostek, a tylko około 1/4 jest rzeczywiście pozbawiona czynności hormonalnej. Omawiane guzy mogą posiadać receptory somatostatynowe (r-sst) i w niektórych przypadkach odpowiadać częściową regresją na leczenie analogami somatostatyny (aSST).

**Celem badań** była ocena częstości występowania poszczególnych podtypów r-sst w CNFPA oraz ocena związku między ich ekspresją a efektami biologicznymi ich agonistów.

**Materiał i metody:** Zbadano 32 gruczolaki przysadki z grupy CNFPA za pomocą metody immunohistochemicznej z użyciem przeciwciał anty-r-sst1-5. W celu oceny aktywności badanych receptorów, w hodowlach komórkowych 10 guzów zbadano wpływ SST i jej analogów (BIM23926, BIM23120, BIM23206, BIM23A387) na wzrost, a w hodowlach 7 guzów także na wydzielanie chromograniny A (CgA) i alfa-podjednostki (alfa-SU).

**Wyniki:** Stwierdzono następującą częstość występowania podtypów r-sst w badanych guzach:

$\text{sst5} > \text{sst1} > \text{sst2A} = \text{sst2B} > \text{sst3} > \text{sst4}$ , przy czym sst5 występował w każdym z badanych gruczolaków. Każdy z badanych agonistów r-sst w około połowie badanych guzów powodował obniżenie liczby komórek w hodowli (> 20%), przy czym zaobserwowano związek między nasileniem ekspresji r-sst a efektem działania ich agonistów (za wyjątkiem podtypu sst2B).

**Wnioski:**

1. Częste występowanie r-sst, w tym podtypów innych niż sst2, w CNFPA, wskazuje na możliwość leczenia tych guzów analogami somatostatyny o odmiennym powinowactwie do receptorów niż obecnie stosowane.
2. Nasilenie ekspresji r-sst uwidacznianych metodą immunohistochemiczną może stanowić przesłankę do przewidywania odpowiedzi biologicznej.
3. Warianty receptora sst2- sst2A i sst2B przypuszczalnie pośredniczą w odpowiedziach biologicznych o odmiennym charakterze.

### Somatostatin receptors in „clinically non-functioning” pituitary adenomas — incidence and function

Marek Pawlikowski

Department of Neuroendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

Pituitary tumors diagnosed clinically as „non-functioning” (clinically non-functioning pituitary adenomas, CNFPA) represent a heterogeneous group of tumors, expressing in majority gonadotropins or their free subunits, but only in one third really devoid of hormonal activity. These tumors may possess somatostatin receptors (r-ssst) and in some cases respond to the treatment with somatostatin analogs (aSST).

**The aim of the study** was to evaluate the incidence of particular r-ssst subtypes in CNFPA and of relationship between their expression and biological effects of their agonists.

**Materials and methods:** Thirty two CNFPA were examined immunohistochemically with anti-r-ssst1-5 antibodies. To evaluate the functionality of the examined receptors, in cell cultures of 10 adenomas the effects of SST and its analogs (BIM23926, BIM23120, BIM23206, BIM23A387) on cell growth, and in cultures of 7 tumors also on chromogranin A (CgA) and alpha-subunit (alpha-SU) release were estimated.

**Results:** The following incidence of r-ssst subtypes in the investigated tumors was found:

ssst5 > sst1 > sst2A = sst2B > sst3 > sst4. Subtype sst5 was expressed in each of the examined adenomas. Each of examined r-ssst agonists diminished (> 20%) the number of viable cells in approx. half of the tumors studied. A relationship between the expression density of r-ssst and effects of their respective agonists was found, except of sst2B.

**Conclusions:**

1. A frequent incidence of immunohistochemically detected r-ssst, including the subtypes different from sst2, in CNFPA, indicates a possibility of treatment of these tumors with SST analogs differing in the receptor affinities from those used nowadays.
2. The intensity of expression of immunohistochemically detected r-ssst might predict the biological responses.
3. Variants of sst2 receptor — sst2A and sst2B seem to mediate the divergent biological responses.

## S2.02. Wpływ talidomidu na wzrost, czynność sekrecyjną i angiogenezę indukowanych estrogenami guzów prolaktynowych przysadki u szczurów szczepu Fischer 344

Henryk Stępień<sup>1</sup>, Hanna Ławnicka<sup>1</sup>, Sławomir Mucha<sup>2</sup>, Małgorzata Wągorowska-Danilewicz<sup>3</sup>, Bartłomiej Stępień<sup>1</sup>, Agnieszka Siejka<sup>2</sup>, Jan Komorowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Immunoendokrynologii, UM, Łódź

<sup>2</sup>Klinika Endokrynologii, UM, Łódź

<sup>3</sup>Zakład Nefropatologii, UM, Łódź

**Wstęp:** Angiogeneza odgrywa kluczową rolę w rozwoju indukowanych estrogenami guzów prolaktynowych przysadki u szczurów szczepu Fischer 344. Talidomid ( $\alpha$ -(N-phtalimido)-glutarimid) jest lekiem immunomodulacyjnym, wykazującym także działanie antyangiogenne. Wpływu talidomidu na czynność hormonalną oraz proces powstawania guzów prolaktynowych przysadki dotychczas nie badano.

**Cel pracy:** Przedmiotem badań była ocena wpływu talidomidu na wydzielanie prolaktyny (PRL), czynnika wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF), proliferację komórkową, apoptozę oraz angiogenezę komórek przedniego płata przysadki u szczurów szczepu Fischer 344 poddanych długotrwałemu działaniu stilbestrolu (DES) w warunkach *in vivo* i *in vitro*.

**Wyniki:** Wykazaliśmy wybitny wzrost stężeń PRL i VEGF w surowicy zwierząt poddanych długotrwałemu działaniu DES. Talidomid (100 mg/kg), podawany podskórnie przez okres 15 dni, zniósł pobudzający wpływ tego hormonu na wydzielanie PRL i VEGF

w warunkach *in vivo*. W tym samym doświadczeniu wykazaliśmy hamujący wpływ talidomidu na proliferację (metoda PCNA) komórek przedniego płata przysadki oraz pobudzający wpływ na proces apoptozy (metoda TUNEL). Talidomid obniżał także wartość średniej gęstości naczyń krwionośnych (metoda immunohistochemiczna z użyciem przeciwciał anti-CD31) w obrębie indukowanych DES guzów prolaktynowych przysadki. Wykazaliśmy ponadto hamujący wpływ talidomidu ( $10^{-4}$ – $10^{-6}$  M) na proliferację oraz wydzielanie PRL i VEGF w hodowli pierwotnej komórek przysadki w warunkach *in vitro*.

**Wnioski:** Hamujący wpływ talidomidu na rozwój indukowanych estrogenami guzów prolaktynowych przysadki zachodzi poprzez modulujący wpływ tego leku na procesy proliferacji, apoptozy, angiogenezy oraz wydzielania PRL i VEGF. Wyniki powyższe wskazują na możliwość potencjalnego zastosowania talidomidu w neurofarmakologicznej terapii guzów prolaktynowych przysadki.

Praca finansowana przy udziale środków Centrum Doskonałości MolMed (EC grant nr QLK3-2002-30326).

## Influence of thalidomide on the growth, secretory function and angiogenesis of oestrogen- induced prolactinoma in Fischer 344 rats

Henryk Stępień<sup>1</sup>, Hanna Ławnicka<sup>1</sup>, Sławomir Mucha<sup>2</sup>, Małgorzata Wągorowska-Danilewicz<sup>3</sup>, Bartłomiej Stępień<sup>1</sup>, Agnieszka Siejka<sup>2</sup>, Jan Komorowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunoendocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of Clinical Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>3</sup>Department of Nephropathology, Lodz

**Introduction:** The process of angiogenesis has been found to be essential for the development of oestrogen-induced pituitary prolactinoma in Fischer 344 rats. Thalidomide ( $\alpha$ -(N-phtalimido)-glutarimide) is known to be a potent immunomodulatory drug with antiangiogenic properties, but its effect on lactotroph cell secretory function and pituitary prolactinoma formation has not been described yet.

**Aim of the study:** The purpose of this study was to examine the effects of thalidomide on prolactin (PRL) and vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion, cell proliferation, apoptosis and angiogenesis within the anterior pituitary gland in long-term diethylstilboestrol (DES)-treated male F344 rats *in vivo* and *in vitro*.

**Results:** It was found that DES sharply increased serum PRL and VEGF levels. On the other hand, simultaneous treatment of F344 rats with thalidomide for the last 15 days of the experiment attenuated the stimulatory effect of DES on PRL and VEGF secretion. It also diminished prolactin cell proliferation evaluated by a number of proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-positive stained cell nuclei and increased the number of apoptotic bodies determined by the terminal deoxynucleotidyl-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) method in sections of the DES-induced pituitary prolactinoma. The density of pituitary microvessels evaluated by microscopic counting of CD-31-positive blood vessels was also diminished by the tested drug. In addition, thalidomide ( $10^{-4}$ – $10^{-6}$  M) inhibited cell proliferation, prolactin and VEGF secretion from rat pituitary prolactinoma cells cultured *in vitro*.

**Conclusion:** Our results provide strong evidence for the antiprolactin and antitumor activity of thalidomide in experimentally DES-induced pituitary adenoma and could imply the possible application of angiogenesis inhibitors in the therapy of prolactinoma.

The study has been done with the contribution of Centre of Excellence MolMed (EC grant No. QLK3-2002-30326).

### S2.03. Ghrelina w akromegalii

Jarosław Kozakowski, Michał Rabijewski, Wojciech Zgliczyński

Klinika Endokrynologii CMKP, Warszawa

Ghrelin jest naturalnym ligandem receptorów GHSR-1a, których aktywacja powoduje zwiększenie wydzielania hormonu wzrostu (GH). Bierze także udział w regulacji bilansu energetycznego ustroju, a jej stężenie wykazuje ujemną korelację ze stężeniem insuliny i leptyny. Jak dotąd niewiele wiadomo na temat zachowania się ghreliny w akromegalii.

**Cel pracy:** Ocena wpływu operacyjnego oraz farmakologicznego leczenia analogami somatostatyny chorych z akromegalią na stężenie ghreliny w surowicy.

**Materiał:** 28 chorych (17 kobiet i 11 mężczyzn) w wieku  $47,7 \pm 11,4$  (średnio  $\pm$  SD), wskaźnik masy ciała (BMI) =  $31,6 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Rozpoznanie ustalono na podstawie: 1. braku hamowania wydzielania GH < 1 ng/ml po doustnym obciążeniu 75 g glukozy, 2. podwyższonego stężenia insulinopodobnego czynnika wzrostowego I (IGF-1) — powyżej normy dla płci i wieku i 3. obecności gruczolaka przysadki w obrazowaniu za pomocą rezonansu magnetycznego. Chorych podzielono na dwie grupy. Grupa I: osoby poddane przezklinowej operacji gruczolaka przysadki, 10 kobiet i 7 mężczyzn w wieku  $45 \pm 10,9$  lat, BMI =  $31,3 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Kryteria operacyjnego wyleczenia stanowiły:

1. hamowanie wydzielania GH poniżej 1 ng/ml w OGTT, 2. stężenie IGF-1 w granicach normy dla płci i wieku. Grupa II: osoby leczone zachowawczo analogami somatostatyny (Sandostatin LAR, Novartis Pharm. Ltd, 20 mg im. co 4 tygodnie), 7 kobiet i 4 mężczyzn w wieku  $52 \pm 11,3$  lat, BMI =  $29,4 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Kryteria dobrej kontroli biochemicznej obejmowały: 1. hamowanie wydzielania GH poniżej 1 ng/ml w OGTT, 2. stężenie IGF-1 w granicach normy dla płci i wieku. Grupa kontrolna — osoby zdrowe: 10 kobiet i 19 mężczyzn w wieku  $47,7 \pm 11,4$  lat, BMI =  $25,6 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>.

**Metody:** U wszystkich oceniano wzrost, ciężar i wskaźnik masy ciała (BMI). Rano na czczo pobierano krew w celu oznaczenia stężenia ghreliny całkowitej, leptyny, GH, IGF-1, glukozy i insuliny oraz cholesterolu całkowitego i triglicerydów. Obliczano wskaźnik insulinooporności HOMA.

**Wyniki:** Ciężar i wskaźnik masy ciała chorych przed leczeniem był większy niż osób zdrowych z grupy kontrolnej, i wynosił odpowiednio:  $87,3 \pm 18$  i  $74,4 \pm 16$  kg,  $p < 0,02$  (ciężar ciała) oraz  $31,6 \pm 4,9$  i  $25,5 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,0002$  (BMI). Po wyleczeniu operacyjnym ciężar i wskaźnik masy ciała nie uległy istotnym zmianom i nadal były wyższe niż u osób zdrowych, odpowiednio:  $92,7 \pm 19$  i  $74,4 \pm 16$  kg,  $p = 0,02$  (ciężar ciała) oraz  $31,5 \pm 5$  i  $25,5 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,0003$  (BMI). W czasie leczenia zachowawczego ciężar ciała uległ obniżeniu, a BMI pozostawał nadal wyższy (odpowiednio:  $30,1 \pm 6,3$  i  $25,2 \pm 4,1$  kg/m<sup>2</sup>;  $p < 0,003$ ). Po wyleczeniu operacyjnym średnie stężenie GH na czczo obniżyło się z  $26,3 \pm 29$  do  $1,6 \pm 2,5$  mg/l ( $p < 0,007$ ), a stężenie IGF-1 z  $926,1 \pm 325$  do  $337 \pm 213$  mg/l ( $p < 0,00003$ ). Również leczenie zachowawcze spowodowało obniżenie stężenia GH z  $29,4 \pm 40$  do  $5,8 \pm 7,6$  mg/l i stężenia IGF-1 z  $976,3 \pm 328$  do  $358,3 \pm 203$  mg/l ( $p < 0,002$ ). Wszyscy spełniali kryteria wyleczenia z akromegalii. Po leczeniu stężenia GH i IGF-1 na czczo u osób wyleczonych i zdrowych nie różniły się. Stężenie insuliny na czczo po wyleczeniu operacyjnym obniżyło się z  $29,1 \pm 9,8$  do  $15,8 \pm 7,3$   $\mu$ U/ml ( $p < 0,02$ ). Stężenie insuliny na czczo w czasie leczenia zachowawczego obniżyło się z  $29,8 \pm 12,9$  do  $14,6 \pm 2,1$   $\mu$ U/ml ( $p < 0,03$ ), a wskaźnik HOMA z  $9,1 \pm 3,6$  do  $3,5 \pm 0,4$  ( $p < 0,007$ ). Stężenie

glukozy i insuliny na czczo oraz wskaźnik HOMA u osób zdrowych były znacząco niższe niż u chorych z akromegalią, i wynosiły odpowiednio:  $88,4 \pm 7$  i  $142,7 \pm 101$  mg/dl,  $p < 0,04$  (glukoza),  $18,3 \pm 7,5$  i  $29,4 \pm 11$   $\mu$ U/ml,  $p < 0,003$  (insulina) oraz  $3,8 \pm 1,7$  i  $7,9 \pm 3,6$ ,  $p < 0,0004$  (HOMA). Po leczeniu nie stwierdzono znaczących różnic między grupami zdrowych i wyleczonych w zakresie stężenia glukozy i insuliny na czczo oraz wskaźnika HOMA. Stężenie ghreliny całkowitej na czczo w grupie wyleczonych operacyjnie wzrosło z  $1164,2 \pm 321$  do  $1553,6 \pm 542$  pg/ml ( $p = 0,01$ ), a w grupie leczonych analogami somatostatyny obniżyło się z  $1038,7 \pm 344$  do  $568,5 \pm 252$  pg/ml ( $p < 0,03$ ). Stężenie ghreliny u osób zdrowych było wyższe niż u chorych z akromegalią (odpowiednio:  $1266,8 \pm 374$  i  $1055,2 \pm 325$ ;  $p < 0,04$ ). Po leczeniu stężenie ghreliny u osób zdrowych i wyleczonych nie różniło się znacząco. U osób zdrowych stwierdzono ujemną korelację między stężeniem ghreliny a ciężarem ciała ( $r = -0,40$ ;  $p = 0,04$ ). U chorych z akromegalią stwierdzono ujemną korelację między stężeniem ghreliny a stężeniem insuliny ( $r = -0,48$ ;  $p < 0,02$ ) i wskaźnikiem HOMA ( $r = -0,57$ ;  $p < 0,03$ ).

**Wnioski:** U chorych z akromegalią:

- stężenie ghreliny całkowitej jest obniżone w porównaniu z osobami zdrowymi, co można wiązać ze zwrotnym hamowaniem jej produkcji i opornością insulinową spowodowaną nadmiarem hormonu wzrostu;
- skuteczne leczenie operacyjne prowadzi do normalizacji stężenia ghreliny;
- stosowanie analogów somatostatyny prowadzi do dalszego obniżania się stężenia ghreliny mimo normalizacji wydzielania GH i IGF-1.

### Ghrelin in acromegaly

Jarosław Kozakowski, Michał Rabijewski, Wojciech Zgliczyński

Medical Center of Postgraduate Education, Dept. of Endocrinology, Warsaw

Ghrelin has been found as a natural ligand of growth hormone secretagogues receptors (GHSR-1a) that exerts a marked stimulatory effect on growth hormone (GH) secretion. It is also thought to be involved of eating behavior and control of energy homeostasis. However, still little is known about the physiology of ghrelin secretion in acromegaly.

**Objective:** The objective of the study was to examine effects of surgical and pharmacological treatment in patients with acromegaly on serum ghrelin levels.

**Material:** 28 patients (17 women and 11 men) aged  $47.7 \pm 11.4$  years (mean  $\pm$  SD) with body mass index (BMI) =  $31.6 \pm 4.9$  kg/m<sup>2</sup>. Diagnosis was based on: 1. peak GH in oral glucose tolerance test < 1 ng/mL, 2. serum IGF-1 levels above normal for gender and age, 3. pituitary adenoma in magnetic resonance imaging. Patients were divided into two groups: Group I — surgically treated (transsphenoidal surgery): 10 women and 7 men aged  $45 \pm 10.9$  years with BMI =  $31.3 \pm 4.9$  kg/m<sup>2</sup>. Criteria of cure in acromegaly were: 1. peak GH < 1 ng/ml in OGTT, 2. serum IGHF-1 levels according to gender and age. Group II — pharmacologically treated (Sandostatin LAR, Novartis Pharm. Ltd, 20 mg im, monthly): 7 women and 4 men aged  $52 \pm 11$  years, BMI =  $29.4$  kg/m<sup>2</sup>. Criteria of good control of acromegaly were: 1. peak GH < 1 ng/ml in OGTT, 2. serum IGHF-1 levels according to gender and age. Control group — healthy subjects: 10 women and 19 men aged  $47.7 \pm 11.4$  years, BMI =  $25.6$  kg/m<sup>2</sup>.

**Methods:** In patients before and after treatment and in healthy subjects fasting serum levels of total ghrelin, leptin, growth hormone (GH), insulin-like growth factor I (IGF-1), glucose, insulin, total cholesterol and triglyceride levels were measured. HOMA index of insulin resistance was calculated. The patients and control subjects underwent assessment of body height, weight and BMI.

**Results:** Body weight and BMI in patients before treatment were higher compared to healthy controls ( $87.3 \pm 18$  to  $74.4 \pm 16$  kg,  $p < 0.02$  (body weight) and  $31.6 \pm 4.9$  to  $25.5 \pm 4.1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0.0002$  (BMI). Body weight and BMI after successful surgical treatment were still higher compared to healthy subjects ( $92.7 \pm 19$  to  $74.4 \pm 16$  kg,  $p = 0.02$  (body weight) and  $31.5 \pm 5$  to  $25.5 \pm 4.1$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0.0003$  (BMI). Body weight decreased during pharmacological treatment although BMI was still higher than in control subjects ( $30.1 \pm 6.3$  to  $25.2 \pm 4.1$  kg/m<sup>2</sup>;  $p < 0.003$ ). Serum fasting GH and IGF-1 levels decreased after successful surgical treatment, from  $26.3 \pm 29$  to  $1.6 \pm 2.5$  µg/l ( $p < 0.007$ ) and from  $926.1 \pm 325$  to  $337 \pm 213$  µg/L ( $p < 0.00003$ ), respectively. Also during pharmacological treatment decrease in serum GH and IGF-1 levels were observed, from  $29.4 \pm 40$  to  $5.8 \pm 7.6$  µg/l and from  $976.3 \pm 328$  to  $358.3 \pm 203$  µg/L ( $p < 0.002$ ), respectively. Serum insulin levels decreased after successful surgical treatment, from  $29.1 \pm 9.8$  to  $15.8 \pm 7.3$  µU/ml ( $p < 0.02$ ). Also during pharmacological treatment serum insulin levels and HOMA index decreased, from  $29.8 \pm 12.9$  to  $14.6 \pm 2.1$  µU/ml ( $p < 0.03$ ) and from  $9.1 \pm 3.6$  to

$3.5 \pm 0.4$  ( $p < 0.007$ ), respectively. Serum fasting insulin and glucose levels and HOMA index were higher in patients before treatment compared to healthy subjects and didn't differ significantly after successful surgery and during pharmacotherapy. Serum ghrelin levels in patients with acromegaly were decreased compared to healthy subjects ( $1055.2 \pm 325$  to  $1266.8 \pm 374$  pg/ml,  $p < 0.04$ ) and increased after successful surgical treatment, from  $1164.2 \pm 321$  to  $1553.6 \pm 542$  pg/ml ( $p = 0.01$ ). During pharmacotherapy decrease in serum ghrelin levels was observed, from  $1038.7 \pm 344$  to  $568.5 \pm 252$  pg/ml ( $p < 0.03$ ). There were no significant differences in serum ghrelin level between healthy controls and patients after treatment. Significant negative correlation between serum ghrelin levels and body weight ( $r = -0.40$ ,  $p = 0.04$ ) in healthy subjects was found. In patients with acromegaly significant negative correlation between serum ghrelin levels and insulin levels and HOMA index were found ( $r = -0.48$ ;  $p < 0.02$  and  $r = -0.57$ ;  $p < 0.03$ , respectively).

**Conclusions:** In patients with acromegaly:

- serum ghrelin levels are decreased compared to healthy subjects. It can be speculated, that its at least partially caused by negative feedback control of ghrelin production and by GH-induced hyperinsulinaemia;
- serum ghrelin levels increase after successful transsphenoidal surgery;
- treatment with somatostatin analogues causes decrease in serum ghrelin levels, despite of serum GH and IGF-1 normalization.

## SESJA III — Choroby podwzgórza i przysadki cz. II

### S3.01. Trudności w rozpoznawaniu i leczeniu ACTH-zależnego zespołu Cushinga

Wojciech Zgliczyński<sup>1</sup>, Piotr Zdunowski<sup>1</sup>, Przemysław Witek<sup>1</sup>, Grzegorz Zieliński<sup>2</sup>, Jan Podgórski<sup>2</sup>, Andrzej Pietraszek<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii CMKP, Warszawa

<sup>2</sup>Klinika Neurochirurgii WIM, Warszawa

<sup>3</sup>Klinika Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej, Instytut Onkologii, Warszawa

Ponad 50% chorych z niewyleczonym ACTH-zależnym zespołem Cushinga umiera w ciągu pierwszych 5 lat choroby. Tak wysoka śmiertelność stanowi nadal duże wyzwanie dla współczesnej endokrynologii. Trudności w rozpoznawaniu i leczeniu ACTH-zależnego zespołu Cushinga są związane głównie z ustaleniem źródła nadmiernego wydzielania ACTH. Wiadomo, że około 85% przypadków stanowi gruczolak wywodzący się z komórek kortykotropowych przysadki, a w 15% to nowotwór o lokalizacji pozasiodłowej, ektopowo wydzielający ACTH. Dodatkowo około 80–90% gruczolaków kortykotropowych przysadki stanowią mikrogruczolaki, a połowa z nich to zmiany o średnicy mniejszej niż 5 mm — również trudne do uwidocznienia w badaniu rezonansem magnetycznym (MR).

**Celem** pracy była ocena wyników rozpoznawania i leczenia ACTH-zależnego zespołu Cushinga.

**Materiał:** Do badania zakwalifikowano 77 chorych (50 kobiet i 27 mężczyzn) w wieku od 16 do 63 lat (średnio 38,4) z ACTH-zależnym zespołem Cushinga obserwowanych w latach 1998–2005.

**Metody:** ACTH-zależny zespół Cushinga rozpoznano na podstawie wykazania podwyższonego stężenia kortyzolu i zwiększonego

wydalania jego metabolitów (17-OHCS) z moczem wobec niezahamowanego wydzielania ACTH. U wszystkich poza badaniem klinicznym i podstawowymi badaniami biochemicznymi oceniono stężenie ACTH, kortyzolu, androstendionu, S-DHEA w surowicy oraz wydalanych z moczem 17-OHCS, wolnych kortykosteroidów i 17-KS w warunkach podstawowych i w 4. dobie standardowego testu z dexametazonem. Również u wszystkich chorych oceniano gęstość mineralną kości za pomocą densytometrii DEXA oraz przeprowadzono obrazowanie przysadki za pomocą MR z zastosowaniem kontrastu. W każdym przypadku podejrzenia ektopowego wydzielania ACTH określono stężenia ACTH po stymulacji 100 µg CRH *i.v.* oraz po 100 µg oktreotydu *s.c.* Przeprowadzono również badania obrazowe klatki piersiowej i jamy brzusznej za pomocą spiralnej tomografii komputerowej (TK) oraz wykonano scyntyografię całego ciała (oktreoscan) z zastosowaniem oktreotydu znakowanego <sup>111</sup>In lub <sup>99m</sup>Tc. Ponadto u większości chorych określono dobowe wydalanie z moczem kwasu 5-OH-indolooctowego oraz stężenie chromograniny A w surowicy. W obliczeniach statystycznych zastosowano test *t*-Studenta (przy rozkładzie normalnym), nieparametryczny test Kołmogorowa-Smirnowa, a w przypadku oceny korelacji — odpowiednie testy parametryczne i nieparametryczne oraz ocenę korelacji.

**Wyniki:** Spośród 77 pacjentów z ACTH-zależnym zespołem Cushinga u 12 chorych na podstawie wykazania znacznie podwyższonego stężenia ACTH (średnio 391,4 pg/ml), braku hamowania dexametazonem ( $< 50\%$ ) oraz braku przyrostu ACTH po stymulacji CRH (przyrost  $< 50\%$ ) rozpoznano zespół ektopowego wydzielania ACTH. U pozostałych 65 badanych rozpoznano chorobę Cushinga. Wśród pacjentów z chorobą Cushinga przeważały kobiety (w stosunku do mężczyzn jak 3:1), natomiast zespół ektopowego wydzielania ACTH

stwierdzono głównie u mężczyzn. Wymienione grupy nie różniły się pod względem średniej wieku, jak i średniego wskaźnika masy ciała (BMI). Istotnie statystycznie różnice wykazano natomiast w zakresie czasu utrzymywania się objawów hiperkortyzolemii — 4-krotnie krótszy okres choroby w zespole ektopowego wydzielania ACTH. W zespole tym wykazano również istotnie wyższe średnie stężenia ACTH, kortyzolu, 17-OHCS i androstendionu w porównaniu ze stwierdzanymi u pacjentów z chorobą Cushinga.

U 40 (62%) spośród 65 pacjentów z chorobą Cushinga wykazano obecność mikrogruczolaka, u 13 (20%) makrogruczolaka, a w 12 przypadkach (18%) w obrazowaniu MR nie stwierdzono zmian w przysadce. Mimo to 64 chorych poddano przezklinowej operacji przysadki: 44 pacjentów (67%) skutecznie operowano jednokrotnie, 8 — dwukrotnie, a 4 — trzykrotnie. W 20 przypadkach (31%) zabieg powikłany był niedoczynnością przysadki, a w 10 (15%) moczówką prostą. Z powodu braku skuteczności wielokrotnej operacji przysadki 5 chorych poddano radioterapii, a dwóch obustronnej adrenalectomii. U wszystkich leczonych z powodu choroby Cushinga uzyskano normalizację stężenia kortyzolu i 17-OHCS. 6 spośród 12 chorych przed ustaleniem rozpoznania zespołu ektopowego wydzielania ACTH poddano przezklinowej eksploracji siodła tureckiego, podczas której w 4 przypadkach usunięto nieczynne hormonalnie gruczolaki przysadki (*incidentaloma*), a w pozostałych 2 — przysadka okazała się niezmienną. Źródłem ektopowego wydzielania ACTH u 2 chorych okazał się rak drobnokomórkowy płuc, u 4 rakowiak płuc, u 3 rakowiak grasicy, a w pojedynczych przypadkach: wyspiak dający przerzuty do wątroby oraz guz neuroendokryny odszczepionej tkanki nadnerczowej. W jednym przypadku nie udało się ustalić przyczyny ektopowego wydzielania ACTH. Obecność receptorów dla somatostatyny przy użyciu *oktreoscanu* zlokalizowano w przypadkach rakowiaków i wyspiaka. Nie uwidoczniło ich jednak w rakach drobnokomórkowych płuc. Podskórne wstrzyknięcie 100 µg oktreotydu (Sandostatin) u większości chorych obniżyło o ponad 50% stężenie ACTH. Zastosowanie u nich oktreotydu o przedłużonym działaniu (Sandostatin LAR) doprowadziło do normalizacji ACTH i kortyzolu, a w dwóch przypadkach poziomu kwasu 5-OH-indoloocetowego oraz chromograniny A i w konsekwencji poprawy klinicznej. Leczenie to stanowiło przygotowanie do operacyjnego usunięcia guzów płuc i grasicy wydzielających ACTH. U większości chorych zabieg okazał się skuteczny.

#### Wnioski:

1. W rozpoznawaniu przyczyn ACTH-zależnego zespołu Cushinga ułatwia zestawienie przebiegu klinicznego z oznaczeniami hormonalnymi i wynikami badań obrazowych.
2. Leczenie ACTH-zależnego zespołu Cushinga powinno polegać na operacyjnym usunięciu źródła nadmiernego wydzielania kortykotropiny:
  - a. gruczolaka przysadki w chorobie Cushinga;
  - b. tkanki nowotworowej ektopowo wydzielającej ACTH z płuc, lub jamy brzusznej.
3. Przedoperacyjne zastosowanie blokerów steroidogenezy nadnerczowej
  - a. zmniejsza liczbę powikłań pooperacyjnych;
  - b. zwiększa prawdopodobieństwo wyleczenia.
4. W zespole ektopowego wydzielania ACTH przedoperacyjne stosowanie analogów somatostatyny zwykle hamuje wydzielanie ACTH i prowadzi do poprawy stanu klinicznego, może też być wykorzystywane w leczeniu przewlekłym.
5. Zespół ektopowego wydzielania ACTH może przebiegać ze współistnieniem *incidentaloma* przysadki.

## Difficulties in the diagnosis and the treatment of ACTH-dependent Cushing syndrome

Wojciech Zgliczyński<sup>1</sup>, Piotr Zdunowski<sup>1</sup>, Przemysław Witek<sup>1</sup>, Grzegorz Zieliński<sup>2</sup>, Jan Podgórski<sup>2</sup>, Andrzej Pietraszek<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Military Institute of Health Services, Warsaw

<sup>3</sup>Institute of Oncology, Warsaw

In case of untreated Cushing's Syndrome 5-yr mortality reaches 50%. Difficulties during diagnostic and therapeutic process in the ACTH-dependent Cushing's Syndrome concerns mainly localization of the source of pathological ACTH secretion. It is known, that in about 85% cases the source of excessive ACTH secretion is adenoma originating from intrasellar corticotrophs, but in 15% the source of pathological ACTH secretion is ectopic. To those cases belongs bronchial carcinoma, less common carcinoids and islet carcinoma or other neoplasms originated from APUD system. In the pituitary more in than 80% we can expect microadenoma, in the number a half with diameter less than 5 mm, what is borderline of recent MR imaging resolution.

**Aim** of the study was evaluation of the efficacy of diagnosis and therapy of ACTH-dependent Cushing's Syndrome.

**Material** consists of 77 patients (50 F and 27 M) aged 16–63 yrs (mean 38.4) with ACTH-dependent Cushing's Syndrome diagnosed 1998–2005.

**Methods:** ACTH-dependent Cushing's Syndrome was diagnosed basing on excessive serum cortisol concentration and excessive urinary excretion of its metabolites in the presence of unsuppressed ACTH secretion. In all cases it was assessed serum levels of ACTH, cortisol, androstenedione, DHEA-S, and 24-hr urinary excretion of 17-OHCS and 17-KS in basal conditions, as well as at the 4<sup>th</sup> day of standard dexamethasone test. Additionally, in all cases we performed contrast enhanced pituitary MR imaging and axial and peripheral DEXA bone densitometry. In all cases of probable ectopic ACTH syndrome we assessed ACTH after CRH stimulation, as well as after inhibition with 100 µg octreotide s.c. Detailed imaging of chest and abdomen with contrast-enhanced CT was performed. Additionally <sup>111</sup>In-octreotide whole body scintigraphy was done. In most of these cases we assessed concentration of chromogranin A and diurnal excretion of 5HIAA. We used parametric and non-parametric tests to compare groups when applicable, and commercial packet Statistica to calculate correlations was used.

**Results:** In the group of 77 patients with ACTH-dependent Cushing's Syndrome ectopic ACTH secretion was diagnosed in 12 cases (based on extremely high ACTH level — mean 391.4 pg/ml, which do not show suppression with dexamethasone, and do not increases after CRF stimuli). In the rest of described group (65 patients) Cushing's disease was diagnosed. In the later group women outnumber men (ratio 3:1), whereas ectopic ACTH was diagnosed mainly in men (8:1). Both of the groups do not differ statistically in age and body mass index. Statistically significant differences in duration of symptoms of hypercortisolaemia as well as in mean plasma cortisol, ACTH, androstenedione and urinary excretion of 17-OHCS was shown.

In group with Cushing's disease pituitary microadenoma was diagnosed in 40 (62%) patients and macroadenoma was diagnosed in 13 cases (20%). In 12 (18%) cases adenoma was not found in MR imaging. Patients with pituitary adenoma was treated surgically (64 cases). Transsphenoidal adenomectomy was successful for the first time in 44 (67%) cases, in 8 performed twice and in 4 three

times. In 20 cases (31%) operation led to pituitary deficiency and in 10 (15%) to diabetes insipidus. All patients with Cushing's disease reached normocortisolaemia and urinary excretion of 17-OHCS within reference range.

Six of twelve patients with ectopic ACTH syndrome underwent transsphenoidal exploration of sella — in 4 cases inactive adenoma (incidentaloma) we removed and in 2 cases pituitary was unchanged. The sources of ectopic ACTH secretion was bronchial carcinoma (2 cases), carcinoids localized in lungs (4 cases) and carcinoid of the thymus (3 cases), islet cell cancer metastizing to liver, neuroendocrine retroperitoneal tumor. In one case the source of ACTH secretion was not localized. Carcinoids and islet cell carcinoma have somatostatin receptors as showed using scintigraphy with somatostatin analog (octreoscan). Test with subcutaneous injection of 100 µg octreotide (Sandostatin) in most cases inhibited ACTH secretion by more than 50%. In this group treatment with long-acting somatostatin analog (Sandostatin LAR) led to fall of ACTH and cortisol concentration to reference range and significant clinical improvement.

#### Conclusions:

1. Diagnosis of ectopic ACTH syndrome is facilitated by parallel clinical evaluation along with hormonal assessments and visualization.
2. Therapy of ACTH-dependent Cushing's Syndrome should be surgical, dependent on the localization of the source of ACTH.
3. Pretreatment with steroidogenesis inhibitors reduces postoperative complications and improves surgery outcome.
4. In case of ectopic ACTH syndrome therapy with somatostatin analogs usually inhibits ACTH secretion and improves clinical outcome. This therapy could be prolonged.
5. Ectopic ACTH can occur simultaneously with pituitary incidentaloma.

### S3.02. Choroba Cushinga: wyniki leczenia operacją przezklinową

Włodzimierz Liebert<sup>1</sup>, Janusz Szymaś<sup>2</sup>, Ryszard Waśko<sup>3</sup>,  
Bartłomiej Kopaczewski<sup>1</sup>, Krzysztof Michałek<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Neurochirurgii i Neurotraumatologii, A.M., Poznań

<sup>2</sup>Pracownia Patologii Neurochirurgicznej Katedry Patomorfologii, A.M., Poznań

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Endokrynologii Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, A.M., Poznań

Gruczolaki przysadki wydzielające nadmiernie ACTH są najczęstszą przyczyną choroby Cushinga, zwykle są to mikrogruczolaki. Objawy kliniczne choroby Cushinga są wywołane nadmiarem hormonów kory nadnerczy, przede wszystkim kortyzolu. Operacja z dojścia przez zatokę klinową jest leczeniem z wyboru i według danych z piśmiennictwa remisję choroby uzyskuje się 64–90% przypadków.

**Celem pracy** jest ocena wyników leczenia chirurgicznego przezklinowego gruczolaków przysadki powodujących chorobę Cushinga. **Materiał i metody:** W okresie od 1993 do kwietnia 2006 roku leczono 29 chorych z chorobą Cushinga drogą przez nos i zatokę klinową. W grupie tej były 24 (83%) kobiety i 5 mężczyzn w wieku od 21 do 58 lat (śr. wieku 39,11 ± 11,17). Rozpoznanie choroby dokonano na podstawie objawów klinicznych, braku supresji stężenia kortyzolu w trakcie testu hamowania z dexamethasonem, zwiększonego wydzielania wolnego kortyzolu w dobowej zbiórce moczu (UFC), podwyższonego stężenia kortyzolu i ACTH. Wielkość guza oceniano na podstawie badania MR zgodnie z klasyfikacją Hardego i Wilsona. Stężenia kortyzolu oznaczano po 3–6 dniach po zabiegu operacyjnym, a następnie w okresie od 3 do 6 miesięcy i co roku od leczenia operacyjnego.

**Wyniki:** Remisję choroby (ustąpienie objawów klinicznych i prawidłowe stężenie kortyzolu) uzyskano u 17 (85%) spośród 20 chorych z mikrogruczolakiem i u 4 z 5 chorych z makrogruczolakiem (w 1 przypadku guz obejmował zatokę jamistą). W całej analizowanej grupie 25 chorych (z mikro/makrogruczolakiem) wyleczenie potwierdzono u 21 (84%) pacjentów. U 5 chorych wykonano reoperację (brak normalizacji stężenia kortyzolu po pierwszej operacji). Badaniem histologicznym w barwieniu HE wszystkie gruczolaki były zasadochłonne. U 4 chorych z prawidłowym badaniem MR dokonano eksploracji przedniego płata przysadki. Śródoperacyjnie w żadnym przypadku nie stwierdzono mikrogruczolaka. W badaniu histologicznym wykazano prawidłowe utkanie gruczolu przysadki w 3 przypadkach, a w jednym rozlaną hiperplazję.

**Wnioski:** Przeklinowa operacja w chorobie Cushinga jest bezpieczną i skuteczną metodą leczenia. Reoperacja jest wskazana w przypadku niedoszczętnego usunięcia gruczolaka.

### Cushing's disease: results of transsphenoidal surgery

Włodzimierz Liebert<sup>1</sup>, Janusz Szymaś<sup>2</sup>, Ryszard Waśko<sup>3</sup>,  
Bartłomiej Kopaczewski<sup>1</sup>, Krzysztof Michałek<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery University of Medical Sciences, Poznań

<sup>2</sup>Department of Pathology University of Medical Sciences, Poznań

<sup>3</sup>Department of Endocrinology, Internal Disease and Metabolism University of Medical Sciences, Poznań

**Introduction:** Adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-secreting pituitary adenomas, typically microadenomas, are the most common cause of Cushing's disease. The clinical features of Cushing disease are the results of glucocorticoid and androgen excess. Transsphenoidal microsurgery is the treatment of choice with reported remission rates of 64 to 90%.

**The aim** of our study is to evaluate the outcome of transsphenoidal surgery pituitary adenoma causing Cushing's disease.

**Material and methods:** Between 1993 and April 2006, 29 patients with Cushing's disease underwent endonasal transseptal transsphenoidal surgery. There were 24 (83%) females and 5 (17%) males, ranging in age from 21 to 58 (mean age 39.11 ± 11.17 years). Diagnosis was based on the clinical signs and failure to suppress plasma cortisol levels during the overnight dexamethasone suppression test, elevated daily urinary free cortisol (UFC), elevated plasma cortisol levels and elevated ACTH concentration. Tumor size was evaluated by MRI, according to Hardy and Wilson classification. Postoperative evaluation was performed 3–6 days after operation and 3–6 months and then every year. Remission was established based on reversal of the clinical symptoms and a return to normal cortisol level.

**Results:** Clinical and biochemical cure was achieved in 17 (85%) of 20 patients with microadenomas and in 4 of 5 cases with macroadenomas (one adenoma invaded to cavernous sinus). The overall remission (21 of 25 micro- and macroadenomas) rate was 84%. Five patients underwent reoperation because of previous surgical failure. All adenomas were basophilic with hematoxylin and eosin staining. In four patients MRI was normal. In this group transsphenoidal exploration of the pituitary gland was carried out and did not reveal any microadenoma. No abnormal tissue was found in three cases. Diffuse corticotrophic hyperplasia was present in one patient.

**Conclusions:** Transsphenoidal surgery for Cushing's disease is safe and effective treatment. Reoperations are indicated after initial surgical failures.

### S3.03. „Cichy” kortykotropinoma

Marek Pawlikowski, Jolanta Kunert-Radek, Maciej Radek

Zakład Neuroendokrynologii i Klinika Endokrynologii Katedry Endokrynologii, Klinika Neurochirurgii i Chirurgii Nerwów Obwodowych, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Cel pracy:** Celem pracy była ocena gruczolaków przysadki immunopozytywnych dla ACTH, ze szczególnym uwzględnieniem tych, które nie manifestują się jako choroba Cushinga.

**Materiał i metody:** 131 gruczolaków przysadki usuniętych operacyjnie było badanych immunohistochemicznie na skrawkach parafinowych na obecność hormonów przysadkowych włącznie z ACTH. W części guzów (73) wykonywano także odczyn z użyciem przeciwciała anti-PCNA.

**Wyniki:** W 26 przypadkach (19,8%) wykryto dodatni odczyn immunohistochemiczny na ACTH. Trzydzieści guzów manifestowało się klinicznie jako choroba Cushinga (w tym 1 przypadek zespołu Nelsona). W 13 przypadkach, mimo pozytywnego odczynu na ACTH, nie stwierdzono cech hiperkortyzolemii (w szeregu przypadkach stwierdzono nawet wtórną niedoczynność kory nadnerczy). Guzy te rozpoznano jako tzw. „ciche” kortykotropinoma („silent” corticotropinoma). W 8 przypadkach ACTH był jedynym hormonem występującym w guzie, a w pozostałych stwierdzono współwystępowanie z PRL (4 przypadki), FSH (2 przypadki), LH (1 przypadek) lub wolną podjednostką  $\beta$ -LH (1 przypadek). Cztery gruczolaki o charakterze „cichych” kortykotropinoma były guzami nawrotowymi, podczas gdy w grupie z chorobą Cushinga dotyczyło to tylko 1 guza u chorej z zespołem Nelsona. „Ciche” kortykotropinoma wykazywały bardzo wysoką ekspresję markera proliferacji PCNA ( $6,47 \pm 2,74\%$ ). Wartość ta była znacznie wyższa od obserwowanych w pozostałych typach gruczolaków przysadki, włącznie z kortykotropinoma występującymi u chorych z chorobą Cushinga ( $2,4 \pm 1,1\%$ ).

#### Wnioski:

1. „Ciche” kortykotropinoma nie stanowią dużej rzadkości.
  2. Ten typ gruczolaka ma duży potencjał proliferacyjny i powinien być uważany za agresywny.
  3. Proponujemy hipotezę, że — podobnie jak w zespole Nelsona — brak hiperkortyzolemii, a zwłaszcza hipokortyzolemia — sprzyjają nasilonemu wzrostowi guzowych kortykotropów.
- Pytanie, dlaczego guzy te mimo nasilonej wewnątrzguzowej ekspresji ACTH nie powodują hiperkortyzolemii wymaga dalszych badań na poziomie molekularnym.

### „Silent” corticotropinoma

Marek Pawlikowski, Jolanta Kunert-Radek, Maciej Radek

Departments of Neuroendocrinology and Clinical Endocrinology, Chair of Endocrinology and Department of Neurosurgery and Surgery of Peripheral Nerves, Medical University, Lodz

**Aim of the study:** The aim of the study was to evaluate the ACTH-immunopositive pituitary adenomas, especially those without manifestation of Cushing’s disease.

**Material and methods:** 131 pituitary adenomas removed surgically were immunostained on paraffin sections with antibodies against the pituitary hormones, including the anti-ACTH antibody. Seventy three tumors were also immunostained with anti-PCNA antibody.

**Results:** ACTH immunopositivity was found in 26 cases (19.8%). Twelve ACTH-immunopositive tumors manifested themselves as Cushing’s disease (including 1 case of Nelson’s syndrome). In the remaining 14 cases in spite of the positive immunostaining for ACTH of the tumor cells, no features of hypercortisolism were observed (in several cases even hypocortisolism was found). Thus, those tumors represented so-called “silent” corticotropinomas. In 8 cases ACTH was the only pituitary hormone expressed in the tumoral cells, while in the remaining 6 cases ACTH was co-expressed with prolactin (4 cases), FSH (2 cases), LH (1 case) or free  $\beta$ -LH (1 case). Four “silent” corticotropinomas were recurrent tumors, whereas in group with Cushing’s disease only 1 tumor (in a patient with Nelson’s syndrome) was recurrent. The “silent” corticotropinomas exhibited very high expression of the proliferation marker, PCNA ( $6.47 \pm 2.74\%$ ). This value was statistically higher from PCNA indices calculated for all other types of pituitary adenomas including corticotropinomas in patients with Cushing’s disease ( $2.4 \pm 1.1\%$ ).

#### Conclusions:

1. “Silent” corticotropinomas are not very rare.
2. This adenoma type has a high proliferative potential and should be considered as aggressive.
3. It is hypothesized that — like in Nelson’s syndrome — the lack of hypercortisolism or even presence of hypocortisolism favors the exaggerated growth of tumoral corticotrophs.

The answer why those tumors do not produce hypercortisolism in spite of enhanced intratumoral ACTH expression needs further studies at the molecular level.

## SESJA IV — Guzy neuroendokrynne

### S4.01. Wyniki leczenia nowotworów typu GEP z zastosowaniem $^{90}\text{Y}$ -DOTA-TATE

Jolanta Kunikowska<sup>1</sup>, Leszek Królicki<sup>1</sup>, Paweł Ochman<sup>1</sup>, Renata Mikołajczak<sup>2</sup>, Dariusz Pawlak<sup>2</sup>, M. Kobylewska<sup>1</sup>, J. Mączewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Medycyny Nuklearnej, SP CSK AM, Warszawa

<sup>2</sup>Ośrodek Badawczo-Rozwojowy OBRI POLATOM, Świerk

Częstość występowania guzów pochodzenia neuroendokrynnego ocenia się na 2% wszystkich nowotworów przewodu pokarmowego.

W latach 80. odkryto zwiększoną ekspresję receptorów dla somatostatyny na komórkach tego typu nowotworów. Pozwoliło to na zastosowanie pochodnych somatostatyny w diagnostyce, a następnie w terapii.

**Celem** doniesienia jest przedstawienie efektów terapii znakowaną izotopowo pochodną somatostatyny  $^{90}\text{Y}$ [DOTA<sup>0</sup>, D-Phe<sup>1</sup>, Tyr<sup>3</sup>] octreotate (DOTATATE).

**Materiał i metody:** Terapię przeprowadzono u 10 pacjentów z rozsiały procesem nowotworowym pochodzenia neuroendokrynnego; u 5 wcześniej stosowano chemioterapię. Przed badaniem wykonywano ocenę parametrów morfologicznych krwi, wydolności nerek i wątroby, a także aktywności procesu chorobowego — CgA. U wszystkich wykonano CT jamy brzusznej oraz scyntyografię z zastosowaniem  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE. Całkowita dawka terapeutyczna  $^{90}\text{Y}$ -DOTATATE została określona na podstawie powierzchni ciała —  $7,4 \text{ GBq/m}^2$  w 4 kursach terapeutycznych przeprowadzanych co 4–6 tygodni. W celu ograniczenia nefrotoksycznego działania radioizotopu itru zastosowano dożylny wlew roztworu aminokwasów.



**Wyniki:**

1. Regresję zmian uzyskano u 5 osób — zmniejszenie liczby i wymiarów zmian w badaniach obrazowych, spadek CgA.
2. Stabilizację procesu obserwowano u 3 osób — stabilny obraz w badaniach obrazowych, spadek CgA.
3. 2 osoby zmarły.

U żadnego z pacjentów nie obserwowano zmian funkcji nerek.

U 1 osoby w następnej dobie po podaniu <sup>90</sup>Y-DOTATATE obserwowano zespół lizy guza.

U 3 osób poziom leukocytów i płytek krwi w czasie całej terapii utrzymywał się na tym samym poziomie (pacjenci bez wcześniejszej chemioterapii).

U 1 osoby z bardzo zaawansowanym procesem nowotworowym nie obserwowano po podaniu izotopu spadku poziomu leukocytów, natomiast nastąpił znamieny spadek płytek z 220 tys./mm<sup>3</sup> do 47 tys./mm<sup>3</sup>, 2 miesiące od podania radioizotopu nastąpił zgon (pacjent otrzymywał w przeszłości liczne kursy chemioterapii, ostatni miesiąc przed włączeniem leczenia izotopowego).

U pozostałych 6 pacjentów obserwowano spadek leukocytów; u 2 osób poziom leukocytów spadł poniżej 2 tys./mm<sup>3</sup> (obie osoby wcześniej otrzymywały chemioterapię, leczenie izotopowe włączono u pierwszej osoby 2 miesiące, u drugiej 2,5 miesiąca po ostatnim kursie chemioterapii) i utrzymywał się. U pozostałych 4 osób zanotowany spadek leukocytów wynosił do 3,5 tys./mm<sup>3</sup> i był przejściowy.

Zaobserwowano spadek płytek krwi u 6 osób, przy czym trombocytopenia wystąpiła jedynie u 1 osoby (po chemioterapii).

**Wnioski:**

1. U 8/10 pacjentów z rozsiałym procesem nowotworowym uzyskano remisję lub stabilizację procesu chorobowego.
2. Należy bardzo uważnie monitorować parametry morfologiczne krwi u pacjentów po chemioterapii; należy rozważyć, jak długi powinien być okres pomiędzy chemioterapią a włączeniem leczenia izotopowego.
3. Wlew mieszanki aminokwasów stosowany przed, w czasie i po terapii izotopowej jest skuteczny w ograniczeniu działania nefrotoksycznego.

*This study was supported in part by Research Grant for Scientific Research (3666/P.05-06/05) from Ministry of Health and Ministry of Education.*

## Results of <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE therapy in patients with neuroendocrine tumors — own experience

Jolanta Kunikowska<sup>1</sup>, Leszek Królicki<sup>1</sup>, Paweł Ochman<sup>1</sup>, Renata Mikołajczak<sup>2</sup>, Dariusz Pawlak<sup>2</sup>, M. Kobylewska<sup>1</sup>, J. Mączewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nuclear Medicine Dept., Medical Academy, Warsaw

<sup>2</sup>OBRI POLATOM, Świerk

Neuroendocrine tumors compose approximately 2% of gastrointestinal track carcinomas. In 80's expression of somatostatin receptors on that type cells was discovered. That discovery gives possibility for using it in diagnosis and in therapy.

**The aim of the study** was to assess response of targeted radionuclide therapy using radiolabelled somatostatin analog <sup>90</sup>Y[DOTA<sup>0</sup>, D-Phe<sup>1</sup>, Tyr<sup>3</sup>] octreotate (DOTATATE).

**Material and methods:** 10 patients with diffuse neuroendocrine tumors were enrolled (5 women, 5 men, av. age 59.7 ± 11.3). Before therapy blood tests for hematology, kidney and liver function and CoA were done. All patients underwent CT scans and scintigraphy with <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE. Treatments of <sup>90</sup>Y[DOTA<sup>0</sup>, D-Phe<sup>1</sup>, Tyr<sup>3</sup>] octreotate (DOTATATE) were repeated 4–6 weeks apart up to total calculated doses — 200 mCi/m<sup>2</sup>; per one course we usually used 100 mCi. Mixed amino acids infusion over 8 hours was used for kidney protection.

**Results:**

1. Regression of disease was observed in 5 patients — decreasing of size and number of metastases in imaging methods and decreasing CoA level (PR).
2. Stable disease was observed in 3 patients — stable size and number of metastases in imaging methods and decreasing CoA level (SD).
3. 2 patients died.

No nephrotoxicity was observed.

WBC and PLT level was stable during therapy in 3 patients (without chemotherapy). In 1 patient with very diffuse disease decrease of PLT level was observed after therapy: on onset of therapy 220 × 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>, after first course 47 × 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>, 2 months after the beginning of therapy patient died (patient with many courses of chemotherapy in the past, last course month before radioisotope therapy). In 6 patients leucopenia was observed (WBC level < 4 × 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>) but serious neutropenia < 2 × 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> was observed in 2 patients with previous chemotherapy.

PLT level decreased in 5 patients, but thrombopenia was observed only in 1 patient (with chemotherapy in the past).

**Conclusions:**

1. PR and SD were observed in 8/10 patients with diffuse neuroendocrine tumors.
2. In patients after chemotherapy we must often test hematological parameters; the length of period between chemotherapy and radioisotope therapy is still in question.
3. Mixed amino acids infusion is good protection for kidney.

*This study was supported in part by Research Grant for Scientific Research (3666/P.05-06/05) from Ministry of Health and Ministry of Education.*

## S4.02. Diagnostyka obrazowa i leczenie radioizotopowe chorych na GEP/NET

Jarosław B. Cwikla<sup>1</sup>, Anna Nasierowska-Guttmejer<sup>2</sup>, Nina Seklecka<sup>3</sup>, Krzysztof G. Jeziorski<sup>4</sup>, Renata Mikołajczak<sup>5</sup>, Dariusz Pawlak<sup>5</sup>, Jerzy Walecki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Diagnostyki Radiologicznej i Obrazowej CMKP, Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Patomorfologii CSK MSWiA, Warszawa

<sup>3</sup>Pracownia Medycyny Nuklearnej CSK MSWiA, Warszawa

<sup>4</sup>Klinika Nowotworów Górnego Odcinka Układu Pokarmowego, Centrum Onkologii — Instytut, Warszawa

<sup>5</sup>OBRI POLATOM, Świerk

**Wprowadzenie:** Dla guzów pochodzących z układu pokarmowego GEP/NET przyjęto jednolitą terminologię, określając 4 kategorie zmian nowotworowych na podstawie klasyfikacji WHO z 2000 roku.

**Cel:** Celem pracy było przedstawienie metod diagnostyki obrazowej stosowanych u chorych z potwierdzonymi histologicznie GEP/NET oraz terapii radioizotopowej w grupie chorych z zaawansowanym nowotworem.

**Materiał i metody:** Materiał stanowiło 153 chorych z potwierdzonym histologicznie GEP/NET (średnia wieku 53,3). W grupie było 87 kobiet. Badania i leczenie radioizotopowe prowadzone były w ramach bieżącej diagnostyki i następnego leczenia w latach 04/2002–04/2006. Badania obrazowe obejmowały badania anatomiczne i czynnościowe (scyntygraficzne). Leczenie obejmowało różnorodne typy leczenia od chirurgicznego, chemioterapii, bioterapii (analogi somatostatyny), po celowaną terapię radioizotopową. Badania anatomiczne obejmowały: USG, EUS, TK i MR. Badania czynnościowe to głównie scyntygrafia receptorów somatostatynowych (SRS), MIBG oraz FDG PET.

**Wyniki:** Uwzględniając lokalizację pierwotną, guzy *foregut* były stwierdzone u 76 chorych (50%), *midgut* u 72 chorych (47%) oraz *hindgut* u 5 chorych (3%). Uwzględniając klasyfikację WHO,

NETWD stwierdzono u 19 chorych (WHO typ 1a i 1b — 6 przypadków). Diagnostyka obejmowała głównie badania endoskopowe w przypadku guzów *foregut* i *hindgut* (EUS). We wszystkich przypadkach leczeniem z wyboru było usunięcie guza w całości.

Guzy o typie NECLM (WHO typ 2) był stwierdzony u 98 chorych. W przypadku guzów *foregut* badania endoskopowe (EUS) uzupełniono o badania TK/MR oraz SRS. Badania tomograficzne wykonano w celu oceny rozległości nowotworu. W przypadku guzów *midgut* przeprowadzono badanie anatomiczne TK oraz SRS w celu ustalenia ogniska pierwotnego oraz rozległości choroby. Leczenie radioizotopowe za pomocą  $^{90}\text{Y}$  DOTA TATE było przeprowadzone w 38 przypadkach. Dodatkowo u 29 chorych z guzami hormonalnie czynnymi użyto Sandostatin LAR. Mediana klinicznej obserwacji wynosiła 17,6 miesiąca. W grupie tej 16 chorych zmarło (16%). Trzecia grupa, NECHM (WHO typ 3) liczyła 29 chorych, 18 chorych z guzami *foregut* oraz 11 z *midgut*. Główne badanie diagnostyczne z uwagi na często uogólnioną postać nowotworu to badania anatomiczne TK/MR. Badanie SRS w zdecydowanej większości przypadków negatywne, z uwagi na brak ekspresji receptora sst. Bardzo dobrym badaniem w tej grupie chorych, w ocenie aktywności i rozległości nowotworu jest FDG PET. Leczenie uwzględniające chirurgię zmiany pierwotnej było zastosowane u 14 chorych, a następową chemioterapię — w 17 przypadkach. Mediana klinicznej obserwacji wynosiła 7 miesięcy, 19 chorych zmarło (69%).

Czwartą grupę NECHM/Adeno-ca, czyli mieszaną postać nowotworu stwierdzono u 7 chorych. W diagnostyce obrazowej stosowano badania anatomiczne EUS, TK/MR oraz SRS w zdecydowanej większości negatywna. Mediana klinicznej obserwacji wyniosła 17 miesięcy, 6 chorych zmarło w trakcie obserwacji (85%).

**Wnioski:** Diagnostyka obrazowa GEP/NET jest procesem złożonym z wykorzystaniem metod anatomicznych i czynnościowych. Diagnostyka i leczenie radioizotopowe powinno być prowadzone w wyspecjalizowanych jednostkach posiadających doświadczony personel oraz wymaganą bazę diagnostyczno-terapeutyczną.

## Diagnostic imaging abd radionuclide treatment in patients with GEP-NET

Jarosław B. Ćwikła, Anna Nasierowska-Guttmejer, Krzysztof G. Jeziorski, Nina Seklecka, Renata Mikołajczak, Dariusz Pawlak, Jerzy Walecki

Szpital MSWiA, Warszawa

**Introduction:** The WHO classification of gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumours (GEP/NET) consider uniform scheme of classification which is applied for all anatomical sites, identifying 4 categories.

**Aim:** The aim of the study was review of diagnostic imaging approach in patients with confirmed GEP/NET, and also results of radionuclide treatment in group of patients with extensive disease.

**Material and methods:** The case records of 153 patients who had confirmed GEP/NET (mean age 53.3). All clinical, biochemical and imaging examination were performed as routine clinical work-up since 04/2002 to 04/2006. The imaging techniques consist of anatomical and functional approaches (scintigraphy). The treatment consist of surgery, chemotherapy, and biotherapy (somatostatin analogues), and radionuclide therapy. Anatomical imaging consists of US, EUS, CT and MR. Functional imaging consists of somatostatin receptor scintigraphy (SRS), MIBG and FDG PET.

**Results:** The primary localization foregut tumours had 76 patients (50%), midgut 72 patients (47%) and hindgut 5 subjects (3%). Con-

sider WHO classification there were 19 cases of NETWD (WHO 1a and 1b — 6 cases). Diagnostic approach consider endoscopy in foregut and hindgut tumours (EUS). The treatment of choice was surgical or endoscopic removal of the tumour.

NECLM (WHO 2) had 98 patients, in those with foregut tumours EUS followed by CT/MR and SRS were used in each case. Tomographic imaging was used to assess tumour extent. Patients with midgut tumours had CT and SRS as routine diagnostic imaging approach. In those patients CT and SRS were used to find a tumour and assess tumour extent. A radionuclide treatment using  $^{90}\text{Y}$  DOTA TATE was performed in 38 patients. Additional in 29 patients with secretor tumours biotherapy using Sandostatin LAR was used. Median clinical follow-up was 17.6 months, 16 patients died (16%). Third group of patients (NECHM, WHO 3) consist of 29 patients, 18 of them with foregut and 11 with midgut tumours. Diagnostic imaging approach consists of CT/MR. SRS was in most cases negative, due to lack of expression of sst receptor. Aggressive behaviour of this type of the tumours is easy detected in PET imaging using standard FDG. The surgery with the aim of cure was performed in 14 patients most of the patients with this group of patients had chemotherapy. Median follow-up was 7 months, 19 patients died during follow-up (69%).

Last group of patients NECHM/Adeno-ca consist of 7 patients. Diagnostic imaging approach consists of CT/MR and SRS (most cases negative). Median follow-up was 17 months, 6 patients died during clinical follow-up (85%).

**Conclusion:** Diagnostic imaging of GEP/NET consider anatomical and functional techniques, which should be read together. Overall diagnostic approach including clinic, biochemistry and imaging, and also therapy including radionuclide therapy should be performed in centres with a specialist interest of GEP/NET tumours.

## S4.03. Chirurgiczne leczenie neuroendokrynnych guzów trzustki — doświadczenie jednego ośrodka

Andrzej Cichocki<sup>1</sup>, M. Józwiak<sup>1</sup>, Jarosław B. Ćwikła<sup>2</sup>, Anna Nasierowska-Guttmejer<sup>1</sup>, K. Roszkowska<sup>1</sup>, Wojciech Zgliczyński<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centrum Onkologii — Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

<sup>2</sup>Centralny Szpital Kliniczny Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji, Warszawa

<sup>3</sup>Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

**Cel pracy:** Neuroendokrynne guzy trzustki stanowią stosunkowo nieliczną grupę guzów tego narządu. Potencjał ich złośliwości jest zróżnicowany, ale generalnie rokowanie jest tu lepsze niż w rakach gruczołowych. Celem naszej pracy była ocena wyników leczenia chirurgicznego neuroendokrynnych guzów trzustki leczonych w naszej klinice w ciągu ostatnich 11 lat.

**Materiał i metody:** W latach 1995–2006 leczeniu chirurgicznemu z powodu neuroendokrynnych guzów trzustki zostało poddanych 37 chorych (stanowi to 15% wszystkich resekcji trzustki wykonanych w tym czasie w klinice). Materiał stanowiło 25 kobiet i 12 mężczyzn, średnia wieku wynosiła 54,2 lat (zakres 26–74 lat). 19 chorych miało guzy słabo zróżnicowane (rak neuroendokrynny), 12 miało guzy dobrze zróżnicowane, były 2 przypadki *insulinoma*, 1 przypadek *lipoma*, 1 przypadek *glucagonoma*, 1 przypadek *gastro-noma* i jeden guz trzustki wydzielający ACTH. W 5 przypadkach guzy trzustki stanowiły element zespołu MEN-1. W 27 przypadkach wykonano resekcję trzustki (pancreatoduodenektomia lub dystalna resekcja trzustki), w 4 przypadkach miejscowe wycięcie guza, w 6 przypadkach możliwe było tylko wykonanie zespołów omijających. W przypadkach, w których resekcja była radykalna

(R0) leczenie chirurgiczne było leczeniem jedynym. Chorzy, u których zabieg nie był radykalny i/lub mieli ogniska przerzutowe otrzymali chemioterapię, w jednym przypadku radioterapię z pól zewnętrznych, w trzech przypadkach leczenie radioizotopowe. Wszyscy pacjenci z guzami czynnymi hormonalnie przed operacją otrzymywali somatostatynę jako leczenie objawowe przygotowujące do zabiegu. Somatostatyna była kontynuowana u chorych, u których zabieg nie był radykalny.

**Wyniki:** W przebiegu pooperacyjnym wystąpił jeden zgon. Okres obserwacji wynosi 2 miesiące do 7 lat. We wszystkich guzach czynnych hormonalnie (VIPoma, zespół ACTH, 2 przypadki *insulinoma*, 1 przypadek *glucagonoma*) objawy kliniczne ustąpiły po zabiegu chirurgicznym. 23 chorych bez przerzutów wciąż żyje, w tym wszyscy chorzy z guzami dobrze zróżnicowanymi. 5 chorych, u których zabieg chirurgiczny nie był radykalny (R0) zmarło (przeżycie 1–5 lat). U 2 chorych, którzy otrzymali chemioterapię, choroba jest stabilna. 7 chorych, którzy otrzymali chemioterapię i/lub leczenia radioizotopowe wciąż żyje mimo progresji choroby.

**Wnioski:** Chorzy z neuroendokrynnymi guzami trzustki wymagają innej taktyki leczenia niż chorzy z rakiem gruczołowym. Guzy neuroendokrynnne mogą być wyleczone całkowicie lub też ich przebieg może być kontrolowany przez szereg lat nawet w przypadkach zaawansowanych. Leczenie chirurgiczne jest wskazane dla lepszej kontroli choroby nawet w przypadkach, gdzie niemożliwy jest zabieg radykalny. Chemioterapia, radioterapia i leczenie radioizotopowe mogą być przydatne w długotrwałej kontroli choroby nowotworowej przynajmniej w niektórych przypadkach z ogniskami przerzutowymi.

### Surgical treatment of pancreatic neuroendocrine tumors — single center experience

Andrzej Cichoński<sup>1</sup>, M. Józwiak<sup>1</sup>, Jarosław B. Ćwikła<sup>2</sup>, Anna Nasierowska-Guttmejer<sup>4</sup>, K. Roszkowska<sup>1</sup>, Wojciech Zgliczyński<sup>3</sup>

<sup>1</sup>The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Warsaw

<sup>2</sup>Central Clinical Hospital of the Ministry of Home Affairs and Administration, Warsaw

<sup>3</sup>Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw

**Aim of the study:** Neuroendocrine tumors of the pancreas constitute relatively small group of the tumors of this organ. Their malignancy potential is differentiated but generally the prognosis is better than in adenocarcinoma. Aim of our study was evaluation of the results of surgical treatment of pancreatic neuroendocrine tumors treated in our department during last 11 years.

**Material and methods:** Between 1995 and 2006, 37 patients with pancreatic neuroendocrine tumors underwent surgery (it is 15% of all pancreatic resections performed in our department at that time). There were 25 women and 12 men, mean age was 54.2 years (range 26–74 years). 19 patients had poorly differentiated tumors (neuroendocrine cancer), 12 had well differentiated tumors, there were 2 cases of insulinoma, 1 VIPoma, 1 glucagonoma, 1 gastrinoma and 1 pancreatic tumor excreting ACTH. In 5 patients the tumors were the elements of MEN-1 syndrome. In 27 cases we performed pancreatic resection (pancreatoduodenectomy or distal pancreatectomy), in 4 cases local excision of the tumor, in 6 cases only palliative bypass procedures were feasible. In patients in whom we achieved R0 resection, surgery was the only treatment. Patients, in whom surgery was either not radical or/and had metastatic disease, received chemotherapy, in one case external beam irradiation, in three cases radioisotope treatment. All patients with hormonally active tumors received preoperatively somatostatin as sympto-

matic treatment to prepare them to surgery. Somatostatin was continued in patients in whom surgery was not radical.

**Results:** There was one postoperative death. Follow-up period is 2 months to 7 years. In all hormonally active tumors (VIPoma, ACTH syndrome, 2 insulinomas, glucagonoma) clinical symptoms disappeared after surgery. 23 patients without metastatic disease are still alive, including all with well differentiated tumors. 5 patients in whom surgery was not radical died (survival: 1–5 years). In 2 patients who received chemotherapy the disease is stable. There are 7 patients still alive who received chemotherapy and/or underwent radioisotope treatment despite progression of the disease.

**Conclusion:** Patients with pancreatic neuroendocrine tumors require different approach than patients with adenocarcinoma. Neuroendocrine tumors can be cured or their course can be controlled for many years even in advanced cases. Surgery is indicated for better control of the disease even when radical resection is not possible. Chemotherapy, external beam radiotherapy and radioisotope treatment can be helpful in long term control of the disease even in some cases with metastases.

### S4.04. Ekspresja receptorów somatostatynowych w badaniach immunohistochemicznych i scyntygrafii receptorowej u chorych z guzami neuroendokrynnymi

Anna Biernacka<sup>1</sup>, Marcin Dobaczewski<sup>1</sup>, Jolanta Kunert-Radek<sup>1</sup>, Marek Pawlikowski<sup>1</sup>, Hanna Pisarek<sup>1</sup>, Jacek Kuśmierk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>2</sup>Katedra Medycyny Nuklearnej i Diagnostyki Obrazowej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Guzy neuroendokrynnne (NET) są rzadkimi, w większości złośliwymi nowotworami z komórek endokrynnych o różnej lokalizacji. 80% NET charakteryzuje się silną ekspresją receptorów dla somatostatyny (SSTR), co wzmacnia zainteresowanie wykorzystaniem analogów somatostatyny (SSTa) w diagnostyce i terapii tych nowotworów. Scyntygrafia SSTR (SPECT) umożliwia uwidocznienie pierwotnych i wtórnych ognisk choroby poprzez łączenie znakowanych radioizotopem SSTa z receptorem błonowym głównie typu 2 i 5. Możliwość oceny ekspresji wszystkich pięciu podtypów SSTR z jednoczesnym określeniem ich błonowej lub cytoplazmatycznej lokalizacji stwarza immunohistochemiczne badanie (IHC) *ex vivo* tkanki guza uzyskanej drogą operacji lub gruboigłowej biopsji.

**Cel pracy:** Zbadanie ekspresji SSTR w badaniach immunohistochemicznych i scyntygrafii receptorowej oraz ocena zbieżności wyników w obu analizowanych metodach.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 10 pacjentów z NET o różnej lokalizacji leczonych w Klinice Endokrynologii UM w Łodzi. Obliczono czułość, swoistość i wartości predykcyjne scyntygrafii receptorowej względem badania immunohistochemicznego.

**Wyniki:** Potwierdzono ekspresję SSTR w komórkach NET. 85% pacjentów IHC SSTR 2v3v5 (+) miało (+) SPECT. 66% pacjentów IHC SSTR 2v3v5 (-) miało SPECT (-). 85% pacjentów SPECT (+) wykazało w IHC SSTR 2v3v5 (+), a 66% pacjentów SPECT (-) było w IHC SSTR 2v3v5 (-).

**Podsumowanie i wnioski:** 33% pacjentów z NET, opierając się na ujemnym wyniku scyntygrafii, traci szansę na leczenie somatostatyną pomimo obecności właściwych receptorów. 15% pacjentów z NET na podstawie dodatniego wyniku scyntygrafii jest leczonych nieskutecznie z powodu braku właściwych receptorów. Wobec rozbieżności uzyskiwanych wyników scyntyografią receptorową i badanie immunohistochemiczne należy uznać za metody kom-

plementarne we wnioskowaniu o obecności SSTR w komórkach NET i prognozowaniu odpowiedzi chorych z NET na różne strategie leczenia z zastosowaniem analogów somatostatyny.

### Expression of somatostatin receptors visualized with immunohistochemistry and receptor scintigraphy in patients with neuroendocrine tumors

*Anna Biernacka<sup>1</sup>, Marcin Dobaczewski<sup>1</sup>,  
Jolanta Kunert-Radek<sup>1</sup>, Marek Pawlikowski<sup>1</sup>,  
Hanna Pisarek<sup>1</sup>, Jacek Kuśmierk<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine,  
Medical University, Lodz

**Background:** Neuroendocrine tumors are rare and in vast majority malignant endocrine-derived neoplasms expressing variety of localizations. 80% are characterized by intense expression of somatostatin receptors (SSTR) inspiring use of somatostatin analogs (SSTa) in diagnostic procedures and treatment of these tumors. SSTR scintigraphy (SPECT) facilitates visualization of primary and secondary locations of NET through binding of radiolabeled SSTa with membrane receptors, mostly of 2 and 5 type. Additionally,

immunohistochemistry (IHC) enables selective recognition of all five types of SSTR with possibility of subcellular localization in tissue obtained from surgical procedure and aspirating biopsy.

**The aim of the study** was to correlate the expression of SSTR determined with IHC and receptor scintigraphy techniques.

**Materials and methods:** The study was performed on group of 10 patients with NET admitted to Department of Endocrinology in Lodz. The sensitivity, sensibility and predictive values of SPECT regarding IHC were measured. The results of following study were analyzed in context of usefulness in classification of patients with NET to different methods of treatment utilizing SSTa.

**Results:** SSTR expression in NET cells was confirmed using IHC. 85% of patients IHC SSTR 2v3v5 (+) revealed (+) SPECT. 66% of patients IHC SSTR 2v3v5 (-) were SPECT (-). 85% of patients SPECT (+) were IHC SSTR 2v3v5 (+), whereas 66% pacjentów SPECT (-) revealed IHC SSTR 2v3v5 (-).

**Summary and conclusion:** 33% of patients with negative result of SPECT lose their chance to be treated with SSTa regardless of presence of appropriate SSTR in NET cells. 15% of patients with positive result of SPECT are treated inefficiently with SSTa due to lack of appropriate SSTR in NET cells. This study showed that due to low sensitivity and sensibility of SPECT in detecting of SSTR in NET cells, IHC and SPECT should be considered as a complementary methods in clinical assessment of NET patients.

## SESJA V — Neuroendokrynologia rozrodu i starzenia się

### S5.02. Neuroendokrynne i metaboliczne aspekty długowieczności

*Bogusława Baranowska, Wojciech Bik,  
Agnieszka Baranowska-Bik, Ewa Wolińska-Witort,  
Lidia Martyńska, Magdalena Chmielowska*  
Zakład Neuroendokrynologii Kliniczne Centrum Medyczne Kształcenia  
Poddyplomowego, Warszawa

**Wstęp:** Neuropeptydy i adipocytokiny odgrywają ważną rolę w kontroli metabolicznej homeostazy.

Zaburzenia w wydzielaniu adipocytokin takich jak adiponektyny, leptyny, rezystyny, TNF $\alpha$  jak również zaburzona aktywność neuropeptydów wpływających na centralną kontrolę łaknienia mogą prowadzić do insulinooporności i rozwoju zespołu metabolicznego, powikłań sercowo-naczyniowych i większego ryzyka przedwczesnej śmierci.

**Celem** badań jest ocena czynników neuroendokrynnych i metabolicznych w długowieczności, otyłości, zespole polycystycznych jajników.

**Materiał** obejmuje 194 kobiety: 78 stuletek, 21 starszych, 35 młodych, 40 otyłych i 20 kobiet z zespołem PCO.

Stężenie w osoczu adiponektyny, ghreliny, leptyny, insuliny, NPY (Neuropeptyd Y) oraz stężenie hormonów przysadkowych, nadnerczowych, gonadowych oznaczono metodami RIA.

Występowanie otyłości, nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, insulinooporności i cukrzycy było znacznie mniejsze w grupie stuletek w porównaniu z grupą starszych kobiet i otyłych.

Stężenie leptyny, NPY i insuliny w osoczu było istotnie niższe w grupie stuletek w porównaniu z grupą starych i otyłych kobiet. Natomiast stężenie adiponektyny było znacznie wyższe w porównaniu ze wszystkimi grupami badanymi, stężenie ghreliny u stula-

tek było znacznie niższe w porównaniu z grupą młodych i wyższe w porównaniu z grupą otyłych.

U kobiet szczupłych z zespołem PCO stężenie adiponektyny w osoczu było istotnie niższe niż u stuletek, ale wyższe niż u otyłych kobiet.

**Wnioski:**

1. Stan neuroendokrynny u stuletek znacznie różnił się w porównaniu z grupą starszych, młodych i otyłych kobiet.
2. Wyższe stężenie adiponektyny i niższe stężenie NPY w grupie stuletek w powiązaniu z ich stanem metabolicznym może odgrywać protekcyjną rolę w mechanizmie długowieczności.

### Neuroendocrine and metabolic aspects of longevity

*Bogusława Baranowska, Wojciech Bik, Agnieszka Baranowska-Bik, Ewa Wolińska-Witort, Lidia Martyńska, Magdalena Chmielowska*

Neuroendocrinology Department, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

**Introduction:** It has been reported that some neuropeptides and adipocytokines play a pivotal role in the control of metabolic homeostasis.

Deregulation in secretion of adipocytokines such as adiponectin, leptin, resistin, TNF $\alpha$ , or/and disturbed activity of neuropeptides involved in the central control of food intake may lead to insulin resistance and to development of metabolic syndrome, cardiovascular complications and major risks of early death.

**The aim** of this study is to evaluate the role of neuroendocrine and metabolic factors in longevity, obesity and polycystic ovary syndrome (PCOS).

**The material** consisted of 194 women: 78 extremely old women, centenarians, 21 early elderly women, 35 younger women, 40 obese women, 20 PCOS women.

Plasma adiponectin, ghrelin active, leptin, insulin, NPY (neuropeptide Y), pituitary, adrenal and gonadal hormones concentrations were measured with RIA methods.

The occurrence of obesity, hypertension, dyslipidemia, insulin resistance and diabetes was markedly lower in the centenarian group compared with the early elderly and obese women.

Plasma leptin, NPY and insulin concentrations were significantly lower in centenarians as compared with early elderly and obese women.

However, plasma adiponectin levels were significantly higher as compared with all investigated groups. Plasma ghrelin active concentration in centenarians was significantly lower compared with young patients and significantly higher comparing to obese group. In lean women with PCOS plasma adiponectin level was significantly lower as compared with centenarian group and significantly higher than that in obese women.

#### Conclusions:

1. The neuroendocrine status in centenarian women is markedly different from that found in early elderly, younger and obese women.
2. The higher levels of adiponectin and lower concentrations of NPY in centenarians in the connection with their metabolic state may play a protective role in prolonged survival in longevity.

### S5.03. Hormony młodości?

#### Michał Karasek

Zakład Neuroendokrynologii, Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi; Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

Starzenie się organizmu człowieka jest procesem złożonym, rozciągniętym znacznie w czasie i obejmującym wiele układów. Odreślności starszego wieku dotyczą także fizjologii i patologii układu dokrewnego, w którym dochodzi do zmian w wydzielaniu wielu

hormonów. Przedstawione zostały dane dotyczące ewentualnego udziału hormonów nazywanych często „hormonami młodości” (dehydroepiandrosteronu, melatoniny i hormonu wzrostu) w procesie starzenia się i przedyskutowano racjonalność ich suplementacji w podeszłym wieku. Chociaż pewne dane, zarówno doświadczalne, jak i kliniczne, przemawiają za odgrywaniem przez omawiane hormony pewnej roli w procesie starzenia się organizmu człowieka, jak wynika z przedstawionych w artykule danych dalecy jeszcze jesteśmy od stwierdzenia, że rzeczywiście jeden (lub więcej) z opisanych hormonów możemy uznać za „hormon młodości”, którego stosowanie w podeszłym wieku może spowolnić starzenie się. Jednak pewne cechy poprawy jakości życia po stosowaniu DHEA, melatoniny czy hormonu wzrostu mogą sugerować ich korzystny wpływ na tzw. „łagodniejsze starzenie się”.

### Hormones of youth?

#### Michał Karasek

Department of Neuroendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University of Łódź; Department of Endocrinology and Metabolic Diseases, Polish Mother's Memorial Hospital — Research Institute, Lodz

Ageing is doubtless complicated, lifelong process regarding many body systems. Individual features of the advanced age concern also physiology and pathology of the endocrine system, with significant changes in secretion of various hormones. A possible role of hormones which are often termed “hormones of youth” (dehydroepiandrosterone, melatonin, and growth hormone) in the ageing process as well as their possible replacement in elderly are discussed. Although some experimental and clinical data indicate that these hormones may play some role in the human ageing process, it appears from presented data that we are still far away from conclusion that, indeed, one (or more) of the discussed hormones could be considered as “hormone of youth”, which may slow down ageing process. However, some symptoms of the quality of life improvement following administration of dehydroepiandrosterone, melatonin, and growth hormone may suggest that they may promote so called “successful ageing”.

## SESJA PLAKATOWA (P1) — Neuropeptydy i ich analogi

### P1.01. Wpływ peptydów z rodziny angiotensyn na aktywność kinaz tyrozynowych w hormonozależnym raku prostaty

Kamila Domińska<sup>1</sup>, Elżbieta Rębas<sup>2</sup>, Agnieszka Lachowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Endokrynologii Porównawczej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>2</sup>Zakład Neurochemii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wprowadzenie:** Do niedawna angiotensyna II kojarzyła się głównie z patologią nadciśnienia tętniczego. Okazało się jednak, że wpływ peptydów z rodziny angiotensyn nie ogranicza się tylko i wyłącznie do układu sercowo-naczyniowego. Ostatnie badania pokazują, iż Ang II i jej krótsze fragmenty są włączone w kontrolę proliferacji różnych typów komórek, zarówno tych prawidłowych jak i patologicznych.

**Cel:** Celem badania było określenie wpływu Ang II, III i IV na wzrost linii hormonozależnego raka prostaty, poprzez określenie poziomu aktywności kinaz tyrozynowych (PTKs), odgrywających kluczową rolę w proliferacji komórek.

**Materiały i metody:** Aktywności kinaz tyrozynowych badano w ludzkiej linii hormonozależnego raka prostaty — LNCAP. Testowane peptydy angiotensynowe (Ang II, Ang III, Ang IV) były zastosowane w 3 różnych stężeniach:  $10^{-11}$  M,  $10^{-10}$  M,  $10^{-9}$  M. W reakcji fosforyzacji jako donora reszty fosforanowej dla PTKs użyto  $g^{32}P$ -ATP, a jako substratu syntetycznego peptydu — poly Glu,Tyr (4:1). Aktywność PTKs została określona jako ilość pmoli  $^{32}P$  włączonego do mg poly GluTyr na min.

**Wyniki:** Uzyskane wyniki sugerują, iż spośród badanych peptydów z rodziny angiotensyn tylko Ang IV wykazuje zdolność hamowania aktywności kinaz tyrozynowych.

**Wnioski:** Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, iż skrócenie łańcucha Ang II o co najmniej 2 aminokwasy od końca N (do Ang IV), powoduje uzyskanie zdolności peptydu do hamowania komórkowego wzrostu poprzez redukcję aktywności kinaz tyrozynowych.

Praca sponsorowana przez granty nr 502-16-301 i 2P05A04827.

## The influence of peptides from angiotensin family on tyrosine kinase activity in human hormone-dependent prostate cancer cell line, LNCaP

Kamila Domińska<sup>1</sup>, Elżbieta Rębas<sup>2</sup>, Agnieszka Lachowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Comparative Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of Molecular Neurochemistry, Medical University, Lodz

**Introduction:** Angiotensin II (Ang II) and other peptides from angiotensin family were connected mainly with pathology of hypertension. Our recent experiments showed that not only Ang II but also shorter peptides from angiotensin family are involved in control of cell proliferation. This effect is not limited to normal but cancer cells as well.

**The aim:** The of present study was to examine the influence of Ang II, III i IV on the proliferation of hormone-dependent human prostate cancer line, LNCaP, by determination of tyrosine kinase activity, playing important role in cell proliferation.

**Materials and methods:** 7-days old cell culture of testosterone-dependent human prostate cancer LNCaP was used as a source of protein tyrosine kinases and  $g^{32}P$ -ATP as a donor of phosphate in phosphorylation reaction. As the substrate the synthetic peptide — polyGlu,Tyr (4:1) was used. The reaction of phosphorylation was carry out in presence of different concentration of Ang II, Ang III, and Ang IV in following concentrations:  $10^{-11}$  M,  $10^{-10}$  M,  $10^{-9}$  M. The radioactivity of  $^{32}P$  was counted as Cerenkov radiation in scintillation liquid counter. The activity of PTKs was defined as pmoles of  $^{32}P$  incorporated into polyGluTyr/mg of protein/min.

**Results:** The obtain results suggested that only Ang IV has biological properties to inhibit PTK's activity in human prostate cancer line.

**Conclusions:** We can assume that shortening the amino acid chain by at least two amino acid residues from N terminal leads to achievement of biological availability to modulate the protein tyrosine kinase activity.

The work supported by grants nr: 502-16-301 i 2P05A04827.

## P1.02. Wpływ antagonistycznego analogu GH-RH (JV-1-65) na wydzielanie interleukiny-18 (IL-18) oraz czynnika martwicy nowotworów- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) przez komórki krwi obwodowej człowieka w warunkach *in vitro*

Agnieszka Siejka<sup>1</sup>, Tomasz Stępień<sup>2</sup>, Hanna Ławnicka<sup>3</sup>, Jan Komorowski<sup>1</sup>, Henryk Stępień<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>2</sup>Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>3</sup>Zakład Immunoendokrynologii, Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Założenia:** Wytwarzana w podwzgórzcu somatoliberyna (GH-RH) nasila syntezę i uwalnianie hormonu wzrostu (GH) przez komórki przedniego płata przysadki. Wykazano, że GH-RH posiada także właściwości immunomodulacyjne. Antagonistyczne analogi GH-RH na drodze pośredniej i bezpośredniej hamują wzrost wielu nowotworów *in vivo* oraz *in vitro*. Dotychczas jednak nie badano wpływu tych związków na wydzielanie IL-18 i TNF- $\alpha$  przez jednocząrdzaste komórki krwi obwodowej.

**Cel pracy:** Przedmiotem pracy była ocena wpływu JV-1-65 (antagonisty GH-RH) na wydzielanie IL-18 oraz TNF- $\alpha$  przez jednocząrdzaste komórki krwi obwodowej człowieka *in vitro*.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na jednocząrdzastych komórkach wyizolowanych z krwi obwodowej człowieka (PBMC)

zgodnie z metodą opisaną przez Böyuma. Komórki, hodowane przez 24 godziny w 37°C w atmosferze zawierającej 95% powietrza i 5% CO<sub>2</sub>, poddano stymulacji lipopolisacharydem (LPS; 2  $\mu$ g/ml), a następnie dodawano JV-1-65 w stężeniach  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$  i  $10^{-6}$ M. Pomiaru poziomów badanych cytokin dokonano przy użyciu metody immunoenzymatycznej (ELISA). Analizy statystycznej dokonano przy użyciu testu ANOVA, a następnie testu LSD. Za poziom istotności statystycznej przyjęto  $p < 0,05$ .

**Wyniki:** Zaobserwowano, że JV-1-65 zwiększał sekrecję IL-18, działając znamienne w stężeniu  $10^{-8}$  i  $10^{-10}$  M ( $p < 0,05$ ). Stwierdzono także ujemną korelację pomiędzy wartościami stężeń IL-18 w medium inkubacyjnym a testowanymi stężeniami JV-1-65 ( $r = -0,6086$ ;  $p < 0,05$ ). Ponadto, działając w stężeniu  $10^{-10}$ M peptyd ten istotnie statystycznie nasilał wydzielanie TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ).

**Wnioski:** Wyniki obecnej pracy wskazują na potencjalny udział antagonisty GH-RH w regulacji funkcji wydzielniczej leukocytów.

Praca finansowana z grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 502-11-187.

## Influence of GH-RH antagonist (JV-1-65) on the secretion of interleukin-18 (IL-18) and tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) from human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*

Agnieszka Siejka<sup>1</sup>, Tomasz Stępień<sup>2</sup>, Hanna Ławnicka<sup>3</sup>, Jan Komorowski<sup>1</sup>, Henryk Stępień<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of General and Endocrinological Surgery, Medical University, Lodz

<sup>3</sup>Department of Immunoendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

**Objective:** Somatoliberin (GH-RH), a hypothalamic hormone, enhances the synthesis and the release of growth hormone (GH) from the anterior pituitary cells and also possess some immunomodulatory properties. GH-RH antagonists have been shown to suppress both *in vivo* and *in vitro* growth and metastasis of many human cancer cell lines, but its effect on IL-18 and TNF- $\alpha$  secretion from human peripheral blood mononuclear cells has not been studied yet.

**Aim:** The aim of the study was to examine the influence of JV-1-65 (GHRH antagonist) on IL-18 and TNF- $\alpha$  secretion from peripheral blood mononuclear cells.

**Material and method:** Mononuclear cells (PBMC) were isolated from the peripheral blood of healthy adults according to the technique described by Böyum. Cells, cultured 24 hours at 37°C in humidified atmosphere of 95% air and 5% CO<sub>2</sub>, were stimulated with lipopolysaccharide (LPS; 2  $\mu$ g/ml), and then JV-1-65 at the final concentrations  $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$  and  $10^{-6}$  M was added to appropriate wells. ELISA kits were used to measure IL-18 and TNF- $\alpha$  concentrations in the supernatants of cultured cells. Comparisons between tested groups were made with ANOVA followed by the LSD test. The differences were considered significant if  $p < 0.05$ .

**Results:** JV-1-65 stimulated the secretion of IL-18 into the supernatants acting significantly at the concentrations of  $10^{-8}$  and  $10^{-10}$ M ( $p < 0.05$ ). Negative correlations between JV-1-65 and IL-18 concentrations have been found ( $r = -0.6086$ ;  $p < 0.05$ ). Moreover, JV-1-65 at the concentration of  $10^{-10}$ M also significantly increased the secretion of TNF- $\alpha$  ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** The results demonstrate for the first time the potential involvement of GH-RH antagonist in the regulation of leukocytes secretory function.

The study was supported by a grant of the Medical University of Lodz No 502-11-187.

### P1.03. Rola VIP, PACAP i melatoniny w modulacji odpowiedzi immunologicznej i endokrynej w czasie ostrego zapalenia

W. Bik<sup>1</sup>, E. Wolińska-Witort<sup>1</sup>, J. Pawlak<sup>2</sup>, K. Skwarło-Sońta<sup>2</sup>, L. Martyńska<sup>1</sup>, M. Chmielowska<sup>1</sup>, A. Baranowska-Bik<sup>1</sup>, B. Baranowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej CMKP, Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

**Wstęp:** Właściwości immunomodulujące VIP, PACAP i melatoniny są opisywane w literaturze.

**Celem** obecnego badania była ocena wpływu VIP, PACAP i melatoniny na układ neuroendokryny i immunologiczny szczurów z indukowanym LPS ostrym stanem zapalnym.

**Materiał i metody:** Samce szczurów rasy Wistar-Kyoto podzielono na grupy, w których podawano dootrzewnowo odpowiednio: 0,9% NaCl (kontrola), LPS, VIP, PACAP38, melatoninę, LPS+VIP, LPS+PACAP38 lub LPS+melatoninę. Zwierzęta dekapitowano 2 lub 4 godziny po iniekcji, następnie bezpośrednio oceniano aktywność leukocytów otrzewnowych i splenocytów. W surowicy określano stężenie hormonów (GH, LH, FSH, TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, kortykosteron) oraz cytokin (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10) z użyciem, odpowiednio, metod RIA i Elisa.

**Wyniki:** Podanie VIP+LPS obniżyło stężenie IL-6 po 2 h oraz kortykosteronu po 2 i 4 h w porównaniu z grupą otrzymującą LPS. PACAP38 stosowany łącznie z LPS zniósł stymulujące działanie LPS na komórki immunokompetentne, obniżał stężenie TNF $\alpha$  i kortykosteronu, podwyższał stężenie T<sub>4</sub> i GH. W grupie otrzymującej melatoninę i LPS wykazano podwyższenie stężeń IL10 po 4 h, oraz T<sub>3</sub> i T<sub>4</sub> po 2 h.

**Wnioski:** VIP, PACAP38 i melatonina zmieniają odpowiedź endokrynną i immunologiczną w czasie ostrego zapalenia wywołanego LPS. PACAP38 wydaje się być krótkodziałającym modulatorem tych odpowiedzi.

Badanie finansowane przez CMKP (grant 501-1-1-28-36/05).

### The role of VIP, PACAP 38 and melatonin in modulation immune and endocrine responses during acute inflammation

W. Bik<sup>1</sup>, E. Wolińska-Witort<sup>1</sup>, J. Pawlak<sup>2</sup>, K. Skwarło-Sońta<sup>2</sup>, L. Martyńska<sup>1</sup>, M. Chmielowska<sup>1</sup>, A. Baranowska-Bik<sup>1</sup>, B. Baranowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Neuroendocrinology Dept. Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw

<sup>2</sup>Department of Animal Physiology, Faculty of Biology, Warsaw University

**Introduction:** As immunomodulatory activity of VIP, PACAP38 and melatonin has been already reported, the aim of our study was to examine the effect of VIP, PACAP38 and melatonin on neuroendocrine and immune parameters in rats with LPS-induced acute inflammation.

**Material and methods:** Male Wistar-Kyoto rats were divided into groups injected ip as follows: 0.9% NaCl (controls), LPS, VIP, PACAP38 or melatonin alone and LPS+VIP, LPS+PACAP38 or LPS+melatonin, respectively. Animals were sacrificed 2 and 4 hrs later, and activity of peritoneal leukocytes and splenocytes was measured immediately. Serum hormone (GH, LH, FSH, TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> and corticosterone) and cytokine (TNF $\alpha$ , IL6, IL 10) concentration was measured using RIA and ELISA kits, respectively.

**Results:** Treatment with VIP, PACAP38 or melatonin alone did not change serum cytokine level while PACAP 38 decreased immune cell activity.

Administration of VIP+LPS decreased serum IL-6 concentration after 2 hrs and corticosterone after 2 and 4 hrs compared with the group receiving LPS alone.

PACAP38 administrated together with LPS reversed stimulatory effect of LPS on immune cells, decreased TNF $\alpha$  and corticosterone, and increased T<sub>4</sub> and GH serum level compared with the LPS-group. Melatonin and LPS injected simultaneously with LPS increased IL-10 after 4 hrs, and T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> after 2 hrs.

**Conclusion:** VIP, PACAP38 and melatonin affect immune and endocrine response during LPS-induced acute inflammation. PACAP 38 appears to be a short-lasting modulator of these responses.

Supported by CMKP grant 501-1-1-28-36/05.

### P1.04. Zahamowanie wzrostu SK-ES-1 ludzkiego mięsaka Ewinga wszczepionego myszom bezgrasiczym przez antagonistę GHRH

Ryszard Braczkowski<sup>1</sup>, Bogumiła Braczkowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewn. Wydziału Zdrowia Publicznego Śląskiej Akademii Medycznej, Bytom

<sup>2</sup>Zakład Epidemiologii, Katedra Zdrowia Publicznego Wydziału Zdrowia Publicznego Śląskiej Akademii Medycznej, Bytom

**Wstęp:** Wiele badań, zarówno doświadczalnych, jak i epidemiologicznych wskazuje, że insulinopodobne czynniki wzrostu (IGFs), mogą odgrywać istotną rolę w rozwoju szeregu nowotworów. Od wielu lat znany jest także ich wpływ na wzrost i metabolizm kości. Można więc przypuszczać, że nowotwory kości również znajdują się wśród nowotworów, w których rozwój mogą być zaangażowane IGFs.

Wykazano, że somatostatyna (a szczególnie jej długodziałające analogi), która wpływa na obniżenie produkcji IGF-I może spowalniać rozwój szeregu nowotworów wszczepionych zwierzętom doświadczalnym. Wyniki badań klinicznych nie były już tak obiecujące, tym niemniej stwierdzono korzystny efekt analogów somatostatyny w leczeniu szeregu guzów neuroendokrynych. Słabszy niż by się tego można spodziewać wpływ analogów somatostatyny na wzrost nowotworów u ludzi można próbować wytłumaczyć wtórnym do obniżenia IGF-I wzrostem wydzielania GHRH. Tej właściwości pozbawione są antagonistyczne analogi GHRH.

**Cel pracy:** Celem pracy było wykazanie wpływu JV-1-38 antagonistycznego analogu GHRH na wzrost wszczepionego bezgrasiczym myszom ludzkiego guza Ewinga. Dalszym celem było zbadanie mechanizmów na drodze, których oddziaływanie to mogłoby zachodzić. **Metodyka:** Badania przeprowadzono w laboratoriach Sekcji Medycyny Eksperymentalnej, Oddziału Chorób Wewnętrznych, Medycznego Centrum Uniwersytetu Tulane w Nowym Orleanie, oraz Instytutu Endokrynologii, Peptydów i Raka Szpitala Weteranów w Nowym Orleanie<sup>1-3</sup>.

Komórki linii nowotworowej SK-ES-1 wstrzyknięto podskórnie myszom bezgrasiczym. Grupa badana otrzymywała przez 4 tygodnie podskórne iniekcje JV-1-38 antagonistycznego analogu GHRH, grupa kontrolna-rozpuszczalnik. Porównano wielkość guzów w obu grupach po 4 tygodniach. W krwi myszy obu grup i w guzach oznaczano IGF-I, IGF-II, stosując metodę radioimmunologiczną, w wątrobach myszy, stosując metodę PCR, oznaczano mRNA dla IGF-I, tą samą metodą oznaczano mRNA dla IGF-I, IGF-II, IGF-I receptora w guzach oraz komórkach nowotworowych z hodowli.

*In vitro* badano wpływ IGF-I, IGF-II na proliferację komórek nowotworowych oraz zdolność badanego antagonisty GHRH do hamowania tej proliferacji.

**Wyniki:** Wykazano: zdolność do hamowania wzrostu guza SK-ES-1 wszczepionego myszom i obniżania zawartości IGF-I we krwi i IGF-II w guzie; obecność mRNA dla IGF-I, IGF-II, IGF-I receptora w guzie i komórkach w hodowli oraz wpływ IGFs na proliferację komórek SK-ES-1 w *in vitro*.

**Wnioski:**

1. Antagonistyczny analog GHRH — JV-1-38 — spowalnia wzrost ludzkiego guza Ewinga *in vitro* i *in vivo*.
2. Spowolnienie wzrostu ludzkiego mięsaka kostnopochodnego SK-ES-1 wszczepionego bezgrasiczym myszom wynika przede wszystkim z hamującego wpływu na produkcję IGF-I przez mysz oraz IGF-I przez guz nowotworowy.

<sup>1</sup>R. Braczkowski dysponuje pisemną zgodą A.V. Shally'ego na przedstawianie wyników badań

<sup>2</sup>Badanie sponsorowane przez Medical Reseach Service Veterans Affair i grant Zentaris dla Uniwersytetu Tulane

<sup>3</sup>RB prowadził badania jako stypendysta Fundacji Kościuszkowskiej

### Inhibition of proliferation of SK-ES-1 human Ewing Sarcoma xenografted into athymic mice by antagonist of GHRH

Ryszard Braczkowski<sup>1</sup>, Bogumiła Braczkowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Diseases, Faculty of Public Health, Medical University of Silesia, Bytom

<sup>2</sup>Epidemiology Ward, Department of Public Health, Faculty of Public Health Medical University of Silesia, Bytom

**Introduction:** There are many evidence indicating insulin like growth factors (IGFs) play important role in the development of cancers. The role of these factors in bones growth and metabolism are known from many years. According to these facts we can suppose they play important role in the development of bone tumors. Somatostatin which inhibits production of IGF-1, can stops growth of many experimental tumors. Its long acting analogs are used in clinic in therapy of neuroendocrine tumors. But only small percentage of tumors show response in inhibition of tumor growth. Secondary growth of production of growth hormone releasing hormone according with decline of IGF-1 concentration can be the reason of this fact. Antagonistic analogs of GHRH are free of such acting.

**Aim of the study:** Aim of the study was to evaluate the effect of JV-1-38 antagonistic analog of GHRH on growth of human Ewing sarcoma xenografted into nude mice.

The next step was to find the pathways, of possible JV-1-38 influence on the growth of examined tumor.

**Methods:** The study was prepared in the laboratories of Experimental Medicine Section of Department of Internal Medicine of Tulane University Medical Center and Endocrinology Polypeptides, and Cancer Center of Veterans Affair Hospital in New Orleans<sup>1-3</sup>. SK-ES-1 Ewing sarcoma cells were subcutaneously xenografted into nude mice. Then the mice were treated with subcutaneous injections of JV-1-38 for 4 weeks. After that period of time, the volumes of tumors were measured and compared with those in the control group. The concentrations of IGF-I and IGF-II were estimated by RIA in sera of treated and control mice. mRNA for IGF-I was determined in mice livers by RT-PCR. mRNA for IGF-I, IGF-II and IGF-I receptor in tumors of both treated and control group were also determined. *In vitro*, the effects of IGF-I, IGF-II, JV-1-38 and the antibodies to IGF-I and IGF-II were evaluated by MTT method.

**Results:** JV-1-38 inhibits the growth of SK-ES-1 Ewing sarcoma xenografted into nude mice and proliferation of SK-ES-1 *in vitro*. The antagonist lowers IGF-I concentration in mice serum and the expression of IGF-I mRNA in mice livers. The study shows the presence of IGF-I and IGF-I receptor mRNA in tumors and inhibition of tumor concentration of IGFs by this analog.

**Conclusions:**

1. JV-1-38, the antagonistic analog of GHRH inhibits growth of SK-ES-1 human osteosarcoma xenografted into nude mice.
2. This inhibition of tumor growth goes by the inhibition of IGF-1 production in mice livers and tumors.

<sup>1</sup>RB has printed permission given by prof. A.V. Shally for presentation results of this study on any conference

<sup>2</sup>Supported by the Medical Reseach Service of the Department of Veterans Affairs (USA) and by grant from Zentaris Germany

<sup>3</sup>RB was a recipient of a fellowship from Kościuszk Foundation

### P1.05. Wpływ angiotensyny 4–8 i angiotensyny 5–8 na proliferację komórek szczurzej linii guza laktosomatotropowego GH3

Dorota Ptasińska-Wnuk, Jolanta Kunert-Radek, Hanna Ławnicka, Marek Pawlikowski

Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wprowadzenie:** Peptydy angiotensynowe spełniają rolę auto/parakrynych czynników wzrostowych w wielu tkankach. Pobudzenie receptorów angiotensynowych prowadzi do aktywacji różnorodnych szlaków przekazywania wewnątrzkomórkowego w tym tzw. kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MAPK).

Najlepiej poznanym peptydem jest angiotensyna II (ang II). Biologiczną aktywność wykazują również jej pochodne, angiotensyna III i angiotensyna IV (ang III i ang IV). Zarówno ang II, jak i ang IV pobudzały proliferację komórek pierwotnej hodowli guza prolaktynowego szcztura *in vitro* oraz komórek przedniego płata przysadki *in vivo*. Nie badano do tej pory udziału pochodnych ang IV, angiotensyny 4–8 i 5–8 (ang 4–8 i 5–8) w regulacji procesów wzrostowych. **Cel:** Ocena wpływu ang 4–8 i ang 5–8 na proliferację komórek szczurzej linii guza laktosomatotropowego GH3, a także zależności stwierdzonych efektów od MAPK p44/42 oraz MAPK p38.

**Materiał i metody:** Komórki GH3 hodowano w medium F-10a następnie rozsiewano na 96-dółkowe płytki w ilości 10 x 10<sup>3</sup> komórek/celkę. Po 12-godzinnym okresie preinkubacji poddawano je przez 72 godz. działaniu samej ang 4–8 lub ang 5–8 (10<sup>-12</sup>–10<sup>-6</sup> M) bądź ang 5–8 w połączeniu z inhibitorem kinazy MAPK p44/42 PD98059 lub MAPK p38 SB203580. Proliferację komórkową oceniano przy użyciu dwóch metod kolorymetrycznych: opartej o pomiar aktywności metabolicznej oraz o wbudowywanie BrdU do DNA dzielących się komórek.

**Wyniki:** Ang 4–8 i ang 5–8 obniżyły całkowitą aktywność metaboliczną oraz wbudowywanie BrDU w hodowli komórek GH3. Dodanie SB203580 zapobiegało jedynie zależnemu od ang 5–8 spadkowi aktywności metabolicznej. PD98059 nie znosił żadnego z efektów ang 5–8.

**Wnioski:** Ang 4–8 i ang 5–8 hamują proliferację komórek GH3 w mechanizmie niezależnym zarówno od MAPK p44/42, jak i MAPK p38. Wywierają one prawdopodobnie dodatkowe działanie proapoptotyczne, w którym pośredniczy MAPK p38.

### The influence of angiotensin 4–8 and angiotensin 5–8 on the rat pituitary lactosomatotroph tumor cells proliferation

Dorota Ptasińska-Wnuk, Jolanta Kunert-Radek, Hanna Ławnicka, Marek Pawlikowski

Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

**Introduction:** In many tissues angiotensin peptides acts as the auto/paracrine growth factors. Their effects are dependent on activation of various intracellular signaling pathways, including mitogen-activated protein kinases (MAPK).



Angiotensin II (ang II) is the best known angiotensin peptide. The ang II derivatives, angiotensin III (ang III) and angiotensin IV (ang IV) possess biological activity as well. Both ang II and ang IV are known to promote the proliferation of rat prolactinoma cells *in vitro* and rat anterior pituitary cells *in vivo*. The role of ang IV degradation products, angiotensin 4–8 (ang 4–8) and angiotensin 5–8 (ang 5–8) in the regulation of cellular growth has not already been investigated.

**Aim:** In our study we examined the influence of ang 4–8 and ang 5–8 on the GH3 cells (rat pituitary lactosomatotroph tumor cells line) proliferation and the possible role of two MAPK pathways (p44/42 and p38) in ang 5–8 regulatory action.

**Material and methods:** GH3 cells were cultured in F-10 medium and then plated at 96-multiwell plates ( $10 \times 10^3$  cells/well). After 12 hours of preincubation cells underwent to 72-hours treatment either with ang 4–8 or ang 5–8 alone or with the combination of ang 5–8 and p44/42 MAPK-kinase or p38 MAPK inhibitor (PD98059 or SB203580 respectively). Cell proliferation was evaluated using two colorimetric assays: based on the measurement of cell activation and on the BrdU incorporation during DNA synthesis.

**Results:** Ang 4–8 and ang 5–8 decreased both the cell activation and BrdU incorporation in GH3 cells culture. SB203580 prevented only the ang 5–8-induced inhibition of cells activation. None of ang 5–8 effects was abolished by PD98059.

**Conclusion:** Ang 4–8 and ang 5–8 inhibit GH3 cells proliferation in the mechanism independent of both MAPK p44/42 and MAPK p38. They probably exert additional proapoptotic effect, mediated by MAPK p38.

### P1.06. Agonista gonadoliberyny (Histrelin) pobudza uwalnianie oksytocyny z układu podwzgórzowo-przysadkowego szczura *in vitro*

Emilia Boczek-Leszczak<sup>1</sup>, Bożena Stempniak<sup>2</sup>, Marlena Juszcak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Patofizjologii i Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>2</sup>Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Katedry Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Liczne peptydy obecne w ośrodkowym układzie nerwowym (a wśród nich gonadoliberyna) wywierają istotny wpływ na sekrecyjną aktywność neuronów jąder nadwzrostkowych i przykomorowych podwzgórza, w których zachodzi synteza oksytocyny (OT).

**Celem** pracy było zbadanie czy gonadoliberyna (GnRH) oraz jej agonista i antagonisty zmieniają uwalnianie OT z układu podwzgórze — część nerwowa przysadki (H-N) szczura *in vitro*.

**Materiał i metody:** Wyosobniony z mózgu szczura układ H-N umieszczano następnie w probówkach zawierających 1 ml płynu Krebsa-Ringera (K-R) ogrzanego do temperatury 37°C oraz nasyconego karbogenem. Po okresie równoważenia (tj. około 80 minut) do probówek dodawano podstawowy płyn K-R (płyn B1), a następnie płyn B1 zawierający dodatkowo roztwór odpowiedniego peptydu, to jest gonadoliberyny, agonisty (histrelin) lub antagonisty gonadoliberyny, w stężeniu  $10^{-7}$  M/L (płyn B2). Po inkubacji układu H-N w każdym z roztworów przez 20 minut, płyn inkubacyjny pobrano i natychmiast zamrażano do czasu oznaczenia w zebranych próbkach zawartości OT metodą radioimmunologiczną. Stopień uwalniania OT z układu H-N *in vitro* wyrażano jako stosunek B2/B1.

Wykazano, że agonista GnRH — histrelin — istotnie nasila wydzielanie OT *in vitro*, podczas gdy sama gonadoliberyna i jej antagonisty pozostały bez wpływu na badany proces.

**Wyniki:** Wyniki obecnych badań sugerują, że histrelin może pełnić funkcję neuromodulatora uczestniczącego w regulacji czynności neuronów oksytocynergicznymi u szczura.

Badania finansowane przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (grant Nr 502–16–508).

### Gonadotropin-releasing hormone agonist (Histrelin) stimulates the oxytocin secretion from the rat hypothalamo-neurohypophysial system *in vitro*

Emilia Boczek-Leszczak<sup>1</sup>, Bożena Stempniak<sup>2</sup>, Marlena Juszcak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology and Experimental Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of General and Experimental Pathology, Medical University, Lodz

**Introduction:** Oxytocin (OT) secretion is modified by a number of peptides present in the central nervous system. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) has been demonstrated to influence the secretion of both anterior and posterior pituitary hormones.

The aim of the present investigations was to study the effect of GnRH (and its agonist and antagonist) on the OT secretion from isolated rat hypothalamo-neurohypophysial (H-N) system.

**Materials and methods:** Male Wistar 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-N explants were incubated successively in: 1 — normal KRF (B1); 2 — the incubation fluid as B1 alone or containing the following peptides: GnRH, its agonist ([Des-Gly<sup>10</sup>, D-His(Bzl)<sup>6</sup>, Pro-NHEt<sup>3</sup>]-LHRH; Histrelin) or antagonist (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Antagonist), in the concentration of  $10^{-7}$  M/L (B2). After 20 minutes incubation, each medium was collected and immediately frozen before OT estimation by the radioimmunoassay. The OT secretion was estimated by using B2/B1 ratio for each H-N explant. The results show that the GnRH agonist — histrelin significantly stimulated the release of OT from isolated H-N system, while GnRH itself and its antagonist remained essentially inactive in modifying this hormone secretion *in vitro*.

The present study demonstrates that histrelin may play a role as a neuromodulator contributing to the functional regulation of oxytocinergic neurones in the rat.

This study was supported by Medical University of Lodz, grant No 502–16–508.

### P1.07. Wpływ leptyny na ekspresję hormonu wzrostu w komórkach przysadki i immunoreaktywność somatostatyny w podwzgórz u owcy

Anna Wójcik-Gładysz, Marta Wańkowska, Tomasz Misztal, Katarzyna Romanowicz, Jolanta Polkowska

Instytut Fizjologii i Żywności Zwierząt, im. J. Kiełanowskiego, PAN, Jabłonna

**Wstęp:** Leptyna, 167-aminokwasowy peptyd, produkt genu ob uważana jest za „sygnał sytości” i integralny składnik sieci regulującej łaknienie na poziomie ośrodkowego układu nerwowego. Leptyna bierze udział w regulacji procesów rozrodczych u zwierząt. Rezultaty badań prowadzonych na szczurach świadczą, że leptyna ma także wpływ na aktywności hormonów osi somatotropowej, szczególnie w warunkach zaburzonego żywienia.

**Cel:** Celem doświadczenia było poznanie mechanizmu działania leptyny w ośrodkowym układzie nerwowym na hormony osi somatotropowej u jarek w warunkach krótkiego niedożywienia.

**Materiał i metody:** Owce (Merynos), podzielone na dwie grupy: kontrolną i poddaną głodzeniu przez 72 godziny, otrzymywały infuzje kontrolne płynu Ringera lub leptyny przez 3 kolejne dni. Przeprowadzono kolekcję krwi do oznaczeń stężenia GH we krwi obwodowej. Podwzgórze i przysadki zostały zabezpieczone do immunohistochemicznych oznaczeń SS i GH oraz ekspresji mRNA dla GH.

**Wyniki:** Ilość immunoreaktywnego (ir) materiału somatostatyny (SS) w zakończeniach nerwowych wyniosłości pośredniej, ilość ir komórek hormonu wzrostu (GH), a także mRNA dla GH w przysadce była wyższa u jarek głodzonych i otrzymujących infuzje leptyny niż u jarek otrzymujących infuzje kontrolne. Stężenie GH we krwi u owiec głodzonych z infuzjami leptyny był wyższy niż u owiec z infuzjami kontrolnymi. Infuzje leptyny nie wywołały żadnych zmian u jarek nie poddanych głodzeniu.

**Wnioski:** Egzogenna leptyna wzmacnia wpływ głodzenia na aktywność osi somatotropowej polegający na wzmocnieniu syntezy i uwalniania GH spowodowanym przez zahamowanie uwalniania SS z zakończeń nerwowych wyniosłości pośredniej podwzgórze. Podsumowując, można przypuszczać, że leptyna bierze udział w regulacji aktywności hormonów osi somatotropowej u jarek w warunkach zaburzonego żywienia.

*Badania zostały częściowo sfinansowane przez Komitet Badań Naukowych w ramach projektu PBZ-KBN-084/P06/2002 w latach 2003–2005.*

### Leptin affects the expression of growth hormone in the pituitary cells and the immunoreactivity of hypothalamic somatostatin in fasting female lambs

*Anna Wójcik-Gładysz, Marta Wańkowska, Tomasz Misztal, Katarzyna Romanowicz, Jolanta Polkowska*

*The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Jablona, Poland*

**Introduction:** Leptin, the 167-amino acids peptide is a product of ob gene expression. This hormone is regarded as the satiety signal, an integral component of the feedback loop between the periphery and the brain. Many studies have shown that leptin is engaged in the control of reproductive processes. Experiments on the rat showed that leptin might also modulate the activity of the somatotrophic axis, particularly in the underfed animals.

**Aim:** The aim of the study was to investigate the effect of intracerebroventricular (icv) infusion of leptin on the immunoreactivity (ir) of somatostatin (SS), growth hormone (GH) and expression of mRNA for GH in female lambs in the condition of acute fasting.

**Materials and methods:** Polish Merino female lambs were divided into two groups: control and fasted for 72 h. Both groups were infused with vehicle or leptin during 3 consecutive days. The blood samples were collected to the RIA assay plasma GH concentration. The hypothalami and pituitaries were prepared to immunohistochemical analysis of SS and GH and expression of GH mRNA.

**Results:** The immunoreactivity of SS in the median eminence, GH in the pituitary cells and mRNA for GH were higher in leptin-infused, fasted lambs in comparison to the vehicle-infused fasted lambs. Plasma GH concentration in leptin infused, fasted lambs were higher ( $p < 0.05$ ) compared to vehicle-infused, fasted lambs. There were no changes in the non fasted lambs after leptin infusion.

**Conclusions:** The exogenous leptin amplified the effect of fasting on somatotrophic axis which depend on enhancement of GH synthesis and release due to the attenuation of the SS output. The results provide evidence that leptin modulate the somatotrophic axis activity in prepubertal lambs in condition of fasting.

*Research was partially supported by the State Committee for Scientific Research as a Solicited Project, PBZ-KBN-084/P06/2002 from 2003 to 2005 year.*

### P1.08. Różnice w budowie Ang 1–7 i Ang 3–7 a aktywność kinaz tyrozynowych w przednim płacie przysadki szczura

*Elżbieta Rębas<sup>1</sup>, Agnieszka Lachowicz<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Zakład Neurochemii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź*

<sup>2</sup>*Zakład Endokrynologii Porównawczej, Uniwersytet Medyczny, Łódź*

**Wstęp:** Angiotensyna 1–7 (Ang 1–7) jest biologicznie aktywnym fragmentem Ang II, który przejawia działanie przeciwstawne do macierzystego peptydu. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że inne niż Ang II peptydy z rodziny angiotensyn mogą modulować aktywność kinaz tyrozynowych (PTK) w przednim płacie przysadki. Mimo że Ang II nie zmienia aktywności PTK, krótsze o jeden aminokwas peptydy Ang III i Ang 1–7 silnie hamują aktywność kinaz tyrozynowych w przednim płacie przysadki.

**Cel:** Celem pracy było zbadanie czy Ang 3–7, kolejny fragment powstający zarówno z Ang 1–7, jak i Ang IV przejawia działanie biologiczne w stosunku do kinaz tyrozynowych.

**Materiał i metody:** Fragment Ang 3–7 został zsyntetyzowany przez prof. A. Janecką z Zakładu Chemii Molekularnej UM w Łodzi. Homogenaty przedniego płata przysadki służyły jako źródło enzymu, a  $g^{32}P$ -ATP jako dawca grupy fosforanowej w procesie fosforylacji. Substratem dla kinaz był syntetyczny peptyd — polyGlu,Tyr (4:1). Zbadano Ang 1–7 i Ang 3–7 w stężeniu od  $10^{-11}$ – $10^{-9}$  M. Aktywność kinaz tyrozynowych wyrażono w pmolach na ilość  $^{32}P$  wbudowanego do polyGluTyr/na mg białka w ciągu minuty.

**Wyniki:** Ang 3–7 w żadnym z badanych stężeń nie zmieniała aktywności kinaz tyrozynowych.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki sugerują, że działanie biologiczne peptydów z rodziny angiotensyn zależy nie tylko od długości peptydu, ale przede wszystkim od rodzaju aminokwasów wchodzących w jego skład.

*Praca sponsorowana przez granty nr 502–16–301 i 507–11–270.*

### The differences in structure of Ang 1–7 and Ang 3–7 and activity of protein tyrosine kinases in rat anterior pituitary

*Elżbieta Rębas<sup>1</sup>, Agnieszka Lachowicz<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Department of Molecular Neurochemistry, Medical University, Lodz*

<sup>2</sup>*Department of Comparative Endocrinology, Medical University, Lodz*

**Introduction:** Angiotensin 1–7 (Ang 1–7) is a biological active fragment of Ang II with opposite to Ang II biological properties. Our earlier experiments showed that this peptide, as other peptides from angiotensin family, can alter the protein tyrosine kinases (PTKs) activity in pituitary gland cells. Our recent work showed that whereas Ang II did not affect enzyme activity, one amino acid shorter peptides of Ang family (Ang III, Ang 1–7) exerted strong, inhibitory effect on PTK's activity.

**Aim of the study:** The aim of this study was to examine if Ang 3–7, the following peptide originated from as well from Ang 1–7 as Ang IV manifests any effect on PTKs activity.

**Materials and methods:** Ang 3–7 was synthesized and kindly donated by prof. A. Janecka, Dep. of Molecular Chemistry, Medical University of Lodz. We used the pituitary homogenates

as a source of protein tyrosine kinases and  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ -ATP as a donor of phosphate in phosphorylation reaction. As the substrate the synthetic peptide — polyGlu,Tyr (4:1) was used. The reaction of phosphorylation was carry out in presence of different concentration of Ang 1–7 and Ang 3–7 in concentrations from  $10^{11}$ – $10^{-9}$  M. The radioactivity of  $^{32}\text{P}$  was counted as Cerenkov radiation in scintillation liquid counter. The activity of PTKs was defined as pmoles of  $^{32}\text{P}$  incorporated into polyGluTyr/mg of protein/min.

**Results:** The results show that Ang 3–7 in all tested concentration did not alter PTKs activity.

**Conclusions:** This fact may indicate that effects of peptides of angiotensin family depend strictly not only on amino acid number but also on sequence of particular peptides.

*This work was supported by Medical University Grant 502–16–301 and 507–11–188.*

### P1.09. Tyreoliberyna i galanina hamują uwalnianie wazopresyny z części nerwowej przysadki w warunkach zaburzonej gospodarki wodnej

Joanna Ciosek, Anna Cisowska-Maciejewska

Zakład Badań Neuropeptydów Katedry Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Łódź Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Neurony wazopresynergiczne otrzymują bogatą aferencję neuronalną z licznych obszarów ośrodkowego układu nerwowego. W neuronach AVP-ergicznym występuje wiele neuropeptydów o charakterze neuroregulacyjnym, m.in. tyreoliberyna (TRH) i galanina (GAL), które mogą oddziaływać na biosyntezę i uwalnianie wazopresyny (AVP).

**Cel:** Celem badań była ocena wpływu TRH i GAL na uwalnianie AVP z części nerwowej przysadki do krwi w warunkach przewodnienia hiperosmotycznego.

**Materiał i metody:** Doświadczenia przeprowadzono na 78 szczurach samcach szczepu Wistar. Wyodrębniono dwie serie doświadczalne.

Seria 1. Grupy: A — szczury, którym wstrzykiwano do lewej bocznej komory mózgu (icv) 10  $\mu\text{l}$  0,9% roztwór NaCl raz dziennie przez okres 3 dni; B — szczury, którym podobnie wstrzykiwano icv 200 ng TRH w 10  $\mu\text{l}$  0,9% NaCl. Podgrupy: I — szczury otrzymujące do picia czystą wodę *ad libitum*; II — szczury otrzymujące do picia 2-procentowy roztwór NaCl przez okres 3 dni.

Seria 2. Grupy: A — szczury, którym wstrzykiwano icv 5  $\mu\text{l}$  aCSF (sztuczny płyn mózgowo-rdzeniowy) przez okres 2 dni; B — szczury, którym wstrzykiwano icv 100 pM GAL w 5  $\mu\text{l}$  aCSF. Podgrupy: I — szczury mające dostęp do wody pitnej *ad libitum*; II — szczury otrzymujące do picia 2-procentowy roztwór NaCl przez okres 2 dni.

Oznaczenie AVP w części nerwowej przysadki oraz we krwi przeprowadzono metodą radioimmunologiczną.

**Wyniki:** TRH oraz GAL były przyczyną znaczącego podwyższenia zawartości AVP w części nerwowej przysadki oraz obniżenia stężenia AVP we krwi u szczurów obciążonych hipertonicznym roztworem soli.

**Wnioski i podsumowanie:** TRH i GAL, jako neuromodulatory hamujące uwalnianie AVP w warunkach pobudzenia osmoreceptorów, zaburzają mechanizmy osmoregulacyjne na poziomie podwzgórzowo-przysadkowym.

### Thyroliberin and galanin inhibit vasopressin release from the neurohypophysis under disturbed water metabolism

Joanna Ciosek, Anna Cisowska-Maciejewska

Department of Neuropeptides Researches, Medical University, Lodz

**Introduction:** Vasopressinergic neurons receive a rich innervation from different regions of the central nervous system. In AVP-ergic neurons there are present many neuropeptides with neuroregulatory function, among them thyroliberin (TRH) and galanin (GAL), which can influence the biosynthesis and secretion of vasopressin (AVP).

**Aim:** The aim of the study was to estimate the influence of TRH and GAL on AVP secretion from the neurohypophysis into the blood under condition of hiperosmotic overhydration.

**Materials and methods:** The experiments were carried out on 78 male Wistar rats. There were two experimental series.

Series 1. Groups: A — rats injected into the left cerebral ventricle (icv) with 10 ml of 0.9% NaCl once a day during three consecutive days; B — rats similarly applied icv with 200 ng of TRH dissolved in 10 ml of 0.9% NaCl. Subgroups: I — rats drinking pure water *ad libitum*; II — rats drinking 2% solution of NaCl during 3 days.

Series 2. Groups: A — rats applied icv with 5 ml of aCSF (artificial cerebrospinal fluid) once a day during two consecutive days; B — rats injected icv with 100 pM of GAL dissolved in 5 ml of aCSF. Subgroups: I — rats with free access to drinking water *ad libitum*; II — rats drinking 2% solution of NaCl through 2 days.

AVP content in the neurohypophysis as well as its blood plasma level was estimated by the radioimmunoassay.

**Results:** TRH and GAL caused the significant increase of neurohypophyseal AVP content with the diminution of AVP blood plasma concentration in salt-loaded rats.

**Conclusions:** TRH and GAL, as inhibitory neuromodulators for AVP release in the state of osmoreceptors stimulation, disturb the osmoregulatory mechanisms at the hypothalamo-hypophysial level.

### P1.10. Wpływ jednoczesnego zastosowania eksendyny-4, analogu peptydu glukagonopodobnego-1, i leptyny na pobieranie pokarmu u szczura

Ewa Bojanowska, Anna Nowak

Zakład Patofizjologii Behavioralnej, Katedra Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Eksendyna-4, trwały agonista GLP-1, peptydu jelitowego biorącego udział w kontroli pobierania pokarmu, jest obecnie stosowana w badaniach klinicznych nad leczeniem cukrzycy typu 2 i otyłości. Stężenie leptyny we krwi u otyłych osób jest podwyższone, a leptyna modyfikuje wpływ niektórych neuropeptydów na zachowanie pokarmowe.

**Cel:** Ocena modyfikującego wpływu leptyny na zależne od eksendyny-4 pobieranie pokarmu u szczura.

**Materiał i metody:** Doświadczenia przeprowadzono na samcach szczurów Wistar o początkowej masie ciała 290–350 g przetrzymywanych w indywidualnych klatkach w 12:12-godzinny cykl światło-ciemność. Standardowa pasza dla szczurów i woda były dostępne *ad libitum*. Szczurom wstrzykiwano dootrzewnowo: 1. wyłącznie eksendynę-4 (0,1, 2 lub 10  $\mu\text{g}$ ), 2. wyłącznie leptynę (0,1, 2, 10 lub 100  $\mu\text{g}$ ), 3. łącznie eksendynę-4 i leptynę (odpowiednio 0,1 + 0,1  $\mu\text{g}$ , 2 + 2  $\mu\text{g}$ , 10 + 10  $\mu\text{g}$ , lub 2 + 100  $\mu\text{g}$  na szczura), lub 4. 0,9-procentowy roztwór NaCl.

**Wyniki:** Leptyna zastosowana w dawce 10 lub 100  $\mu\text{g}$  znacząco obniżyła pobieranie pokarmu 24 godz. po wstrzyknięciu w porównaniu z podstawowym spożyciem w każdej grupie. Eksendyna-4 zastosowana w dawce 2 i 10  $\mu\text{g}$  zmniejszyła znacznie 24-godzinne spożycie pokarmu. Leptyna wstrzykiwana razem z eksendyną-4 znacząco zahamowała 24-godzinne pobieranie pokarmu we wszystkich badanych kombinacjach dawek w porównaniu z odpowiednimi wartościami kontrolnymi. Spożycie pokarmu u szczurów, którym wstrzyknięto wyłącznie 2  $\mu\text{g}$  eksendyny-4 lub tę samą dawkę eksendyny-4 i niską (2  $\mu\text{g}$ ) lub wysoką (100  $\mu\text{g}$ ) dawkę leptyny nie różniło się znacząco. Efekt tej ostatniej kombinacji leków była jednak znacznie silniejszy niż wywołany przez eksendynę-4 i leptynę w dawce 2  $\mu\text{g}$ .

**Wnioski:** Leptyna nie zaburza hamującego wpływu eksendyny-4 na pobieranie pokarmu. Przeciwnie, oba peptydy wpływają synergistycznie na zmniejszenie apetytu. Wydaje się, zatem, że eksendyna-4 może być stosowana jako lek przeciw otyłości w przypadku, gdy skojarzona jest ona z hiperleptynią.

Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi, temat nr 502-16-509.

### The effect of parallel administration of exendin-4, a glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analog, and leptin on feeding behavior in the rat

Ewa Bojanowska, Anna Nowak

Department of Behavioral Pathophysiology, Institute of General and Experimental Pathology, Medical University, Łódź

**Introduction:** Exendin-4, a stable agonist of GLP-1, a gut hormone involved in the control of food intake, is used currently in clinical trials to treat diabetes mellitus type 2 and obesity. Blood leptin level is elevated in overweight subjects and leptin modifies the action of some neuropeptides on feeding behavior.

**Aim:** Exendin-4 was used to evaluate possible modulatory action of leptin on food consumption in the rat.

**Material and methods:** The experiments were carried out on male Wistar rats with the initial body weight 290–350 g maintained in individual cages in a 12:12 h light-dark cycle. Rat standard chow and tap water were given ad libitum. Rats were injected intraperitoneally either with: 1. exendin-4 alone (0.1, 2 or 10  $\mu\text{g}$ ), 2. leptin alone (0.1, 2, 10 or 100  $\mu\text{g}$ ), 3. both exendin-4 and leptin (0.1+0.1  $\mu\text{g}$ , 2+2  $\mu\text{g}$ , 10+10  $\mu\text{g}$ , or 2+100  $\mu\text{g}$  per rat, respectively), or 4. 0.9% saline only.

**Results:** Leptin administered either in a dose of 10 or 100  $\mu\text{g}$  significantly decreased food intake 24 h after the injection as compared with the initial value in each group. Exendin-4 markedly reduced 24-hour food ingestion when administered in a dose of 2 and 10  $\mu\text{g}$ . Leptin co-injected with exendin-4 significantly inhibited the 24-hour food intake at all combinations of doses used as compared with the respective baseline values. However, food consumption in rats treated with either 2  $\mu\text{g}$  exendin-4 alone or the same dose of exendin-4 and low (2  $\mu\text{g}$ ) or high (100  $\mu\text{g}$ ) leptin dose did not differ significantly. The suppressory effect of the latter combinations of drugs was more pronounced than that produced by exendin-4 and 2  $\mu\text{g}$  leptin.

**Conclusions:** Leptin does not interfere with the inhibitory effect of exendin-4 on food intake. On the contrary, both peptides act synergistically to inhibit appetite. Hence, exendin-4 may be employed as an anti-obesity drug in subjects with hyperleptinemia.

This work was supported by the Medical University of Łódź, grant No. 502-16-509.

### P1.11. Procesy sekrecyjne w neuralnym układzie somatostatynowym w podwzgórzu owcy w okresie dojrzewania płciowego

Jolanta Polkowska<sup>1</sup>, Anna Wójcik-Gładysz<sup>1</sup>, Gilles Bruneau<sup>2</sup>, Marta Wańkowska<sup>1</sup>, Yves Tillet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Fizjologii i Żywności Zwierząt im. Jana Kielanowskiego, PAN Jabłonna

<sup>2</sup>Controle Central de l'Ovulation, I.N.R.A.-C.N.R.S., Nouzilly, Francja

**Wstęp:** W okresie poprzedzającym uzyskanie dojrzałości płciowej (*puberty*) w organizmie owcy zachodzą intensywne zmiany neuroendokrynne nie tylko w osi gonadotropowej, ale również somatotropowej. Wzrost aktywności hormonów tego układu pobudza procesy wzrostowe prowadzące do uzyskania krytycznej masy ciała i zasobów energetycznych potrzebnych do osiągnięcia *puberty*. Przypuszcza się, że w procesach tych ważną rolę odgrywają neurony somatostatynowe (SS) w podwzgórzu za pośrednictwem receptora estrogenowego  $\alpha$  (ER $\alpha$ ).

**Cel:** Celem pracy jest poznanie procesów sekrecyjnych — syntezy, magazynowania i uwalniania SS z neuronów podwzgórza u jarek w okresie przed-pubertalnym.

**Materiał i metody:** U jarek ( $n = 10$ ) od 3. do 7. miesiąca życia co 2 tygodnie przeprowadzano 4-godzinny zbiórki krwi do oznaczeń hormonu wzrostu (GH) metodą RIA. Owce ubito przed wystąpieniem pierwszego cyklu płciowego, mózgi infundowano paraformaldehydem, podwzgórza przygotowano do oznaczeń immunohistochemicznych SS, i (ER $\alpha$ ) oraz do hybrydyzacji *in situ* mRNA SS.

**Wyniki:** Zlokalizowano dwie pule immunoreaktywnych (ir) neuronów SS: dużą liczbę perykarionów w jądrze okołokomorowym (PEV), oraz pojedyncze ciała komórkowe w jądrze łukowatym (ARC) i liczne włókna nerwowe w jądrze brzuszno-przyśrodkowym (MB). W analizie mRNA dla SS wykazano obfitą ilość granulek srebra w perykarionach zlokalizowanych w PEV, ARC, a także w MB. Receptor estrogenowy  $\alpha$  był obecny w jądrach komórek nerwowych zlokalizowanych tylko w jądrach ARC i MB. W wyniosłości pośrodkowej obserwowano oznaki uwalniania ir granulek SS do naczyń krwionośnych. Poziom GH w okresie „przed-pubertalnym” był istotnie niższy ( $p < 0,05$ ) w porównaniu z wcześniejszymi okresami wzrostu.

**Podsumowanie i wnioski:** W okresie „przed-pubertalnym” u samicy owcy aktywność sekrecyjna SS jest bardzo wysoka, co wpływa na obniżenie poziomu GH w tym okresie rozwojowym. Przypuszcza się że pula SS zlokalizowana w brzuszno-przyśrodkowym podwzgórzu, niewystępująca u dojrzałych samic, może brać udział w przekazywaniu sygnałów do neuronów związanych z przed-owulacyjnym wyrzutem LH, na co wskazuje obecność ER $\alpha$  w tym obszarze podwzgórza.

### The secretory activity of somatostatin neuronal system in the hypothalamus of prepubertal female lambs

Jolanta Polkowska<sup>1</sup>, Anna Wójcik-Gładysz<sup>1</sup>, Gilles Bruneau<sup>2</sup>, Marta Wańkowska<sup>1</sup>, Yves Tillet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The Kielanowski Institute of Physiology and Nutrition of Animals, Polish Academy of sciences, Jabłonna

<sup>2</sup>Controle Central de l'Ovulation, I.N.R.A.-C.N.R.S., Nouzilly, Francja

**Introduction:** In the pre-pubertal period, an intensive neuroendocrine changes take place in both gonadotrophic and somatotrophic axes. Enhanced activity of somatotrophic axis stimulates the growth processes leading to reaching the adequate body weight and energy sto-

rage necessary for puberty. It is supposed that hypothalamic somatostatin (SS) neurons can play an important role in these processes.

**Aim:** The aim of the study was to investigate the secretory activity, i.e. processes of synthesis storage and release in the SS neurons in the hypothalamus of female lambs during the pre-pubertal period.

**Material and methods:** In female lambs (n = 10), the collection of blood was made every 2 weeks from 3<sup>rd</sup> to the 7<sup>th</sup> month of age, for radioimmunological estimation of growth hormone (GH). Lambs were killed before the first oestrous cycle, brains were fixed in situ by paraformaldehyde, the hypothalamus were prepared for immunohistochemical analyses of SS and oestrogen receptor  $\alpha$  (ER  $\alpha$ ) and for hybridisation in situ of mRNA for SS.

**Results:** Two sub-populations of immunoreactive (ir) SS neurons were localised: a huge number of irSS perikarya in periventricular (PEV) nucleus; single irSS cell bodies in arcuate nucleus (ARC) and

numerous irSS fibres in the medial basal (MB) nucleus. The analysis of mRNA for SS showed perikarya filled with silver grains localised in PEV, ARC and MB nuclei. The irRE $\alpha$  were seen in the nuclei of cell bodies localised only in the ARC and MB nuclei. The release of irSS granules to the blood capillaries were observed in the SS nerve terminals in the median eminence. The levels of GH in the peripheral blood in pre-pubertal period were significantly lower (p < 0.05) in comparison to earlier periods of growth.

**Summary and conclusions:** In pre-pubertal female sheep a high secretory activity of SS induces the attenuation of GH release in this developmental period. It is supposed that the presence of ER $\alpha$  in the medial-basal hypothalamus can be related to the sub-population of SS neurons localised in this area. These neurons could take part, in the transmission of signals to the neurons involved in the preovulatory surge of LH.

## SESJA PLAKATOWA (P2) — Choroby podwzgórza i przysadki

### P2.01. Ghrelin w guzach przysadki typu somatotropinoma

Magdalena Jaskuła<sup>1</sup>, Ryszard Waśko<sup>1</sup>, Robert Plewa<sup>3</sup>,  
Hanna Komarowska<sup>1</sup>, Elżbieta Poręba<sup>2</sup>,  
Anna Goździcka-Józefiak<sup>2</sup>, Włodzimierz Liebert<sup>4</sup>,  
Paweł Bolko<sup>1</sup>, Jerzy Sowiński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, AM, Poznań

<sup>2</sup>Zakład Wirusologii Molekularnej; Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

<sup>3</sup>Instytut Biologii Eksperymentalnej; Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

<sup>4</sup>Klinika Neurochirurgii, AM, Poznań

Ghrelin wymieniana jest jako jeden z czynników przysadkowej tumorogenezy. Postanowiliśmy:

1. Ocenic czy występuje różnica między stężeniem ghreliny w surowicy krwi chorych z akromegalią w zależności od tego jakie zostało zastosowane leczenie a także w porównaniu z osobami zdrowymi;
2. Ocenic ekspresję ghreliny w tkankach somatotropowych guzów przysadki.

**Materiał:** 42 chorych (10 mężczyzn i 32 kobiety) z rozpoznaną akromegalią, dotychczas nieleczonych bądź leczonych operacyjnie i/lub analogami somatostatyny. Chorzy zostali podzieleni na następujące grupy: Grupa I (tzw. grupa LAO [-] *long acting octreotide* [-]) — 28 chorych, którzy w chwili badania lub w okresie 3 miesięcy poprzedzających badanie nie otrzymywali długodziałającego analogu somatostatyny (w tym 9 chorych nieleczonych przednio operacyjnie (LAO [-], *surgery* [-]) oraz 19 chorych po operacji neurochirurgicznej guza w przeszłości (LAO [-], *surgery* [+])). Grupa II (tzw. grupa LAO [+]) — 14 chorych, którzy w chwili badania lub w okresie 3 miesięcy poprzedzających badanie otrzymywali długodziałający analog somatostatyny w dawce 30 mg raz w miesiącu (w tym 8 chorych leczonych przednio operacyjnie z następczą farmakoterapią (LAO [+], *surgery* [+]) oraz 6 chorych nieleczonych operacyjnie w przeszłości (LAO [+], *surgery* [-])). Grupę kontrolną stanowiło 18 zdrowych osób. Ghrelinę w surowicy oznaczano metodą radioimmunologiczną przy użyciu zestawu *Phoenix Pharmaceuticals*.

**Wyniki:**

1. Zaobserwowano znamienne niższe stężenia ghreliny u pacjentów leczonych analogami somatostatyny (p = 0,001);
2. Nie stwierdzono wpływu zabiegu operacyjnego na stężenie ghreliny (p = 0,1);

3. U osób zdrowych zaobserwowano jedynie tendencję do wyższego stężenia ghreliny w porównaniu z osobami chorymi (p = 0,08). Ocenę ekspresji mRNA ghreliny w tkankach guzów typu *somatotropinoma* wykonano metodą RT-PCR we fragmentach makrogruczolaków uzyskanych od chorych z akromegalią po uprzednim leczeniu analogami somatostatyny. Nie wykazaliśmy ekspresji mRNA ghreliny w żadnej z tkanek pochodzących z 3 guzów typu *somatotropinoma*, co można tłumaczyć efektem zastosowanego uprzednio leczenia analogiem somatostatyny.

### Ghrelin in pituitary tumours somatotropinoma type

Magdalena Jaskuła<sup>1</sup>, Ryszard Waśko<sup>1</sup>, Robert Plewa<sup>3</sup>,  
Hanna Komarowska<sup>1</sup>, Elżbieta Poręba<sup>2</sup>,  
Anna Goździcka-Józefiak<sup>2</sup>, Włodzimierz Liebert<sup>4</sup>,  
Paweł Bolko<sup>1</sup>, Jerzy Sowiński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Internal Diseases and Metabolism, University of Medical Sciences, Poznan

<sup>2</sup>Department of Molecular Virology, Adam Mickiewicz University, Poznan

<sup>3</sup>Department of Experimental Biology, Adam Mickiewicz University, Poznan

<sup>4</sup>Department of Neurosurgery, University of Medical Sciences, Poznan

Ghrelin has been considered as one of the factors that might be related to pituitary tumorigenesis.

**Aim:** We decided to:

1. evaluate the difference between serum ghrelin concentrations in acromegalic patients who were divided into groups according to the administered therapy (surgical and/or with long acting octreotide) as well as in healthy subjects;
2. determine the expression of ghrelin in tissues of somatotroph adenomas.

**Material:** Serum ghrelin concentration was measured in 42 (10 men and 32 women) acromegalic patients who had received surgical and/or long acting octreotide therapy or who hadn't receive any treatment at all. According to the applied treatment, we divided the patients into groups, as follows: 1) LAO (long acting octreotide) /+/, surgery /-/, 2) LAO /+/, surgery /+/, 3) LAO /-/, surgery /-/, 4) LAO /-/, surgery /+/. Ghrelin was also evaluated in 18 control healthy subjects. Serum ghrelin was measured with the use of commercially available radioimmunoassay RIA (*Phoenix Pharmaceuticals Inc., Belmont CA, USA*).

**Results:**

1. patients who were treated with somatostatin analogue (Sandostatin LAR) had serum ghrelin levels significantly lower than patients who had undergone surgery and than healthy subjects ( $p = 0.001$ );
2. there was no difference between patients who had undergone and who hadn't undergone surgery ( $p = 0.1$ );
3. mean ghrelin level in the healthy subjects was higher than mean fasting ghrelin level in acromegalic patients, but the difference was not statistically significant ( $p = 0.08$ ).

Ghrelin mRNA expression was studied in human pituitary somatotroph macroadenoma tissues, obtained from 3 acromegalic patients treated with somatostatin analogue preoperatively. The reverse transcription and real-time PCR were performed according to *Korbonits et al.* method. Ghrelin mRNA was not detected in any examined tissues. We postulate that the absence of the ghrelin gene transcript is mainly due to the treatment with somatostatin analogues administered preoperatively, which could have suppressed the ghrelin gene transcription.

## P2.02. Ocena zaburzeń homeostazy węglowodanowej u chorych z akromegalią

*Katarzyna Lizis-Kolus, Aldona Kowalska*

*Dział Endokrynologii, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce*

**Wstęp:** Akromegalia często współistnieje z nietolerancją glukozy lub cukrzycą. Ma to związek z insulinopornością oraz antagonizującym działaniem HGH w stosunku do insuliny.

**Cel:** Ocena częstości zaburzeń homeostazy węglowodanowej u chorych z akromegalią oraz wpływu terapii akromegalii na poziom glikemii.

**Materiał i metody:** Oceniliśmy 25 chorych (20 kobiet, 5 mężczyzn) w wieku 28–67 lat z akromegalią rozpoznaną w latach 2000–2005 w Dziale Endokrynologii ŚCO. HGH wynosił 4,4–118  $\mu\text{m}/\text{ml}$  (śr. 49,87), IGF-1 346–2382,2 ng/ml (śr. 2121,93). U wszystkich wykonano adenomektomię transfenoidalną: radykalną u 10 (10/25), nieradykalną u 15 (15/25) chorych. Po nieradykalnej adenomektomii u 3 (3/15) osób zastosowano następczą RTH, u 12 (12/15) — terapię analogiem somatostatyny — Sandostatin LAR. We wszystkich grupach oceniliśmy poziom glukozy na czczo i po doustnym obciążeniu 75 g glukozy u chorych bez wcześniej wykrytej cukrzycy.

**Wyniki:** Przy rozpoznaniu akromegalii nietolerancję glukozy (NTG) stwierdziliśmy u 7 chorych (28%). Cukrzycę typu 2 rozpoznaliśmy u 5 (20%) osób: 3 leczonych doustnymi lekami hipoglikemizującymi, 2 — insuliną. U 2 chorych (2/10) stosujących doustną

farmakoterapię po radykalnej adenomektomii uzyskano poprawę glikemii i zastosowano leczenie dietą. U 1 chorej po 5 miesiącach leczenia Sandostatin LAR wystąpiła NTG.

**Wnioski:**

1. Akromegalia często współistnieje z zaburzeniami homeostazy węglowodanowej.
2. Po radykalnym leczeniu akromegalii ze współistniejącą hiper-glikemią możliwa jest poprawa glikemii.
3. W trakcie terapii analogiem somatostatyny konieczna jest ocena glikemii.

## The assessment of glucose homeostasis in acromegaly patients

*Katarzyna Lizis-Kolus, Aldona Kowalska*

*Holy Cross Cancer Center, Kielce*

**Introduction:** Acromegaly often coexists with impaired glucose tolerance (IGT) or diabetes mellitus (DM). They are associated with insulin resistance and antagonistic functioning of HGH to insulin.

**Aim:** The assessment of frequency of glucose homeostasis disorders in acromegaly and the effect of therapy of the disease on glycaemia.

**Material and methods:** 25 patients (20 females, 5 males) aged 28–67 with active acromegaly diagnosed between 2000–2005. HGH level was 4.4–118  $\mu\text{IU}/\text{ml}$  (mean 49.87), IGF — 346–2382.2 ng/ml (mean 2121.93). They were treated with transphenoidal adenomectomy: radical — 10 (10/25), non-radical — 15 (15/25) patients. After non-radical adenomectomy 3 (3/15) patients received RTH, 12 (12/15) were cured with somatostatin analogue Sandostatin LAR. In each group we assessed glucose level before and after an oral glucose tolerance test in patients without earlier diagnosed DM.

**Results:** Along with diagnosed acromegaly, we recognised IGT in 7 patients (28%). DM was diagnosed in 5 patients (20%): 3 were treated with orally hypoglycemic drugs, 2 — with insulin. In 2 patients treated with orally hypoglycemic drugs after radical adenomectomy we observed the improvement in glycaemia and recommended only a hypoglycemic diet to them. After 5-month Sandostatin LAR therapy we recognized IGT in 1 patient.

**Conclusions:**

1. Acromegaly often coexists with the disorders of glucose homeostasis.
2. After radical therapy of acromegaly coexisting with hyperglycaemia, the improvement in glucose level is possible.
3. During somatostatin analogue therapy, control of glycaemia is necessary.

Cukrzyca (5/25)		NTG	Poprawa glikemii po radykalnej adenomektomii (10/25)	Terapia analogiem somatostatyny (12/15)
Doustne przeciwcukrzycowe	Insulinoterapia			
3/25	2/25	7/25	2/10	1/12 NTG

  

DM (5/25)		IGT	Improvement in glycaemia after radical adenomectomy (10/25)	Sandostatin LAR therapy (12/15)
Orally hypoglycemic drugs	Insulinotherapy			
3/25	2/25	7/25	2/10	1/12 IGT

### P2.03. Współistnienie akromegalii z rakiem tarczycy — opis przypadku

*Katarzyna Lizis-Kolus, Aldona Kowalska*

*Dział Endokrynologii, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce*

**Wstęp:** W akromegalii występuje zwiększona predyspozycja do rozrostów nowotworowych. Często współistnieje wole guzowate. Obserwuje się także nieco większą zapadalność na zróżnicowane raki tarczycy w stosunku do pozostałej populacji (5,8 vs. 5,0%).

**Celem** pracy jest opis chorej z akromegalią, u której rozpoznano nisko zróżnicowanego raka tarczycy.

**Materiał i metody:** Chora lat 57 z akromegalią po nieradykalnej adenomektomii transfenoidalnej w 1994 roku z powodu gruczolaka przysadki z hipersekrecją HGH/PRL, od 2000 roku leczona w Dziale Endokrynologii ŚCO. W wynikach badań laboratoryjnych nie spełnia kryteriów wyleczenia akromegalii. W 2000 roku włączono terapię bromokryptyną w dawce 5 mg. Z powodu wola guzowatego toksycznego 20 lat temu wykonano lobektomię prawostronną. W 2000 roku rozpoznano wznowę choroby. W USG objętość (V) PP — 4 ml, PL — 88,2 ml. Po wykonaniu BAC i scyntygrafii jodowej zastosowano leczenie <sup>131</sup>I (400 MBq), uzyskując eutyreozę, a w USG regresję V PL — 24,5 ml (o 72,22%), bez regresji wielkości guzków. W USG po 5 latach od terapii <sup>131</sup>I niewielka progresja guzka w PL: z 18 × 24 × 34 mm na 20 × 25 × 38 mm, w BAC — guz oksyfilny. Wykonano restrumektomię. W badaniu histopatologicznym w guzku PL — rak insularny (pT2NxMx). Po radykalizacji przeprowadzono diagnostykę izotopową tarczycy i całego ciała, w której nie wykazano rozszewu procesu nowotworowego. Zastosowano leczenie uzupełniające <sup>131</sup>I (2500 MBq). Włączono terapię supresyjnymi dawkami L-T<sub>4</sub>.

#### Wnioski:

1. W akromegalii występuje większa skłonność do rozrostów nowotworowych łagodnych i złośliwych, co skłania do wnikliwego nadzoru onkologicznego.
2. Wole guzowate jest częstą patologią u chorych z akromegalią.
3. Ze względu na wzrost ryzyka raka tarczycy w akromegalii wskazane jest wykonywanie USG tarczycy oraz BAC guzków tarczycy.

### Coexistence of acromegaly with thyroid cancer — case report

*Katarzyna Lizis-Kolus, Aldona Kowalska*

*Holy Cross Cancer Center, Kielce*

**Objective:** Acromegaly patients are known to be more predisposed to development of neoplasia. It often coexists with nodular goiter. The prevalence of thyroid carcinoma is slightly higher than in general population (5.8 vs. 5.0%).

**The aim of the study** is to describe an acromegaly woman with low differentiated thyroid carcinoma.

**Material and methods:** 57-year-old acromegaly woman after non radical transphenoidal adenomectomy in 1994 due to pituitary adenoma secretes HGH/PRL has been treated in the Department of Endocrinology since 2000. Since this year she has been treated with bromocriptine 5 mg/d. 20 years earlier she was submitted to right-side lobectomy due to nodular goiter. In 2000 the relapse of this disease was recognized. Thyroid volume (TV)

was assessed in USG: RL — 4 ml, LL — 88.2 ml. After fine-needle biopsy aspiration (FNAB) and scintigraphy she was treated with <sup>131</sup>I (400 MBq). Then we observed euthyrosis, in USG regression of RL volume — 24.5 ml (72.22%) and no regression of the volume of thyroid nodules. 5 years after the therapy we observed slight progression of the goiter in LL from 18 × 24 × 34 mm to 20 × 25 × 38 mm and in FNAB results — tumor oxyphilic. Restrumectomy was performed and in histopathological examination insular carcinoma was recognized. After radicalization, scintigraphy of the thyroid and the whole body was done. It didn't detect any disseminations of the cancer. She received supplementary treatment with <sup>131</sup>I (2500 MBq) and L-T<sub>4</sub> therapy in suppressive doses.

#### Conclusion:

1. In acromegaly there is an increased tendency to develop benign and malignant neoplasms, so oncological control is necessary.
2. Nodular goiter is a common pathology in acromegaly.
3. Due to the increased risk of thyroid cancer in acromegaly, USG and FNAB of thyroid nodules are recommended.

### P2.04. Oponiaki u pacjentów z akromegalią: opis dwóch przypadków

*Małgorzata Trofimiuk<sup>1</sup>, Dariusz Adamek<sup>2</sup>, Ryszard Czepko<sup>3</sup>, Grzegorz Sokołowski<sup>1</sup>, Bohdan Huszno<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Katedra i Klinika Endokrynologii, Collegium Medicum, UJ, Kraków*

<sup>2</sup>*Zakład Neuropatologii, Collegium Medicum, UJ, Kraków*

<sup>3</sup>*Klinika Neurochirurgii, Collegium Medicum, UJ, Kraków*

**Wstęp:** Do chwili obecnej opisano jedynie kilkanaście przypadków koegzystencji guzów przysadki wydzielających hormon wzrostu (GH) z oponiakami, szczególnie u pacjentów niepoddanych uprzedniej radioterapii.

**Cel:** Celem pracy jest przedstawienie 2 przypadków współistnienia oponiaka u chorych z akromegalią.

#### Opis przypadków:

**Przypadek 1.** 52-letnia kobieta zgłosiła się z powodu ograniczenia pola widzenia. Rozpoznano mikrogruczolak przysadki wydzielającego GH. Pacjentka została skutecznie zoperowana z dojścia przez zatokę klinową. W kontrolnym badaniu MRI wykazano obecność drugiego guza penetrującego do kanału wzrokowego prawego. Reoperowana, badanie histopatologiczne potwierdziło obecność oponiaka. Po zabiegu stwierdzono poprawę ostrości widzenia.

**Przypadek 2.** 26-letnia kobieta hospitalizowana z powodu szybko narastającej apatii i niedowładu kończyn. W CT głowy wykazano obecność dużego guza okolicy siodła tureckiego penetrującego do otaczających struktur centralnego układu nerwowego. Operowana drogą transkraniálną — w badaniu histopatologicznym oponiak. Reoperowana z dojścia transfenoidalnego, stwierdzono guza przysadki wydzielającego GH. Po operacji obserwowano znaczną poprawę kliniczną. Z uwagi na wysokie wartości GH pomimo leczenia analogami somatostatyny, reoperowana rok po pierwszym zabiegu — uzyskano jedynie zmniejszenie masy guza, bez normalizacji GH. Pacjentka nie wyraziła zgody na radioterapię.

**Wnioski:** Współwystępowanie oponiaków i akromegalii można wiązać z pro-proliferacyjnym wpływem hormonu wzrostu i/lub IGF-1 na guzy centralnego układu nerwowego, zwłaszcza że oponiaki wykazują ekspresję receptorów dla hormonu wzrostu i insulinopodobnych czynników wzrostu.

## Meningiomas in acromegalic patients: the report of two cases

Małgorzata Trofimiuk<sup>1</sup>, Dariusz Adamek<sup>2</sup>,  
Ryszard Czepko<sup>3</sup>, Grzegorz Sokołowski<sup>1</sup>, Bohdan Huszno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chair and Department of Endocrinology, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Cracov

<sup>2</sup>Neuropathology Department, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Cracov

<sup>3</sup>Neurosurgery Department, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Cracov

**Introduction:** So far only several cases of co-existing meningiomas and pituitary tumors secreting growth hormone (GH) have been described, particularly in patients not treated with irradiation.

**Aim:** The aim of the study was to describe two cases of co-occurrence of acromegaly and meningioma.

### Case reports:

**Case 1.** 52-year old female complained of visual disturbances. She was diagnosed with pituitary microadenoma secreting GH, and subsequently underwent successful transsphenoidal surgery. MRI performed after surgery revealed the presence of the second tumor invading right optic nerve canal. She was re-operated, meningioma was confirmed on histopathological examination. After the surgery visual field has improved.

**Case 2.** 26-year old female was admitted to the hospital due to rapidly progressing apathy and extremities paralysis. Head CT showed the giant tumor of parasellar region invading neighbouring central nervous system structures. She was operated (transcranial approach). The histopathological assessment showed fibrous meningioma. After second transsphenoidal surgery, the second GH-secreting pituitary tumor was confirmed. Although the operation did not removed the whole tumor, the patient improved substantially. One year later she was reoperated because of high levels of GH not controlled by somatostatin analogue injections. Unfortunately, the surgery did not normalized GH levels. The patient declined irradiation.

**Conclusions:** Co-existence of meningiomas and acromegaly may result from pro-proliferative action of high levels of GH and/or IGF-1 on central nervous system tumors expressing growth hormone and insulin-like growth factors receptors.

## P2.05. Ocena zależności pomiędzy stężeniem insuliny a występowaniem zmian patologicznych w jelicie grubym u chorych na akromegalię

Wanda Foltyn<sup>1</sup>, Beata Kos-Kudła<sup>1</sup>, Violetta Matyja<sup>1</sup>,  
Bogdan Marek<sup>2</sup>, Dariusz Kajdaniuk<sup>2</sup>, Lucyna Siemińska<sup>2</sup>,  
Janusz Strzelczyk<sup>1</sup>, Mariusz Nowak<sup>2</sup>, Anna Zemczak<sup>1</sup>,  
Małgorzata Borowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii, Zabrze, Śląska Akademia Medyczna, Katowice

<sup>2</sup>Zakład Patofizjologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii, Zabrze, Śląska Akademia Medyczna, Katowice

**Wstęp:** Patogeneza zmian rozrostowych w jelicie grubym u chorych na akromegalię pozostaje nadal niejasna. Przypuszcza się, że poza hormonami osi somatotropinowej (GH i IGF-1) w procesie tym biorą udział także inne czynniki. Badania molekularne i na modelach zwierzęcych wskazują na istotną rolę hiperinsulinemii w powstawaniu zmian nowotworowych w jelicie grubym.

**Celem pracy** była ocena zależności pomiędzy stężeniem insuliny i antropometrycznymi wykładnikami hiperinsulinemii a występowaniem zmian patologicznych w jelicie grubym u chorych na akromegalię.

**Materiał i metodyka:** Badanie przeprowadzono u 40 chorych z czynną akromegalią, w tym u 24 kobiet i 16 mężczyzn w wieku od 24 do 77 lat (śr.  $\pm$  SD  $50 \pm 12$ ). Analizie poddano wyniki badań oceniających funkcję osi somatotropinowej (GH, IGF-1), gospodarkę węglowodanową (stężenie glukozy i insuliny na czczo, test doustnego obciążenia glukozą, wskaźnik insulinooporności HOMA), gospodarkę lipidową (cholesterol całkowity, cholesterolu frakcji HDL i LDL, triglicerydy) oraz wyniki badania antropometrycznego (wskaźnik masy ciała — BMI, wskaźnik talia/biodra — WHR) i badania kolonoskopowego.

**Wyniki:** Zmiany patologiczne w jelicie grubym (62 polipy i 2 płaskie ogniska) wykryto u 19 chorych na akromegalię (47,5%). W obrębie 42 polipów stwierdzono hiperplazję błony śluzowej jelita grubego, w pozostałych 18 polipach oraz w 2 płaskich ogniskach rozpoznano gruczolaka cewkowego, cewkowo-kosmkowego i kosmkowego. Zmiany patologiczne w jelicie grubym występowały częściej u pacjentów z podwyższonym wskaźnikiem WHR ( $p < 0,05$ ). Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy obecnością mnogich polipów a stężeniem IGF-1, insuliny i wskaźnikiem HOMA ( $p < 0,05$ ). Zmiany o charakterze gruczolaków korelowały pozytywnie ze wskaźnikiem HOMA i wskaźnikiem masy ciała BMI ( $p < 0,05$ ).

**Wnioski:** Wyniki badania wskazują na istnienie związku pomiędzy hiperinsulinemią i jej antropometrycznymi wykładnikami a zmianami patologicznymi w jelicie grubym u chorych na akromegalię.

## The relationship between insulin serum concentration and colon pathology in patients with acromegaly

Wanda Foltyn<sup>1</sup>, Beata Kos-Kudła<sup>1</sup>, Violetta Matyja<sup>1</sup>,  
Bogdan Marek<sup>2</sup>, Dariusz Kajdaniuk<sup>2</sup>, Lucyna Siemińska<sup>2</sup>,  
Janusz Strzelczyk<sup>1</sup>, Mariusz Nowak<sup>2</sup>, Anna Zemczak<sup>1</sup>,  
Małgorzata Borowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Endocrinology, Medical University of Silesia, Katowice

<sup>2</sup>Division of Pathophysiology, Department of Pathophysiology and Endocrinology Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice

**Introduction:** Pathogenesis of colon cancer in patients with acromegaly remains still unknown. Hormones of somatotropin axis (GH, IGF-1) play an important role in the initiation and promotion of colorectal cancer, however it has been suggested that other factors could be involved in this process too. In molecular and animals studies hiperinsulinemia has been shown to be independent risk factor of colorectal carcinogenesis.

**The aim of the study** was to assess the relationship between insulin serum concentration and colon pathology in patients with acromegaly.

**Material and methods:** The study was performed on 40 patients with acromegaly, who underwent colonoscopy [24 women and 16 men, ages 24–77 (mean age 50, SD  $\pm$  12)]. Serum concentration of growth hormone GH, insulin-like growth factor IGF-1, glucose, insulin, total cholesterol, HDL and LDL cholesterol, triglycerides were measured. The oral glucose tolerance test was performed. Body mass index BMI and waist to hip ratio WHR was calculated.

**Results:** Pathological changes in colon (62 polyps and 2 flat focal lesions) were detected in 19 patients with acromegaly (47,5%). 42 polyps were identified as hyperplasia. Tubular, tubulo-villous and villous adenoma were found in another 18 polyps and in 2 flat focal lesions. The occurrence of colon pathology was associated significantly with WHR ( $p < 0.05$ ). It was a positive correlation between the presence of multiple colon polyps and IGF-1 serum concentration, insulin serum concentrations and WHR ( $p < 0.05$ ).



Adenomas was positive correlated with anthropometric parameters: WHR and BMI ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Our study showed an association between hyperinsulinemia, its anthropometric indexes and colon pathology in patients with acromegaly.

## P2.06. Olbrzymi guz przysadki wydzielający hormon wzrostu przebiegający bez wyraźnych klinicznych objawów akromegalii

*Anna Makowska<sup>1</sup>, Ewa Matyja<sup>2</sup>, Jarosław Andrychowski<sup>3</sup>, Ewa Bar-Andziak<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii, Akademia Medyczna, Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Neuropatologii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk, Warszawa

<sup>3</sup>Klinika Neurochirurgii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego, Polska Akademia Nauk, Warszawa

Akromegalię rozpoznajemy na podstawie charakterystycznych objawów klinicznych oraz podwyższonego stężenia IGF-1 i braku adekwatnego hamowania wydzielania hormonu wzrostu w teście obciążenia glukozą. Niektóre skąpowydzielające guzy przysadki o typie somatotropinoma mogą jednak nie powodować objawów charakterystycznych dla akromegalii.

U 37-letniej kobiety przez 10 laty doszło do zatrzymania miesiączkowania. Następnie pojawiły się zaburzenia widzenia aż do całkowitej ślepoty oka prawego i niedowidzenia okiem lewym. Klinicznie nie stwierdzano u chorej cech akromegalii. W trybie pilnym po rozpoznaniu olbrzymiego guza przysadki została skierowana na operację neurochirurgiczną. Po zabiegu w badaniu NMR uwidocznił się zespół pustego siodła z pociąganiem skrzyżowania nerwów wzrokowych i resztkę guza w okolicy zatoki jamistej. W kolejnym badaniu kontrolnym stwierdzono powiększanie się pozostawionego fragmentu guza. Według opinii neurochirurgów kolejna interwencja chirurgiczna i radioterapia tej okolicy mogłaby grozić chęcej utratą wzroku. W badaniu immunohistochemicznym usuniętego wcześniej gruczolaka stwierdzono dodatni odczyn na GH, PRL oraz słaby na SSTR2A i wyraźny na SSTR5. Stężenie hormonu wzrostu wahało się między 2 a 6 ng/ml i w teście obciążenia glukozą nie obniżało się poniżej 1 ng/ml. Stężenia IGF-1 były podwyższone. Rozpoznano skąpoobjawową akromegalię i zakwalifikowano chorą do przewlekłego leczenia analogiem somatostatyny oraz bromokryptyną. Przez ponad rok nie stwierdzano progresji guza. Z uwagi na to, że nie doszło jednak do obniżenia stężenia hormonu wzrostu ani do normalizacji IGF-1 zdecydowano o zaprzestaniu leczenia analogiem somatostatyny, utrzymując jedynie leczenie bromokryptyną. Po roku doszło do pogorszenia widzenia w oku lewym i stwierdzono wyraźne powiększenie się guza. Ponownie włączono do leczenia analog somatostatyny.

W danym przypadku mimo wieloletniego przebiegu olbrzymiego gruczolaka przysadki o typie *somatotropinoma* u chorej nie ujawniły się klasyczne cechy akromegalii. Warto więc u młodych kobiet z klinicznie wydawałoby się nieczynnymi hormonalnie makrogruczolakami przysadki oznaczać stężenie IGF-1 i GH. W przypadku rozpoznania akromegalii można zastosować leczenie analogiem somatostatyny i nawet w razie braku normalizacji wydzielania GH i IGF-1 uzyskać efekt hamujący na wzrost guza.

## Giant growth hormone secreting pituitary tumor without acromegalic features

*Anna Makowska<sup>1</sup>, Ewa Matyja<sup>2</sup>, Jarosław Andrychowski<sup>3</sup>, Ewa Bar-Andziak<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Internal Diseases and Endocrinology, Medical University, Warsaw

<sup>2</sup>Department of Neuropathology M. Mossakowski Medical Research Center, Polish Academy of Sciences, Warsaw

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, M. Mossakowski Medical Research Center, Polish Academy of Sciences, Warsaw

The diagnosis of acromegaly is suspected on the typical clinical presentation and is subsequently confirmed biochemically by elevated GH and IGF-1 concentration. Silent somatotroph pituitary tumors are defined as GH-secreting tumors with no clinical stigmata of GH excess.

A 37-yr-old woman with no classic features of acromegaly initially presented with amenorrhea of long duration and progressive visual loss was found to have giant pituitary tumor. Given the size of the tumor and visual symptoms urgent neurosurgical intervention was undertaken. Immunohistochemistry of the adenoma was positive for the presence of GH and PRL producing cells as well as for somatostatin receptor 2A and 5. Follow-up MRI after surgery revealed only small residual tumor near cavernous sinus but her repeated MRI continued to demonstrate growth of the remnants in the frontal side of the sella and near cavernous sinus. Postsurgical IGF-1 level was elevated and random GH was between 2 and 6 ng/ml with non complete suppression after glucose load. Because of high risk of repeated neurosurgical operation pharmacological treatment with somatostatin analogs and dopamine agonist was undertaken. During one year of therapy no further growth of the tumor was noticed but because GH and IGF-1 levels remain unchanged so somatostatin analog therapy was stopped. One year after discontinuation of octreotide therapy tumor started to growth so somatostatin analog was again introduced.

From the clinical standpoint, young women presenting with non-functioning pituitary adenoma should be screened for GH and IGF-1 to achieve correct diagnosis, since silent somatotroph adenoma may respond to bromocriptine or octreotide medication.

## P2.07. Ektopowa postać akromegalii u 2 chorych

*Maria Kurowska<sup>1</sup>, Joanna Malicka<sup>1</sup>, Wojciech Zgliczyński<sup>2</sup>, Grzegorz Zieliński<sup>3</sup>, Anna Nocuń<sup>4</sup>, Leszek Buk<sup>5</sup>*

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii, AM, Lublin

<sup>2</sup>Klinika Endokrynologii, CMKP, Warszawa

<sup>3</sup>Klinika Neurochirurgii, WIN, Warszawa

<sup>4</sup>Zakład Medycyny Nuklearnej, AM, Lublin

<sup>5</sup>Zakład Radiologii, AM, Lublin

**Wstęp:** Ektopowa postać akromegalii występuje u < 1% chorych. W większości przypadków jest ona spowodowana produkcją GHRH lub GH przez guz nowotworowy. Jeszcze rzadsze są ektopowo położone gruczolaki przysadki. Zlokalizowane najczęściej w zatoce klinowej lub nosogardzieli, rozwijają się z fragmentu przysadki, pozostałego w przewodzie czaszkowo-gardłowym.

**Cel pracy:** Opis 2 chorych z ektopową postacią akromegalii.

**Materiał:** M — lat 55 i K — lat 58 leczeni w latach 2005–2006.

**Metoda:** Analiza obrazu klinicznego oraz badań hormonalnych i obrazowych.

**Opis przypadków:** Chory lat 55, z somatycznymi cechami akromegalii od kilku lat. W MRI przysadka nieco asymetryczna o wymiarach 14 × 4 mm, bez zmian ogniskowych. Na górnej

ścianie zatoki klinowej obecny kulisty obszar odpowiadający ectopowemu mikrogruczolakowi przysadki. Stężenie GH = 4,3 ng/ml, brak hamowania GH glukozą, IGF-1 = 615 ng/ml. Po przygotowaniu analogiem somatostatyny guz usunięto. W ocenie pooperacyjnej: MRI — prawidłowy obraz przysadki, GH = 0,18 ng/ml; IGF1 = 140 ng/ml, obecne hamowanie GH glukozą. Chora lat 58, z akromegalią rozpoznaną przed 11 laty. W powtarzanych MRI stwierdzano obecność dużej przysadki mieszczącej się w siodle tureckim, bez zmian ogniskowych. W październiku 2005 roku, w CT wykryto guz o wymiarach 54 × 47,7 × 35,7 mm, zlokalizowany w górnym otworze klatki piersiowej, między kręgosłupem, tchawicą a górnym odcinkiem przetyku. W scyntygrafii z <sup>99</sup>Tc Tektretodem potwierdzono obecność receptorów somatostatynowych na powierzchni guza. GH = 2 ng/ml; IGF-1 = 458 ng/ml, brak hamowania GH glukozą. Chromogranina A i 5HIAA w normie. Z uwagi na lokalizację guza i związane z nią ryzyko operacyjne odstąpiono od leczenia chirurgicznego i włączono analog somatostatyny.

**Podsumowanie:** Rzadka postać akromegalii u opisanych chorych różni się lokalizacją i formą ectopii: u M jest to położony w zatoce klinowej gruczolak somatotropowy, u K — najprawdopodobniej guz neuroendokryny.

## Ectopic acromegaly — a report of 2 cases

*Maria Kurowska<sup>1</sup>, Joanna Malicka<sup>1</sup>, Wojciech Zgliczyński<sup>2</sup>, Grzegorz Zieliński<sup>3</sup>, Anna Nocuń<sup>4</sup>, Leszek Buk<sup>5</sup>*

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Medical University, Lublin

<sup>2</sup>Department of Endocrinology, Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, Military Medical Institute, Warsaw

<sup>4</sup>Department of Nuclear Medicine, Medical University, Lublin

<sup>5</sup>Department of Radiology, Medical University, Lublin

**Introduction:** Ectopic acromegaly is diagnosed in < 1% of patients and is mostly caused by GHRH or GH secreting tumors. Ectopic pituitary adenomas, located in the sphenoid sinus or nasopharynx, which derive from a residual pituitary fragment in the craniopharyngeal duct, are very rare.

**Aim:** A report of 2 ectopic acromegaly cases.

**Material:** 2 pts, treated in 2005–2006.

**Method:** Analysis of clinical picture, hormonal and visual imaging procedures.

**Case reports:** 55y old M with clinical symptoms for several years. MRI revealed only slightly asymmetric pituitary gland (14 × 4 mm). Simultaneously, the microadenoma near the superior wall of the sphenoid sinus was confirmed. GH = 4,3 ng/ml, IGF-1 = 615 ng/ml and there was no GH suppression in OGTT. After a pretreatment with a somatostatin analog the tumor has been removed. After surgery control diagnostic tests have revealed normal pituitary gland in MRI, GH = 0,18 ng/ml, IGF-1 = 140 ng/ml and GH suppression in OGTT test. 58 years old F with acromegaly diagnosed 11 years ago. Repeated MRI showed the presence of an intrasellar pituitary enlargement without any other changes. CT scan performed in October 2005, revealed the presence of the tumor in the superior aperture of the thorax (54 × 47,7 × 35,7 mm), localized among spinal column, trachea and the upper part of the esophagus. The scan with <sup>99</sup>Tc Tectretide showed the presence of somatostatin receptors on the surface of the tumor. Level of GH = 2 ng/ml, IGF-1 = 458 ng/ml, no GH suppression in OGTT test. Chromogranin A and 5HIAA were in normal ranges. In consideration of tumor localization as well as surgical treatment risk, removal of the lesion was ruled out and a long-acting somatostatin analog has been applied.

**Summary:** We describe a rare clinical entity of acromegaly caused by a unique form of ectopia; in patient 1 it was intrasphenoidal GH-secreting somatotroph adenoma whereas in patient 2 — probably neuroendocrine tumor localized in the thorax.

## P2.08. Obraz kliniczny olbrzymich gruczolaków przysadki

*Maria Kurowska, Ewa Kiszczak-Bochyńska, Joanna Malicka, Jerzy S. Tarach*

*Klinika Endokrynologii, Akademia Medyczna, Lublin*

**Wstęp:** Pomimo łagodnej natury histologicznej, gruczolaki przysadki mogą przejawiać wysoką aktywność wzrostową i osiągać znaczne rozmiary, penetrując zarówno do przestrzeni nad- i okołosiodłowej, jak i do tkanek sąsiadujących. Olbrzymie gruczolaki (*giant, large, mega-adenoma*) wg Jeffersona stanowią około 6% guzów przysadki.

**Cel pracy:** próba określenia cech klinicznych, specyficznych dla grupy chorych z olbrzymim gruczolakiem przysadki.

**Material:** 8 chorych (3 K i 5 M) w wieku 19–63, średnio 43,4 ± 14,1 roku leczonych w latach 2003–2006.

**Metoda:** Analiza obrazu klinicznego oraz badań hormonalnych i obrazowych. Badaniami objęto chorych z gruczolakiem o największym wymiarze ≥ 3 cm.

**Wyniki:** Czas trwania objawów 1–10 lat, śr. 3,5 ± 3,1 lat. Objawy: Bóle i zawroty głowy = 5/8 chorych. Zaburzenia widzenia w sumie = 6/8 osób (ubytki w polu widzenia — 3, podwójne widzenie — 3, opadanie powieki — 2); zaburzenia węchu — 1/8; utrata i zaburzenia słuchu = 2/8; padaczka = 1/8. Udar do przysadki u 5 chorych. Aktywność hormonalna: prolaktynoma u 5 (3 M, 2 K) (stężenie PRL od 120 do 4318 ng/ml); guz nieczynny hormonalnie z subkliniczną niewydolnością przysadki — u 2 (1 K, 1 M), makrogruczolak ACTH — u 1 M (ACTH 68,2 pg/ml, wydalanie kortyzolu z moczem > 960 mg/dobę). MRI: Największy wymiar guza 30–66 mm (śr. 42,3 ± 13,0). Ucisk na skrzyżowanie wzrokowe — 6/8; ekspansja do zatok jamistych — 8/8; do zatoki klinowej — 4/8 osób; inne (uciska i przemieszcza róg komory bocznej; uciska i przemieszcza płat skroniowy, uciska dno komory III, penetruje do oczodołu oraz szerzy się ku tyłowi wzdłuż prawego pasma wzrokowego) — 3/8 osób.

**Podsumowanie:** W badanej grupie przeważają mężczyźni. W obrazie klinicznym dominują objawy ekspansji guza. Częsty jest udar przysadki.

**Wniosek:** Obraz kliniczny olbrzymich gruczolaków przysadki nie wykazuje istotnych różnic w porównaniu z makrogruczolakami. Zwraca uwagę dysproporcja między słabo wyrażoną manifestacją kliniczną a stopniem zaawansowania zmian stwierdzanych w badaniach obrazowych.

## Clinical picture of giant pituitary adenomas

*Maria Kurowska, Ewa Kiszczak-Bochyńska, Joanna Malicka, Jerzy Tarach*

*Department of Endocrinology, Medical University, Lublin*

**Introduction:** Despite of benign histological type, adenoma may demonstrate increased growth activity and achieve considerable size, spreading to extrasellar tissues. Large pituitary adenomas, described as giant, large or mega-adenomas are — according to Jefferson — 6% of all pituitary tumors.

**The aim** of study was to determine clinical features, characteristic for the group of patients with giant pituitary adenoma.

**Material:** 8 patients (3 F; 5 M) aged 19–63 (mean  $43.5 \pm 15.5$ ), observed in 2003–2006.

**Method:** Analysis of the clinical features, evaluation of the concentration of hormones and image examinations. The research has covered the patients with the adenoma sized  $\geq 3$  cm.

**Results:** Duration of the clinical symptoms varied from 1 to 10 years ( $3.5 \pm 3.1$ ). There were headaches and dizziness — 5/8 pts; visual impairment — 7/8 pts (visual field defect — 3, double vision — 3, ptosis — 2); disturbances of smell — 1/8; loss of hearing — 1/8, epilepsy — 1/8. Pituitary apoplexy preceded the diagnosis of the tumor in 5 patients. Hormonal activity: prolactinoma — 5 pts (3 M; 2 F), (PRL level 120–4318 ng/ml); nonfunctional adenoma with subclinical hypopituitarism — in 2 (1 F; 1 M); ACTH-secreting tumor — in 1 M (ACTH 68.2 pg/ml, urine cortisol excretion  $> 960$  mg/day). MRI: the largest diameter of the tumor: 30–66 mm (mean  $42.3 \pm 13.0$ ); compression on the chiasma opticum — 5/8 pts, invasion of cavernous sinus — 7/8 pts, penetration of sphenoid sinus — 3/8 pts; involving others extrasellar structures — 3/8 pts.

**Summary:** Males predominated in the evaluated group. The most considerable clinical features are caused by the tumor's penetration into the surrounding structures. Pituitary stroke is frequently the first symptom of the tumor.

**Conclusion:** Giant pituitary adenomas do not differ much from macroadenomas in clinical course. Clinical manifestation does not reflect the stage of tumor's invasiveness in MRI.

## P2.09. Udar przysadki jako pierwszy objaw makrogruczolaka u 6 chorych

*Maria Kurowska, Joanna Malicka, Jerzy S. Tarach*

*Klinika Endokrynologii, AM, Lublin*

**Wstęp:** Aktualne badania dowodzą, że udar do przysadki jest zjawiskiem nadspodziewanie częstym. Pełnoobjawowy występuje u około 6,8%, skąpoobjawowy u 2,3%, a bezobjawowe krwawienie do guza u około 7,5% chorych z makrogruczolakiem przysadki. Udar do przysadki jest pierwszym objawem choroby u 19% chorych z niedawno rozpoznany makrogruczolakiem.

**Cel pracy:** Charakterystyka kliniczna grupy chorych z udarem do przysadki jako pierwszym objawem gruczolaka.

**Material:** 6 chorych (2 K; 4 M) w wieku 19–68 (śr.  $50,3 \pm 18,8$ ) lat, z jawnym klinicznie udarem przysadki, leczonych w latach 2003–2006. Rozpoznanie ustalono u 1 M — 2003 rok, u 4 osób (2 K; 2 M) — 2005 rok, u 1 M w 2006 roku.

**Metoda:** Analiza obrazu klinicznego oraz badań hormonalnych i obrazowych.

**Wyniki:** U badanych chorych rozpoznano: 3 guzy nieczynne hormonalnie (2 K, 1 M); u 2 M *prolaktynoma* (PRL = 120–4318,5 ng/ml), u 1 M *gonadotropinoma* (FSH = 42 mjm./ml; LH = 24,7 mjm./ml), u którego udar wystąpił w 5. dobie po zabiegu pomostowania aortalno-wieńcowego. Objawy udaru: bóle głowy (3/6 chorych); zaburzenia świadomości (4/6); nudności i wymioty (2/6); ubytek pola widzenia (1/6); porażenie n. III (2/6); porażenie n. VI (3/6); napad padaczkowy u 1 chorego, sztywność karku — u 1 M z obecnością w CT świeżo wynaczynionej krwi w rogach potylicznych obu komór bocznych i przemijający niedowład prawej kończyny górnej u 1 M. Moczówka prosta u 1 chorego. MRI: największy wymiar guza: 25–35 mm. 5/6 chorych było wstępnie hospitalizowanych w oddziałach neurologicznych, wszyscy leczeni zachowawczo.

**Podsumowanie:** Wśród badanych przeważali mężczyźni. U połowy chorych guz przysadki był nieczynny hormonalnie. Wśród objawów dominowały bóle głowy oraz zaburzenia świadomości i porażenie n. czaszkowych III i VI.

**Wniosek:** Czynniki ryzyka samoistnego udaru przysadki są: średnica guza  $> 2$  cm, wiek średni, płeć męska, brak lub słabo wyrażona klinicznie aktywność hormonalna guza.

## Pituitary apoplexy as a first symptom of macroadenoma in 6 patients

*Maria Kurowska, Joanna Malicka, Jerzy S. Tarach*

*Department of Endocrinology, Medical University, Lublin*

The up-to-date studies demonstrated that pituitary apoplexy is unexpectedly frequent entity. The whole symptomatic, oligo or asymptomatic hemorrhagic infarction of the pituitary macroadenoma appear in 6.8%, 2.3% and 7.5% of patients, respectively. Pituitary apoplexy is the first symptom of the disease in 19% of early diagnosed macroadenomas.

**The aim of the study:** Clinical characteristic of patients suffering from pituitary apoplexy as a first symptom.

**Material and methods:** 6 patients (2 F  $\pm$  4 M), aged 19–68, (mean  $50 \pm 18.8$ ), with clinically evident pituitary apoplexy, treated in the period of 2003–2006. Analysis of the clinical picture, hormonal studies as well as imaging procedures were performed.

**Results:** In the studied group of patients, the following diagnoses have been established: 3 non-secretory adenomas (2 F, 1 M), 2 prolactinomas (2 M; PRL = 120–4318.5 ng/ml), 1 gonadotropinoma (1 M; FSH = 42 mIU/ml, LH = 24.7 mIU). In the latter, 5 days after CABG pituitary apoplexy has been occurred. Pituitary apoplexy symptoms: headache (3/6 patients), consciousness disorders (4/6), nausea and vomiting (2/6), visual field defect (1/6), the third (2/6) and the sixth (3/6) cranial nerves paralysis, epileptic seizure (1/6), neck stiffness (1/6) with the presence of recently extravasated blood in occipital horns of lateral ventricles and the right upper limb transient hemiparesis (1/6). Diabetes insipidus was recognized in 1 patient. In the MRI scans the largest tumor dimension was 25–35 mm. Initially, 5/6 patients were treated in the Dept of Neurology.

**Summary:** Male predominated in our study. In a half of patient, non-secretory pituitary adenoma has occurred. Headache, consciousness disorders as well as the third and the sixth cranial nerves paralysis were predominant.

**Conclusion:** The risk factor of spontaneous pituitary apoplexy are: tumor diameter  $> 2$  cm, middle age, male gender, non-secretory adenoma.

## P2.10. Leczony zachowawczo 3-krotny udar makrogruczolaka przysadki u chorego po pomostowaniu aortalno-wieńcowym

*Maria Kurowska, Jerzy S. Tarach, Mariusz Kowalczyk*

*Klinika Endokrynologii, AM, Lublin*

**Wstęp:** Udar przysadki po zabiegu pomostowania aortalno-wieńcowego jest bardzo rzadkim powikłaniem okresu okołoperacyjnego. Występuje zazwyczaj u chorych z nierozpoznanym wcześniej gruczolakiem przysadki. Dotąd opisano około 20 takich przypadków. Czynniki ryzyka udaru przysadki u chorych kardio-

chirurgicznych są m.in. niedokrwienie, zaburzenia krzepnięcia, obrzęk, dodatnie ciśnienie w czasie wentylacji. Tylko nieliczni chorzy z tej grupy byli dotychczas leczeni zachowawczo.

**Cel pracy:** Prezentacja chorego po pomostowaniu aortalno-wieńcowym, z leczonymi zachowawczo 3 epizodami udaru do nierozpoznanego uprzednio makrogruczolaka przysadki.

**Opis przypadku:** Mężczyzna w wieku 65 lat, po zabiegu pomostowania aortalno-wieńcowego. Udar 1.: w 5. dobie po operacji wystąpiło porażenie prawego n. VI. Udar 2.: w 7. dobie — silne bóle głowy, przejściowe zaburzenia świadomości i przejściowy niedowład kończyny górnej prawej. W MRI: przysadka okrągłego kształtu, symetryczna, w całości powiększona, z przewagą przestrzeni płynowych. Widoczne jest duże wpuklenie się tkanki do zatoki klinowej, nie można wykluczyć naciekania prawej zatoki jamistej. Obraz odpowiada rozpoznaniu makrogruczolaka przysadki. Udar 3.: w 18. dobie po zabiegu — zasłabnięcie z krótkotrwałą utratą przytomności oraz porażeniem lewego n. VI. W badaniu neurologicznym poza porażeniem obu nerwów odwodzących bez zmian patologicznych. W badaniach dodatkowych: niedokrwistość (Hb — 8,6 g %), ACTH — 25,9 pg/ml, przy obniżonym stężeniu kortyzolu w godzinach porannych i braku rytmu dobowego. TSH < 0,04 mJm./l; GH = 0,15 ng/ml. LH — 24,72 mJm./ml; FSH — 42,01 mJm./ml, pomimo znacznego zniszczenia przysadki. Chory nie wyraził zgody na leczenie operacyjne. Z podejrzeniem *gonadotropinoma* wypisany do domu. Dalsze losy nieznane.

**Podsumowanie:** Udar w okresie pooperacyjnym był u pacjenta pierwszym objawem gruczolaka. W ciągu 18 dni od zabiegu kardiochirurgicznego wystąpiły 3 epizody udarowe do przysadki, leczone skutecznie zachowawczo.

### Non-operative treatment of patient with three episodes of pituitary macroadenoma apoplexy following coronary artery bypass surgery

*Maria Kurowska, Jerzy S. Tarach, Mariusz Kowalczyk*

*Department of Endocrinology, Medical University, Lublin*

**Introduction:** The *pituitary apoplexy* is a rare post-operative complication of coronary artery bypass surgery (CABG). It is usually reported in cases with *non-recognized pituitary macroadenoma*. Risk factors leading to pituitary apoplexy include ischemia, clotting disturbances, oedema and positive pressure ventilation. Up to date, twenty cases have been reported. Only a few patients from this group have had a non-operative treatment.

**The aim:** presentation of patient with three episodes of pituitary apoplexy after CABG treated conventionally.

**Case report:** 65-year-old men after CABG. The first apoplexy episode: on the 5-th day after CABG right sixth cranial nerve palsy has been observed. The second apoplexy episode: on the 7-th day — acute headache, transient mental aberration and right upper limb paresis were observed. Brain MRI showed round, symmetric, totally enlarged *pituitary* gland with fluid spaces inside. It was observed a large indentation of the pituitary into the sphenoid sinus and possible infiltration into the right cavernous sinus. The recognition of pituitary macroadenoma was established. The third apoplexy episode — on the 18-th day after CABG — episode of loss of consciousness and left sixth cranial nerve palsy. In neurological examination bilateral abducent nerves palsy was only observed. Laboratory tests: anemia (Hb — 8.6 g %), ACTH — 25.9 pg/ml, with decrease level of cortisol in the morning and the lack of circadian rhythm. TSH < 0.04 mIU/l; GH = 0.15 ng/ml. LH — 24.72 mIU/ml; FSH — 42.01 mIU/ml in spite of considerable destruction of pituitary.

The patient did not agree for operation of pituitary tumor. He went home with diagnosis of suspicious gonadotropinoma. The rest of his history is unknown.

**Conclusions:** In this case, pituitary apoplexy during post-operative period was the first symptom of adenoma. During 18 days after CABG, three episodes of pituitary apoplexy took place and were conventionally, successfully treated without operation.

### P2.11. Udar guza przyczyną spontanicznej regresji gruczolaka przysadki u chorej z zespołem Nelsona

*Maria Kurowska, Jerzy S. Tarach*

*Klinika Endokrynologii, Akademia Medyczna, Lublin*

**Wstęp:** Zespół Nelsona jest specyficzną formą choroby Cushinga, rozwijającą się u chorych po obustronnej adrenalectomii. Charakteryzuje się obecnością makrogruczolaka kortykotropowego przysadki, znaczną hiperpigmentacją skóry oraz wysokim stężeniem ACTH we krwi. Duże zazwyczaj rozmiary oraz progresywny wzrost gruczolaka zwiększają ryzyko udaru przysadki. W związku z postępowaniem w obrazowaniu przysadki zespół Nelsona stał się unikalną jednostką chorobową.

**Cel pracy:** Prezentacja chorej z zespołem Nelsona, u której w następstwie udaru guza doszło do znacznej samoistnej regresji gruczolaka.

**Opis przypadku:** Kobieta lat 47 poddana obustronnej adrenalectomii przed 23 laty. W 5 lat później, w CT stwierdzono gruczolaka przysadki i ustalono rozpoznanie zespołu Nelsona. Kolejne badania obrazowe potwierdzały progresję rozmiarów guza: CT (1990)  $\phi$  1 cm; MRI:(2004) —  $\phi$  17  $\times$  20 mm, (2005)  $\phi$  17  $\times$  35 mm. Hospitalizacja — listopad 2005 roku. Nasiloną pigmentacja skóry. Bez objawów masy i ubytków w polu widzenia. Badania hormonalne: kortyzol we krwi: godzina 8.00 — 3,7  $\mu$ g/dl (n. 4,3–38,4); godzina 18.00 — 28,4  $\mu$ g/dl (n. 1,7–16,6). Dobowe wydalanie kortyzolu z moczem: 648,7  $\mu$ g (n. 32–243). ACTH — 10 560 pg/ml (n. 10–40). Stężenie IGF-1 = 62,8 ng/ml (n. 94–252), pozostałe hormony przysadki w normie. W lutym 2006 roku — nagły ból i zawroty głowy, nudności, obustronny odskroniowy ubytek pola widzenia oraz obustronne porażenie n. VI, ze zbieżnym i podwójnym widzeniem. Pacjentka zgłosiła się w miesiąc po dokonanych udarach. W MRI przysadka o znacznie obniżonej wysokości, bliznowato pozaciągana. Obszar tkankowy o średnicy około 1 cm w lewej zatoce jamistej, odpowiada pozostałości znanego klinicznie makrogruczolaka. ACTH > 1250 pg/ml. Pozostałe hormony w normie.

**Wniosek:** Udar gruczolaka doprowadził u chorej do znacznej regresji rozmiarów guza, bez pogorszenia funkcji przysadki oraz konieczności interwencji neurochirurgicznej.

### Tumor apoplexy as a cause of pituitary adenoma spontaneous regression in patient with Nelson's syndrome

*Maria Kurowska, Jerzy S. Tarach*

*Department of Endocrinology, Medical University, Lublin*

Nelson's syndrome is a specific form of Cushing disease in patients treated with bilateral adrenalectomy. ACTH-hypersecreting pituitary macroadenoma and marked hyperpigmentation are very characteristic traits. The risk of pituitary apoplexy is enhanced by large dimensions as well as the progressive tumor growth. Nelson's syndrome became a rare entity in accordance with the progress of pituitary MR imaging.

**Aim of the study:** Presentation of patient with Nelson's syndrome and considerable spontaneous adenoma regression as consequence of tumor apoplexy.

**Case report:** Female, aged 47, treated with bilateral adrenalectomy 23 years ago. Five years later, CT scans revealed pituitary adenoma and Nelson's syndrome has been diagnosed. The following imaging studies confirmed tumor progression: CT (1990)  $\phi$  1 cm; MRI (2004)  $\phi$  17  $\times$  20 mm; MRI (2005)  $\phi$  17  $\times$  35 mm. In November 2005, the patient has been hospitalized: progressive skin hyperpigmentation, without visual field defect and mass effect. Endocrine studies: serum cortisol 8.00 — 3.7  $\mu$ g/dl (n. 4.3–38.4); 18.00 — 28.4  $\mu$ g/dl (n. 1.7–16.6), circadian urine cortisol 648.7  $\mu$ g (n. 32–243), ACTH — 10560 pg/ml (n. 10–40), IGF-1 level 62.8 (n. 94–252). The other pituitary hormones were normal. In February 2006, severe headache, dizziness, nausea, bilateral temporal visual field defect, bilateral sixth cranial (abducent) nerve paralysis, diplopia, esotropia. The patient has been hospitalized 4 weeks after pituitary apoplexy was performed. MRI scans showed markedly decreased pituitary height and cicatricial deformation. Tissue area, 1 cm in diameter, localized in the left cavernous sinus correspond with the remnants of the known adenoma. ACTH > 1250 pg/ml. The other hormones were normal.

**Conclusion:** Pituitary adenoma apoplexy resulted in the marked tumor size regression without worsening of their function and the necessity of neurosurgical treatment.

## P2.12. Przerzut do przysadki jako przyczyna moczówki prostej

*Maria Kurowska, Joanna Malicka, Jerzy S. Tarach*

*Klinika Endokrynologii, Akademia Medyczna, Lublin*

**Wstęp:** Moczówka prosta może być skutkiem przerzutu nowotworowego do przysadki. Występuje najczęściej w przebiegu raka piersi i raka płuc.

**Cel pracy:** Wykazanie na podstawie własnych obserwacji, że moczówka w następstwie przerzutu do przysadki może wystąpić w każdym okresie choroby nowotworowej.

**Materiał:** 3 kobiety w wieku 42, 50 i 61 lat, obserwowane w latach 2000–2005.

**Metoda:** Analiza obrazu klinicznego i wykonanych badań hormonalnych i obrazowych.

**Wyniki:** Chora KJ lat 42, bez rozpoznawanego wcześniej nowotworu, z pragnieniem i diurezą rzędu 14 l/dobę. W MRI stwierdzono wrzecionowate pogrubienie szypuły przysadki. Dopiero pół roku od rozpoznania moczówki, w biopsji guzka lewej piersi stwierdzono komórki raka sutka. Chora JH lat 50, z pragnieniem i diurezą rzędu 7–8 l/dobę od 3 miesięcy. Rozpoznano raka oskrzeli w zaawansowanym stadium klinicznym z przerzutami do mózgu. W MRI — w obrębie przysadki ognisko o charakterze meta, o wymiarach 11  $\times$  13  $\times$  18 mm, ulegające intensywnemu wzmocnieniu po podaniu kontrastu, sięgające do skrzyżowania nerwów wzrokowych. Chora ME, lat 61, po przebytej przed rokiem obustronnej mastektomii oraz chemio- i radioterapii z powodu raka piersi. Pragnienie i diureza rzędu 6–7 l/dobę wystąpiły 2 tygodnie przed hospitalizacją. W MRI zanik wysokiego sygnału części nerwowej.

**Podsumowanie:** U każdej z kobiet przerzut do przysadki towarzyszył innemu etapowi choroby nowotworowej: a) u kobiety 1. był pierwszym objawem raka piersi; b) u kobiety 2. był następstwem rozsiewu raka oskrzela, rozpoznanego równocześnie z moczówką prostą; c) u kobiety 3. był objawem progresji raka piersi.

**Wniosek:** Przerzut do przysadki może wystąpić w każdym okresie choroby nowotworowej, dlatego w przypadku rozpoznania moczówki prostej należy zawsze uwzględnić jej nowotworowe podłoże.

## Diabetes insipidus resulting from metastasis to pituitary gland

*Maria Kurowska, Joanna Malicka, Jerzy S. Tarach*

*Department of Endocrinology, University Medical School, Lublin, Poland*

**Introduction:** Diabetes insipidus (DI) is frequent manifestation of metastatic pituitary tumor. The most often it appears in the course of bronchial and breast cancer.

**Aim:** Demonstration of DI in consequence of pituitary metastasis occurred in every period of neoplastic disease, considering our own observations.

**Material and methods:** 3 Female, aged 42, 50 and 61, followed in 2000–2005. The clinical picture as well as hormonal and imaging studies have been analyzed.

**Results:** Patient KJ, aged 42, without earlier diagnosed neoplasm, suffered from polydipsia, polyuria (circadian diuresis 14 l). Fusiform thickened of pituitary stalk has been found by MRI. Six months later, carcinoma texture of the left breast tumor has been revealed by oligobiopsy. Patient JH, aged 50, three months suffered from polydipsia and polyuria (circadian diuresis 7–8 l). The far advanced phase of bronchial carcinoma with cerebral metastases have been diagnosed. MRI study scans demonstrated evidences of pituitary focal metastasis, 11  $\times$  13  $\times$  18 mm, gadolinium enhanced and reached the optic chiasm. Patient ME, aged 61, a year ago treated with bilateral mastectomy, chemotherapy and radiotherapy because of breast cancer. Two weeks before hospitalization, polydipsia and polyuria (circadian diuresis 6–7 l) have been appeared. MRI scans have showed the decline of the posterior pituitary high-signal intensity.

**Summary:** In every case, pituitary metastases were accompanied with different stage of neoplastic disease. A) In case 1, DI was the first manifestation of breast cancer, B) in case 2, DI was the consequence of bronchial carcinoma dissemination diagnosed with DI, simultaneously, C) in case 3, DI was a symptom of breast cancer recurrence.

**Conclusion:** In every phase of neoplastic disease, pituitary metastases can appear, therefore the neoplastic background should be taken into account in every case of DI manifestations.

## P2.13. Rak przysadki mózgowej — wieloletnia obserwacja 4 pacjentów

*Grzegorz Zieliński<sup>1</sup>, Maria Maksymowicz<sup>2</sup>,*

*Jan K. Podgórski<sup>1</sup>, Włodzimierz T. Olszewski<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Klinika Neurochirurgii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa*

<sup>2</sup>*Zakład Patologii, Centrum Onkologii — Instytut, Warszawa*

Rak przysadki jest guzem wywodzącym się z komórek gruczołowych przedniego płata przysadki. Jego cechą charakterystyczną jest zdolność do tworzenia przerzutów odległych, położonych poza siodłem tureckim. Jest to nowotwór bardzo rzadko występujący, stwierdzany najczęściej w przebiegu nieskutecznego leczenia inwazyjnych gruczolaków. Dotychczas nie sprecyzowano kryteriów histologicznych umożliwiających różnicowanie inwazyjnych gruczolaków i raków na etapie ich występowania w fazie śródśiódłowej. Stosowane leczenie (metody chirurgiczne, chemioterapia i/lub

radioterapia) w przypadkach raków przysadki jest mało skuteczne, a rokowanie — złe.

Autorzy prezentują 4 przypadki chorych (2 mężczyzn i 2 kobiety) z rozpoznaniem rakiem przysadki. Na podstawie analizy retrospektywnej dokumentacji medycznej analizują objawy kliniczne, wyniki badań hormonalnych oraz dostępną dokumentację radiologiczną. Autorzy przedstawiają następnie stosowane metody leczenia oraz omawiają jego wyniki. W każdym przypadku prezentują także wyniki badań histologicznych z uwzględnieniem zastosowanych metod immunohistochemicznych i mikroskopii elektronowej. Wieloletnia obserwacja tych rzadko występujących nowotworów dostarcza cennych informacji o ich biologii i naturalnym przebiegu choroby.

### Pituitary carcinoma. Analysis of the follow-up data of 4 patients

Grzegorz Zieliński<sup>1</sup>, Maria Maksymowicz<sup>2</sup>,  
Jan K. Podgórski<sup>1</sup>, Włodzimierz T. Olszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Military Medical Institute, Warsaw

<sup>2</sup>Department of Pathology, Cancer Institute, Warsaw

Pituitary carcinomas are epithelial tumors of the adenohypophysial cells that exhibit cerebrospinal and/or systemic metastasis. They are very rare tumors and occur in the setting of multiple recurrences of invasive pituitary adenomas. There are no morphological criteria to distinguish aggressiveness of the pituitary carcinoma in the sellar phase. Therapeutic options (surgery, chemotherapy and/or radiotherapy) are limited. These tumors are associated with poor prognosis. The authors present four cases (2 men and 2 women) of pituitary carcinoma treated during the period from 1995 to 2005. Clinical presentation, biochemical and radiological evaluation of our patients are discussed. Then therapeutic modalities and their results are described. On the end morfological, immunohistochemical and electron microscopy studies are presented.

Analysis of the follow-up data provides information on the natural history of these very rare tumors.

### P2.14 <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE w leczeniu nieoperacyjnych gruczolaków przysadki — doniesienie wstępne

Norbert Szaluś<sup>1</sup>, Grzegorz Kamiński<sup>2</sup>, Zbigniew Podgajny<sup>2</sup>,  
Grzegorz Zieliński<sup>3</sup>, Agnieszka Warczyńska<sup>4</sup>,  
Joanna Cyperling-Kamińska<sup>5</sup>, Eugeniusz Dziuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Medycyny Nuklearnej

<sup>2</sup>Klinika Endokrynologii i Terapii Izotopowej

<sup>3</sup>Klinika Neurochirurgii

<sup>4</sup>Zakład Radiologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

<sup>5</sup>Centrum Medyczne LIM, Warszawa

**Wstęp:** Jednym ze sposobów leczenia nieoperacyjnych guzów przysadki jest stosowanie „zimnych” analogów somatostatyny. Nową metodą leczenia może stać się zastosowanie „gorących” — sprzężonych z β (-) emitern analogów somatostatyny (<sup>90</sup>Y-DOTA-TATE). **Cel pracy:** Przedstawienie możliwości leczenia za pomocą preparatu <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE nieoperacyjnych gruczolaków przysadki.

**Materiały i metody:** 3 chorych z akromegalią (2 kobiety i 1 mężczyzna) oraz 1 chora z zespołem Nelsona po nieskutecznym leczeniu chirurgicznym poddano leczeniu preparatem <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE. Istnienie nadekspresji SSTR potwierdzono we wcześniejszych scyntygramach (<sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE). Chorym z akromegalią 2-krotnie, a z zespołem Nelsona 4-krotnie podano 3,7 MBq <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej WIM.

**Wyniki:** W czasie podawania radioizotopu nie wystąpiły istotne działania niepożądane. Po leczeniu, u chorej z zespołem Nelsona nastąpił około 40-procentowy spadek stężenia ACTH, a u chorych na akromegalię 20–30-procentowy spadek stężenia IGF-1. Uzyskano znaczną poprawę kliniczną. Chorzy pozostają pod stałą obserwacją, planuje się podanie kolejnych dawek <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE.

**Wnioski:** Radiofarmaceutyk <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE wydaje się użyteczny w leczeniu nieoperacyjnych gruczolaków przysadki.

### <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE in treatment of inoperable pituitary tumors — an initial study

Norbert Szaluś<sup>1</sup>, Grzegorz Kamiński<sup>2</sup>, Zbigniew Podgajny<sup>2</sup>,  
Grzegorz Zieliński<sup>3</sup>, Agnieszka Warczyńska<sup>4</sup>, Joanna  
Cyperling-Kamińska<sup>5</sup>, Eugeniusz Dziuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Nuclear Medicine

<sup>2</sup>Department of Endocrinology and Radioisotope Therapy

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery

<sup>4</sup>Department of Radiology, Military Institute of Health Services, Warsaw

<sup>5</sup>LIM Medical Center, Warsaw

**Introduction:** The patients with inoperable pituitary tumors are treated with “cold” somatostatin analogs but it is not always effective. DOTA-TATE preparation is a “hot” somatostatin analogue coupled with β (-) emitter <sup>90</sup>Y.

**The aim of the study:** Is to assess the feasibility of treatment of pituitary tumors with <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE preparation.

**Patients and methods:** <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE preparation was used in 4 patients with pituitary tumor: 3 pts with acromegaly and 1 with the Nelson syndrome. The presence of SSTR was confirmed with use of <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE preparation earlier. In 3 pts with acromegaly the treatment was repeated twice and patient with Nelson syndrome was treated with the <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE four times (3.7 GBq per dose). The local Ethical Committee approval has been obtained before the study. **Results:** There were no serious adverse events after <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE treatment. In patient with the Nelson syndrome the ACTH serum concentration decreased about 40%, in patients with acromegaly IGF-1 decreased about 20–30%. The follow-up showed the clinical improvement. Further treatment with <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE in these patients is considered.

**Conclusions:** <sup>90</sup>Y-DOTA-TATE preparation is feasible and promising in treatment of inoperable pituitary tumors.

### P2.15 Samoistna remisja limfocytarnego zapalenia przysadki (LZP) — opis przypadku

Krzysztof Chojnowski<sup>1</sup>, Anna Bielec<sup>1</sup>, Izabela Kobusińska<sup>1</sup>,  
Grzegorz Zieliński<sup>2</sup>, Magdalena Dukaczewska<sup>3</sup>,  
Maria Maksymowicz<sup>4</sup>, Ewa Bar-Andziak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii, AM, Warszawa

<sup>2</sup>Klinika Neurochirurgii WIM, Warszawa

<sup>3</sup>II Zakład Radiologii Klinicznej, AM, Warszawa

<sup>4</sup>Zakład Patologii Centrum Onkologii — Instytut, Warszawa

**Wstęp:** Limfocytarne zapalenie przysadki (LZP) cechuje różnorodna symptomatologia kliniczna zależna od efektu masy, a także od upośledzenia funkcji przedniego i tylnego płata przysadki. Leczenie jest objawowe; polega na zmniejszeniu masy guza i substytucji w przypadku niedoborów hormonalnych. Opisano tylko pojedyncze przypadki samoistnych remisji.

**Cel pracy:** Omówienie przypadku 23-letniej kobiety skierowanej na badanie MRI przysadki z powodu bólów głowy, braku miesiączki, mlekotoku i umiarkowanie podwyższonego stężenia prolaktyny. W badaniu wykazano zmianę w przednim płacie przysadki o wymiarach 13 × 18 mm, silnie i jednorodnie wzmacniającą się po kontraście. Chorą skierowano na zabieg operacyjny z rozpoznaniem makrogruczolaka przysadki. Z uwagi na nietypowy obraz śródoperacyjny wykonano jedynie biopsję przysadki. Stwierdzono cechy przewlekłego odczynu zapalnego z naciekiem z komórek limfoidalnych. Podano metyloprednizolon w dawce 12 mg/dobę. W trakcie wielomiesięcznego leczenia obraz MRI przysadki nie uległ zmianie. Z uwagi na kliniczne objawy jatrogennej hiperkortyzolemii zmniejszono stopniowo dawkę metyloprednizolonu bez progresji zmian w przysadce. Rozpoczęto substytucję hydrokortyzonem, a po 3 miesiącach wykonano MRI, które wykazało normalizację wymiarów przysadki (13 × 5 × 11 mm) i niewielkie niejednorodne wzmocnienie kontrastowe, bez ewidentnych zmian ogniskowych.

**Wnioski:** W przypadku łagodnego przebiegu LZP, kiedy nie ma ostrych wskazań do leczenia neurochirurgicznego i brakuje poprawy w trakcie kortykoterapii, można podjąć próbę redukcji dawki glikokortykoidu, ponieważ możliwa jest samoistna remisja.

### Spontaneous remission of lymphocytic adenohypophysitis (LA) — a case report

Krzysztof Chojnowski<sup>1</sup>, Anna Bielec<sup>1</sup>, Izabela Kobusińska<sup>1</sup>, Grzegorz Zieliński<sup>2</sup>, Magdalena Dukaczewska<sup>3</sup>, Maria Maksymowicz<sup>4</sup>, Ewa Bar-Andziak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chair and Department of Internal Medicine and Endocrinology MU, Warsaw

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, MMI, Warsaw

<sup>3</sup>II Department of Clinical Radiology MU, Warsaw

<sup>4</sup>Department of Pathology, Oncology Center-Institute, Warsaw

**Introduction:** The clinical presentation of LA is variable and comprises two categories of symptoms: sellar compression and pituitary dysfunction. The treatment is, at the moment, only symptomatic. It includes reducing of the size of the pituitary mass and/or replacing the defective endocrine function. Spontaneous remissions are rare.

**Case:** 23 yr female referred to MR examination of pituitary because of headaches, amenorrhea, galactorrhea and slightly increased prolactin levels. The examination revealed increment of anterior pituitary (size 13 × 18 mm) and strong, homogenous enhancement of the signal after contrast administration. She was then referred to neurosurgery with the diagnose of pituitary macroadenoma. The intraoperative picture was not typical for adenoma, so neurosurgeon performed biopsy. The histopathological examination revealed diffuse lymphocytic infiltrations. The patient was treated for a few months with 12 mg of methylprednisolon without improvement. Clinical symptoms of iatrogenic hypercortisolism appeared. The doses of the steroids were reduced, but the progression of the disease (MRI) was not observed. After next 3 months of hydrocortisone substitution MRI imaging revealed normalization of pituitary size (13 × 5 × 11 mm).

**Conclusion:** In the case of benign course of LA, when there are no indications to neurosurgical treatment and when steroids are not effective, we can try to reduce their doses early, because spontaneous remission of the disease is possible.

### P2.16. Wielohormonalna niedoczynność przysadki u dziecka z mózgowym porażeniem dziecięcym

I. Beń-Skowronek, L. Szewczyk

Klinika Endokrynologii i Neurologii Dziecięcej, Akademia Medyczna, Lublin

**Wstęp:** Mózgowe porażenie dziecięce często rozwija się w wyniku krwawienia śródczaszkowego powodującego u noworodków uszkodzenie przysadki i podwzgórza.

**Celem pracy** jest przedstawienie skutecznego leczenia substytucyjnego dziewczynki z wielohormonalną niedoczynnością przysadki w przebiegu mózgowego porażenia dziecięcego.

**Opis przypadku:** Pacjentka zgłosiła się do Kliniki w 14. roku życia z powodu znacznego opóźnienia tempa wzrostu od wczesnego dzieciństwa i braku postępu w rozwoju motorycznym pomimo wieloletniej rehabilitacji — nie mogła samodzielnie siadać ani stać. Jej rozwój umysłowy przebiegał prawidłowo. W badaniu przedmiotowym stwierdzono niskorosłość (114 cm), diplegię kończyn dolnych, znaczne osłabienie siły mięśniowej, prawidłowy rozwój umysłowy. Wykonane badania hormonalne wskazywały na wtórną niedoczynność tarczycy i nadnerczy, niedobór hormonu wzrostu i skrajnie niskie poziomy gonadotropin, co pozwoliło rozpoznać wielohormonalną niedoczynność przysadki. Po włączeniu leczenia substytucyjnego uzyskano wzrost siły mięśniowej, zwiększenie aktywności dziecka i zwiększenie tempa wzrastania. Razem z leczeniem rehabilitacyjnym i operacyjnym przykurców w zakresie kończyn dolnych terapia hormonalna doprowadziła do znacznego postępu w rozwoju motorycznym — po 6 miesiącach dziewczynka mogła siadać, a po 12 miesiącach wstawać o własnych siłach i chodzić z oparciem. Pacjentka urosła w tym czasie 18 cm.

**Wniosek:** Leczenie substytucyjne wielohormonalnej niedoczynności przysadki u dziecka z mózgowym porażeniem dziecięcym umożliwia prawidłowy wzrost i rozwój psychomotoryczny.

### Hypopituitarism in girl with cerebral palsy

I. Beń-Skowronek, L. Szewczyk

Department of Pediatrics, Endocrinology and Neurology, Medical Academy, Lublin

**Introduction:** The infantile cerebral palsy often develops as a result of a cerebral bleeding in neonates and cause damage of pituitary gland and hypothalamus.

**The aim of the study** is presentation of substitution treatment the girl with hypopituitarism in course of infantile cerebral palsy.

**Case report:** The patient turned up to our Department when she was 14 years old because of growth retardation since being infant, and motor development retardation — despite long rehabilitation, sitting and standing was impossible for her. The mental development was correct. There were observed dwarfism (114 cm), diplegia of legs and weakness of muscles. In the way of hormonal investigations hypopituitarism was recognized. After substitution and operation treatment muscles power has increased, the girl started to grow (18 cm to 24 months) and a pace of motor development has raised — after 6 months the girl could sit, after 12 months she could stand and walk with support.

**Conclusion:** Substitution treatment of hypopituitarism in case of infantile cerebral palsy allow children the correct growth and after rehabilitation correct psychomotor development.

## P2.17 Ekspresja Topoizomerazy II alfa w guzach przysadki

Małgorzata Trofimiuk<sup>1</sup>, Dariusz Adamek<sup>2</sup>, Ryszard Czepko<sup>3</sup>, Grzegorz Sokołowski<sup>1</sup>, Bohdan Huszno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Endokrynologii, Collegium Medicum, UJ, Kraków

<sup>2</sup>Zakład Neuropatologii, Collegium Medicum, UJ, Kraków

<sup>3</sup>Klinika Neurochirurgii, Collegium Medicum, UJ, Kraków

**Wstęp:** Topoizomeraza II alfa, enzym uczestniczący w replikacji DNA, uznawana jest za wiarygodny marker aktywności proliferacyjnej nowotworów. Pomimo łagodnego charakteru większości guzów przysadki, część z nich charakteryzuje się szybkim wzrostem i zdolnością do naciekania sąsiadujących struktur — ocena ekspresji topoizomerazy II może ułatwić wyodrębnienie grupy bardziej agresywnych nowotworów.

**Cel:** Celem badania była ocena metodami immunohistochemicznymi ekspresji topoizomerazy II alfa w komórkach gruczołaków przysadki.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 24 osoby (15 mężczyzn i 9 kobiet w wieku 24–79 lat, średnio 53 lata) operowanych z powodu guza okolicy przysadkowej. Materiał uzyskany śródoperacyjnie był barwiony metodami immunohistochemicznymi w kierunku ACTH, FSH, LH, GH, PRL, TSH, a także topoizomerazy II alfa. Indeks topoizomerazy oznaczano, określając liczbę wybarwionych jąder komórkowych na 100 komórek.

**Wyniki:** Indeks topoizomerazy (IT) w badanej grupie mieścił się w przedziale 0–93, mediana: 0,8 (mężczyźni — 0,2, kobiety — 0,8). Najwyższe wartości IT stwierdzono u pacjenta z guzem germinalnym przysadki. Wśród gruczołaków przysadki największą wartość IT obserwowano w guzach wydzielających GH (1,35) i ACTH (0,8), najniższe natomiast w guzach wykazujących ekspresję gonadotropin (0,3) i koekspresję PRL i GH (0,1). Jedynie 8% guzów nie wykazywało ekspresji topoizomerazy.

**Wnioski:** Topoizomeraza II wydaje się przydatnym markerem dla oceny aktywności proliferacyjnej guza przysadki, w tym dla wyodrębnienia zmian o większym potencjale rozrostowym, takich jak guzy zarodkowe czy przerzuty. Ponieważ grupa badana jest niewielka (przedstawiono wstępne wyniki badania) nie przeprowadzono jeszcze analizy zależności pomiędzy wielkością guza i przebiegiem pooperacyjnym a indeksem topoizomerazy.

## Topoisomerase II alpha expression in pituitary tumors

Małgorzata Trofimiuk<sup>1</sup>, Dariusz Adamek<sup>2</sup>, Ryszard Czepko<sup>3</sup>, Bohdan Huszno<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chair and Department of Endocrinology, Collegium Medicum Jagiellonian University, Cracow

<sup>2</sup>Neuropathology Department Collegium Medicum Jagiellonian University, Cracow

<sup>3</sup>Neurosurgery Department Collegium Medicum Jagiellonian University, Cracow

**Introduction:** Topoisomerase II alpha — an important enzyme taking part in DNA replication — is regarded as the important marker of cellular proliferation. Pituitary tumours are usually benign, but some of them are characterized by rapid growth, high recurrence rate and local invasiveness. Topoisomerase II alpha expression assessment may be valuable tool for identification such pituitary neoplasms.

**Aims:** The aim of the study was to assess topoisomerase II alpha expression in pituitary tumours by means of immunohistochemical staining.

**Material and methods:** The study included 24 subjects (15 males and 9 females aged 24–79 years, mean age 53 years) who had underwent surgery due to pituitary tumor. The tissue samples were stained immunohistochemically for ACTH, FSH, LH, GH, PRL, TSH and topoisomerase II alpha. Topoisomerase index (IT) was assessed as a number of positive-stained nuclei per 100 tumor cells.

**Results:** The IT in studied subjects varied from 0 to 93 (median value — 0.8; males — 0.2; females — 0.8). The highest IT value was observed in the case of pituitary germinoma. Among the patients diagnosed with pituitary adenoma, the highest expression of topoisomerase was noted in GH positive (IT value of 1.35) and ACTH positive tumors (IT of 0.8). The lowest IT values were noted in adenomas co-expressing LH/FSH and PRL/GH (IT of 0.3 and 0.1, respectively). Only in 8% of all studied tumors no expression of topoisomerase was found.

**Conclusion:** Topoisomerase II alpha seems to be useful marker for assessment of proliferation activity of pituitary tumors, particularly in case of rapidly growing tumors such as germinal neoplasms or metastases. As the study group comprises only several subjects — we present the preliminary results — no analysis of correlation between local aggressiveness and topoisomerase index has been yet performed.

## SESJA PLAKATOWA (P3) — Guzy Neuroendokryne

### P3.01. Scyntygrafia receptorowa z użyciem <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE w obrazowaniu raka rdzeniastego tarczycy (RRT) — doniesienie wstępne

Zbigniew Podgajny<sup>1</sup>, Grzegorz Kamiński<sup>1</sup>, Norbert Szalus<sup>2</sup>, Joanna Cyperling-Kamińska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii i Terapii Izotopowej

<sup>2</sup>Zakład Medycyny Nuklearnej, Wojskowy Instytut Medyczny

<sup>3</sup>Centrum Medyczne LIM, Warszawa

**Wstęp:** Chirurgiczne usunięcie tarczycy jest metodą z wyboru w leczeniu RRT. Nawrót choroby po zabiegu dotyczy jednak około 50% chorych, często w tych przypadkach duże trudności sprawia lokalizacja wznowy.

**Cel badania:** Zastosowanie scyntygrafii receptorowej z użyciem analogów somatostatyny <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE w obrazowaniu raka rdzeniastego tarczycy.

**Pacjenci i metoda:** 3 chorych z nawrotem i/lub przerzutami RRT, potwierdzonym podwyższonym stężeniem kalcytoniny, CEA i/lub obecnością patologicznych ognisk w CT, zostało poddanych badaniu scyntygraficznemu z użyciem analogu somatostatyny <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE (OBRI — POLATOM/Świerk). Obrazowanie wykonano za pomocą dwugłowicowej gama-kamery Varicam Elscint w 10. minucie i po 2–3 godzinach po dożylnym podaniu 15–20 mCi preparatu. Opracowanie i rekonstrukcję SPECT wykonano za pomocą stacji roboczej HERMES (*Nuclear Diagnostic*, Sweden).

**Wyniki:** U każdego chorego poddanego badaniu znaleziono patologiczny wychwyty <sup>99m</sup>Tc-HYNIC-TATE odpowiadający wznowie lub przerzutom RRT.



**Wnioski:**

1. Wyniki naszego badania potwierdzają użyteczność scyntygrafii receptorowej z użyciem analogu somatostatyny  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE w diagnostyce nawrotu i przerzutów raka rdzeniastego tarczycy.
2. Obecność patologicznego wychwytu radioizotopu może być wskazaniem do zastosowania dalszego leczenia analogami somatostatyny sprzężonymi z emiterami promieniowania  $\beta$  (-).

### Somatostatin Receptor Scintigraphy with $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE in Visualization of Medullary Thyroid Carcinoma — Initial Study

Zbigniew Podgajny<sup>1</sup>, Grzegorz Kamiński<sup>1</sup>, Norbert Szalus<sup>2</sup>, Joanna Cyperling-Kamińska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology and Radioisotope Therapy

<sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Military Institute of Health Services

<sup>3</sup>Medical Centre LIM, Warsaw

**Introduction:** Thyroidectomy is the treatment of choice in medullary thyroid carcinoma (MTC). Recurrences after surgery develop in about 50% of patients. In such cases it is difficult to clearly localize recurrence or metastatic lesions.

**The aim:** Assessment of scintigraphy with the somatostatin analog  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE to visualization of medullary thyroid carcinoma.

**Material and method:** 3 patients with recurrence or/and metastatic medullary thyroid carcinoma with elevation of serum calcitonin, CEA levels and/or presence of pathological lesions in CT, underwent scintigraphy with the somatostatin analog  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE (OBRI POLATOM Świerk/Poland). The scintigraphy image acquisition was performed with a double head gamma camera Varicam Elscint in 10 min, 2–3 h after i.v. injection of  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE preparation in dose 15–20 mCi. The SPECT images were reconstructed with use of HERMES (Nuclear Diagnostic, Sweden) processing workstation.

**Results:** In every patient with MTC were found a pathological uptake of  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE answering recurrence or metastatic disease.

**Conclusion:**

1. The results of our study confirmed the clinical usefulness of  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE scintigraphy in diagnosis of recurrence of medullary thyroid carcinoma.
2. Presence of pathological uptake of  $^{99m}\text{Tc}$ -HYNIC-TATE can be predictor for treatment with somatostatin analog labeled with emitters of  $\beta$  (-) radiations.

### P3.02. Rak drobnokomórkowy przełyku

Justyna Szumiło<sup>1</sup>, Jarosław Swatek<sup>1</sup>, Krzysztof Zinkiewicz<sup>2</sup>, Franciszek Burdan<sup>3,4</sup>, Andrzej Dąbrowski<sup>2</sup>,

Elżbieta Korobowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej

<sup>2</sup>II Klinika Chirurgii Ogólnej

<sup>3</sup>II Zakład Radiologii

<sup>4</sup>Pracownia Taratologii Doświadczalnej Katedry i Zakładu Anatomii Prawidłowej Człowieka; Akademia Medyczna im. prof. F. Skubiszewskiego, Lublin

**Wstęp:** Pierwotne raki drobnokomórkowe przewodu pokarmowego są rzadkimi zmianami. Najczęściej lokalizują się w przełyku, gdzie stanowią 1–2,8% złośliwych nowotworów tego narządu. Picie alkoholu, palenie tytoniu oraz kurcz wpustu są uznawane za najważniejsze czynniki ryzyka. Rokowanie u pacjentów z rakiem

drobnokomórkowym przełyku jest złe, ponieważ nowotwór jest zazwyczaj rozpoznawany w stadium zaawansowanym.

**Cel:** Przedstawiamy dwa rzadkie przypadki raka drobnokomórkowego przełyku u kobiet.

**Materiały i metody:** W archiwum Katedry i Zakładu Patomorfologii Klinicznej z lat 1996–2006 znaleziono dwa przypadki raka drobnokomórkowego przełyku. Oba zostały rozpoznane na podstawie rutynowego badania histopatologicznego materiału operacyjnego. Wykonano także odczyny immunohistochemiczne, w tym na markery neuroendokrynne. W jednym przypadku oceniono również ultrastrukturę guza.

**Opis przypadków:** Pacjentki, w wieku 62 i 66 lat skarżyły się na utrzymujące się od kilku miesięcy trudności w połykaniu. Oba guzy rozwinęły się w dolnej i środkowej części przełyku. W badaniu mikroskopowym stwierdzono nacieki sięgające do przydanki przełyku, z inwazją naczyń i zajęciem regionalnych węzłów chłonnych (stadium III wg UICC). Nowotwory miały typową budowę i wykazały dodatni odczyn immunohistochemiczny na chromograninę A, synaptofizynę i cytokeratyny. Badanie w mikroskopie elektronowym ujawniło obecność charakterystycznych ziarnistości neuroendokrynnych.

**Wniosek:** Oba przedstawione przypadki wykazują cechy typowe dla raków drobnokomórkowych przełyku.

### Small cell carcinoma of the esophagus

Justyna Szumiło<sup>1</sup>, Jarosław Swatek<sup>1</sup>, Krzysztof Zinkiewicz<sup>2</sup>, Franciszek Burdan<sup>3,4</sup>, Andrzej Dąbrowski<sup>2</sup>,

Elżbieta Korobowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Pathomorphology

<sup>2</sup>Second Department of General Surgery

<sup>3</sup>Second Department of Radiology

<sup>4</sup>Experimental Teratology Unit of the Human Anatomy Department; Medical University, Lublin

**Objectives:** Primary small cell carcinomas of gastrointestinal tract are rare. The most common location is the esophagus, where small cell carcinomas represent 1–2.8% of all esophageal malignancies. Alcohol, smoking and achalasia cardiaea are thought to be basic risk factors. The prognosis of patients with esophageal small cell carcinoma is poor due to advanced stage of disease at diagnosis in most cases.

**Aim:** We present two rare cases of esophageal small cell carcinoma in women.

**Materials and methods:** Database of the Clinical Pathomorphology Department was reviewed and two cases of esophageal small cell carcinomas were found in the period 1996–2006. In both cases the diagnosis was based on the routine pathological examination of surgical specimens. Immunohistochemical reactions including neuroendocrine markers were performed. In one case, ultrastructure of the tumor was also evaluated.

**Results:** Two women of 62- and 66-year-old suffered from dysphagia for a few months. Both tumors were located in the lower and the middle esophagus, respectively. Microscopically, infiltration into the esophageal adventitia with lymphatic invasion and involvement of the regional lymph nodes was observed (stage III according to UICC). The structure of tumors was typical and they were positive for synaptophysin, chromogranin A and cytokeratins. Characteristic neuroendocrine granules were revealed in electron microscope.

**Conclusion:** Both reported cases confirmed typical features of esophageal small cell carcinoma.

### P3.03. Przypadkowo wykrywane nowotwory neuroendokrynne przewodu pokarmowego: opis dwóch niezupełnie typowych przypadków

Jarosław Swatek, Justyna Szumiło, Elżbieta Korobowicz

Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej, Akademia Medyczna im. prof. F. Skubiszewskiego, Lublin

**Wstęp:** Wysoko zróżnicowane nowotwory neuroendokrynne rosną powoli i mogą długo przebiegać bezobjawowo. Są one dość często znajdowane przypadkowo w materiale tkankowym usuniętym z innych powodów, zwłaszcza w wyrostku robaczkowym (w 1 na 200–300 usuniętych wyrostków). W tej lokalizacji mają najłagodniejszy przebieg i najlepsze rokowanie.

**Cel:** Przedstawiamy dwa przypadki niewielkich guzów neuroendokrynnych, wykrytych w czasie badania morfologicznego. Pierwszy dotyczy rzadkiej postaci guza w typowej lokalizacji, ale w nietypowym kontekście klinicznym, drugi natomiast nowotworu o klasycznych cechach histologicznych w nietypowej lokalizacji.

**Materiał i metody:** Oba przypadki pochodzą z archiwum naszego Zakładu. Oprócz preparatów barwionych hematoksyliną i eozyną oraz mucykarminem, do obu guzów wykonano odczyny immunohistochemiczne na chromograninę A i synaptofizynę.

**Opis przypadków:** I — u 85-letniej kobiety operowanej z powodu perforacji jelita krętego w przebiegu choroby Leśniowskiego-Crohna, rozpoznano rakowiaka z komórek kubkowych wyrostka robaczkowego (guz średnicy 0,4 cm, nieprzekraczający błony mięśniowej). II — u uchyłku Meckela usuniętym podczas zabiegu odtworzenia ciągłości przewodu pokarmowego u 65-letniego mężczyzny operowanego uprzednio z powodu raka okrężnicy esowatej, znaleziono wysoko zróżnicowany guz neuroendokrynny średnicy 0,6 cm, nieprzekraczający błony podśluzowej. Zarówno rakowiak z komórek kubkowych wyrostka robaczkowego, jak i wysoko zróżnicowany guz neuroendokrynny uchyłka Meckela są uważane za nowotwory bardziej agresywne od wysoko zróżnicowanych guzów neuroendokrynnych wyrostka. Jednak w przedstawionych przypadkach niewielki zasięg procesu nowotworowego przemawia za dobrym rokowaniem.

### Neuroendocrine tumours of the alimentary tract as incidental findings: description of two not quite usual cases

Jarosław Swatek, Justyna Szumiło, Elżbieta Korobowicz

Chair and Department of Clinical Pathomorphology, Prof. F. Skubiszewski Medical University, Lublin

**Introduction:** Well differentiated neuroendocrine neoplasms grow slowly and may be asymptomatic for a long time. They are quite often found incidentally in tissues excised for other reasons, especially in the vermiform appendix (in 1 of 200–300 operated appendices). In this location they have got the most benign clinical course and the best prognosis.

**Aim:** We present here two cases of small neuroendocrine tumors found during pathological examination: a case of a rare type of tumor in a typical location, but with unusual clinical background and another one — with classical histological features, but in an unusual location.

**Material and methods:** Both cases come from the files of our Department. Apart from slides stained routinely with hematoxylin-eosin and mucicarmine, immunohistochemistry for chromogranin A and synaptophysin was performed.

**Description of cases:** I — in a 85-year-old woman operated for the perforation of the ileum in the course of Crohn disease, the goblet cell carcinoid of the vermiform appendix was diagnosed (0.4 cm in diameter, not invading beyond the muscularis propria). II — in the Meckel diverticulum removed during the reconstruction of bowel continuity in a 65-year-old man that had been previously operated for the carcinoma of the sigmoid colon, the well differentiated neuroendocrine tumour was found (0.6 cm in diameter, confined to the mucosa and submucosa).

Both the goblet cell carcinoid of the appendix and well differentiated neuroendocrine tumor of the Meckel diverticulum are regarded as more aggressive than well differentiated neuroendocrine tumors of the appendix. However, in the cases discussed here, very limited extent of the neoplastic disease stands for good prognosis.

### P3.04. Ekspresja receptorów PPAR $\gamma$ i wskaźnika proliferacji — PCNA w prawidłowych i zmienionych nowotworowo ludzkich nadnerczach

Katarzyna Winczyk<sup>1</sup>, Robert Kubiak<sup>2</sup>, Krzysztof Kołomecki<sup>3</sup>, Marek Pawlikowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Neuroendokrynologii, Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>2</sup>Zakład Patologii, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>3</sup>Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Receptory gamma aktywowane proliferatorami peroksy-somów (PPAR $\gamma$ ) są receptorami jądrowymi, które występują w prawidłowych i zmienionych nowotworowo tkankach. W niniejszym badaniu wykazano nadekspresję PPAR $\gamma$  w ludzkich gruczolakach przysadki. Agoniści receptorów PPAR $\gamma$  hamują wzrost wielu nowotworów m.in.: gruczolaków przysadki, nowotworów tarczycy i raków nadnerczy. Jednakże dane dotyczące ekspresji PPAR $\gamma$  w gruczolakach nadnerczy są bardzo skąpe.

**Cel pracy:** Immunohistochemiczna ocena receptorów PPAR $\gamma$  i wskaźnika proliferacji — PCNA w prawidłowych oraz zmienionych nowotworowo ludzkich nadnerczach. Zbadanie korelacji między ekspresją PPAR $\gamma$  i PCNA.

**Materiały i metody:** Zbadano łącznie 60 guzów nadnerczy (8 hiperplazji, 24 hormonalnie nieczynnych gruczolaków kory, 8 gruczolaków hormonalnie czynnych — zespół Conna i zespół Cushinga, 4 raki kory nadnerczy, 15 guzów chromochłonnych) i 8 prawidłowych nadnerczy usuniętych w czasie nefrektomii z powodu raka nerki. Receptory PPAR $\gamma$  i PCNA uwidoczniło metodą immunohistochemiczną, stosując poliklonalne przeciwciała dla PPAR $\gamma$  i monoklonalne dla PCNA. Oceniano ilość immunopozytywnych jąder na 1000 komórek.

**Wyniki:** Receptory PPAR $\gamma$  stwierdzono w 4 z 8 badanych prawidłowych nadnerczy i we wszystkich guzach. W gruczolakach nadnerczy liczba komórek z dodatnim odczynem dla PPAR $\gamma$  była ponad 10-krotnie wyższa niż w zdrowych nadnerczach. Gęstość receptorów w guzach chromochłonnych była 2-krotnie niższa niż w gruczolakach kory nadnerczy. Najsilniejszą ekspresję receptorów zaobserwowano w zespole Conna. Zgodnie z wcześniejszymi badaniami najwyższe wartości wskaźnika proliferacji stwierdzono w rakach nadnerczy. Wykazano także ujemną korelację między PPAR $\gamma$  i PCNA w rakach nadnerczy i gruczolakach wydzielających aldosteron.

**Wnioski:** Rozwój gruczolaków nadnerczy wiąże się z nadekspresją receptorów PPAR $\gamma$ . Obecność PPAR $\gamma$  w guzach nadnerczy daje podstawy do badań oceniających wpływ agonistów PPAR $\gamma$  na ich wzrost i czynność hormonalną. Ujemna korelacja między PPAR $\gamma$  i PCNA wymaga potwierdzenia w badaniach na większej liczbie guzów.

## Expression of PPAR $\gamma$ receptors and proliferation marker — PCNA in the human normal adrenal glands and adrenal tumours

Katarzyna Winczyk<sup>1</sup>, Robert Kubiak<sup>2</sup>, Krzysztof Kołomecki<sup>3</sup>, Marek Pawlikowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neuroendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of Pathology, Chair of Oncology, Medical University, Lodz

<sup>3</sup>Department of General and Endocrinological Surgery, Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

**Introduction:** The peroxisome proliferator-activated receptors gamma (PPAR $\gamma$ ) are nuclear receptors which are detected in normal and tumoral tissues. Our study showed overexpression of PPAR $\gamma$  in human pituitary adenomas. Agonists of PPAR $\gamma$  inhibit growth of many tumours including pituitary adenomas, thyroid cancers and adrenal carcinomas. However, data showing expression of PPAR $\gamma$  in adrenal tumours is very scarce.

**Objectives:** The evaluation of occurrence of PPAR $\gamma$  receptors in the normal adrenal glands and adrenal tumours. Estimation of the correlation between PPAR $\gamma$  receptors and proliferation marker — PCNA.

**Materials and methods:** Sixty surgically removed adrenal tumours (8 cases of hyperplasia, 24 hormonal inactive adrenocortical tumours, 8 cortical adenomas — Conn's syndrome and Cushing's

syndrome, 4 carcinomas, 15 pheochromocytomas) and 8 normal adrenals were investigated. The receptors and PCNA were detected by immunohistochemical methods using the polyclonal anti-PPAR $\gamma$  and the monoclonal anti-PCNA antibodies, respectively. The number of cells with immunopositive nuclei was counted among 1000 randomly chosen cells.

**Results:** PPAR $\gamma$  were found in all examined tumours and four of eight normal adrenal glands. The mean number of cells with positive nuclear reaction was more than 10-fold higher in adrenal tumours in comparison with normal adrenals. The density of PPAR $\gamma$  was 2-fold lower in pheochromocytomas in comparison with the cortical tumours. The strongest expression of PPAR $\gamma$  was observed in aldosterone-producing adenomas. In accordance with earlier investigations, the immunostaining of PCNA was the highest in carcinomas. Moreover, the strong negative correlation between PPAR $\gamma$  and PCNA was found in cortical carcinomas and aldosterone-producing adenomas.

**Conclusions:** Development of adrenal tumours is connected with overexpression of PPAR $\gamma$  receptors. Detection of PPAR $\gamma$  in examined tissues gives a good reason for the studies assessing the influence of PPAR $\gamma$  ligands on the growth and hormonal activity of adrenal tumours. The negative correlation between PPAR $\gamma$  and PCNA requires a confirmation in study including on the large quantity of adrenal tumours.

## SESJA PLAKATOWA (P4) — Neuroendokrynologia rozrodu i starzenia się

### P4.01. Pulsacyjne wydzielanie neuropeptydu Y i LH u pacjentek z podwzgórzowym brakiem miesiączki po odchudzaniu

Błażej Męczekalski<sup>1</sup>, Andrea R. Genazzani<sup>2</sup>, Aleksandro D. Genazzani<sup>3</sup>, Alina Warenik-Szymankiewicz<sup>1</sup>, Michelle Luisi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Endokrynologii i Ginekologicznej, Akademia Medyczna, Poznań

<sup>2</sup>Klinika Położnictwa i Ginekologii Uniwersytetu w Pizie, Piza, Włochy

<sup>3</sup>Klinika Położnictwa i Ginekologii Uniwersytetu w Modenie, Modena, Włochy

Zaburzenia w pulsacyjnym wydzielaniu GnRH mają kluczowe znaczenie w etiopatogenezie funkcjonalnego podwzgórzowego braku miesiączki. Rola innych neurohormonów, neurosteroidów w patofizjologii tego zaburzenia jest także rozważana. Neuropeptyd Y jest uwalniany w sposób pulsacyjny w obrębie jądra łukowatego i przykomorowego podwzgórza. Odgrywa rolę głównie w regulacji funkcji rozrodczych (poprzez modulowanie pulsacyjnego wydzielania GnRH) oraz w regulacji przyjmowania pokarmów.

**Cel:** Określenie pulsacyjnego wydzielania NPY i LH u pacjentek z z podwzgórzowym brakiem miesiączki po odchudzaniu i w grupie kontrolnej.

**Materiał:** 9 młodych kobiet (wiek  $20,23 \pm 2,11$  roku) zdiagnozowanych jako brak miesiączki po odchudzaniu ( $BMI 17,52 \pm 2,43 \text{ kg/m}^2$ ) i 5 młodych kobiet dobranych wiekowo (wiek  $21,88 \pm 3,12$  roku), miesiączkujących prawidłowo (co 28–33 dni) z prawidłowym BMI ( $23,62 \pm 3,11 \text{ kg/m}^2$ ).

**Metodyka:** Podstawowe wydzielanie hormonów dotyczyło FSH, LH, E<sub>2</sub> i NPY. Ocena wydzielania pulsacyjnego dotyczyła NPY i LH. Pacjentki z grupy kontrolnej były badane w późnej fazie folikularnej cyklu miesiączkowego.

**Wyniki:** Pacjentki z podwzgórzowym brakiem miesiączki po odchudzaniu miały niskie stężenia FSH, LH, E<sub>2</sub> w porównaniu z grupą

kontrolną. Stężenia NPY w surowicy w tej grupie badanej były niższe niż w grupie kontrolnej. Liczba pików NPY i LH w grupie badanej była wyższa niż w grupie kontrolnej.

**Wnioski:** Zwiększone pulsacyjne wydzielanie NPY i LH może mieć patofizjologiczne znaczenie w podwzgórzowym braku miesiączki po odchudzaniu.

### Neuropeptide Y and LH pulsatility in patients with weight loss-related amenorrhea

Błażej Męczekalski<sup>1</sup>, Andrea R. Genazzani<sup>2</sup>, Aleksandro D. Genazzani<sup>3</sup>, Alina Warenik-Szymankiewicz<sup>1</sup>, Michelle Luisi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynecological Endocrinology, University of Medical Sciences, Poznań

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, University of Pisa, Pisa, Italy

<sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, University of Modena, Modena, Italy

Disturbances in the GnRH episodic release are of main importance in the etiopathogenesis of functional hypothalamic amenorrhea. The role of other neurohormones, neurosteroids and hormones in pathophysiology of weight loss-related amenorrhea is considered. Neuropeptide Y (NPY) is released in the pulsatile manner within arcuate and paraventricular nuclei of hypothalamus. NPY may play an important role in the control of food intake, sexual behavior, circadian rhythm, memory, cognitive functions. NPY has very important impact on reproductive functions at hypothalamic level. It can directly modulate GnRH and LH secretion.

**Aim:** Characterize patients with weight loss-related amenorrhea and controls in the aspect of Neuropeptide Y (NPY) and LH pulsatility.

**Patients:** 9 young women (aged  $20.23 \pm 2.11$  yr.) diagnosed as weight loss-related amenorrhea (body mass index;  $BMI 17.52 \pm 2.43 \text{ kg/m}^2$ ) and 5 age-matched (aged  $21.88 \pm 3.12$  yr.) controls normally

menstruating (every 28–33 days) with normal BMI ( $23.62 \pm 3.11 \text{ kg/m}^2$ ).

**Methods:** The basal hormonal evaluation included serum FSH, LH,  $E_2$ , NPY. Pulsatility study for NPY and LH episodic release. Patients from control group were studied during midfollicular phase (days 6–8) of the menstrual cycle.

**Results:** Patients with weight loss-related amenorrhea had lower FSH, LH and estradiol levels than controls. Serum NPY basal levels in amenorrheic patients were lower, than in menstruating women. NPY and LH numbers of peaks in patients with weight loss-related amenorrhea were higher than in controls.

**Conclusion:** Increased NPY pulsatility may have pathophysiological significance in weight loss-related hypothalamic amenorrhea.

#### P4.02. Czy serotonina i galanina odgrywają istotną rolę w etiologii objawów zespołu klimakterycznego?

*Radosław Słopeń, Błażej Męczekalski, Alina Warenik-Szymankiewicz*

*Katedra i Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Akademia Medyczna, Poznań*

Badaniami objęto 39 kobiet po menopauzie, które zgłosiły się do Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej AM w Poznaniu z powodu objawów zespołu klimakterycznego. U wszystkich badanych ocenie poddano stopień nasilenia objawów zespołu klimakterycznego przy użyciu indeksu Kuppermana oraz stężenia  $17\beta$ -estradiolu, folikulotropiny (FSH), serotoniny i galaniny za pomocą metody radioimmunologicznej.

Średnia wartość indeksu Kuppermana w grupie badanej wynosiła 24,5 punkta ( $SD \pm 8,8$  punkta): 8 pacjentek miało zespół klimakteryczny o łagodnym nasileniu, 24 — o średnim, a 7 — ciężki zespół klimakteryczny. Spośród objawów zespołu klimakterycznego najczęściej stwierdzano: nerwowość (89,7% grupy badanej), zaburzenia snu (84,6% grupy badanej) i ogólne osłabienie (82,1% grupy badanej).

Stężenie  $17\beta$ -estradiolu w surowicy było niższe niż 0,014 ng/ml u 33 kobiet, a średnie stężenie  $17\beta$ -estradiolu w surowicy u pozostałych kobiet z grupy badanej wynosiło 0,03 ng/ml ( $SD \pm 0,02$  ng/ml). Stężenie FSH w surowicy było wyższe niż 150 j.m./l u 8 pacjentek, a średnie stężenie FSH w surowicy u pozostałych kobiet wynosiło 76,6 j.m./l.

Średnie stężenie serotoniny w surowicy w grupie kobiet z łagodnym zespołem klimakterycznym wynosiło 97,7 ng/ml ( $SD \pm 16,6$  ng/ml), a w grupie kobiet ze średnio nasilonym lub ciężkim zespołem klimakterycznym 36,2 ng/ml ( $SD \pm 24,1$  ng/ml). Różnica pomiędzy dwiema grupami była znacząca statystycznie (test Manna-Whitneya:  $p < 0,05$ ).

Średnie stężenie galaniny w surowicy w grupie kobiet z łagodnym i średnio nasilonym zespołem klimakterycznym wynosiło 15,9 ng/ml ( $SD \pm 12,6$  ng/ml), a w grupie kobiet z ciężkim zespołem klimakterycznym — 29,5 ng/ml ( $SD \pm 24,1$  ng/ml). Różnica pomiędzy dwiema grupami była znacząca statystycznie (test  $t$ -Studenta:  $p < 0,05$ ).

Stężenie serotoniny i galaniny w surowicy u kobiet po menopauzie wiąże się ze stopniem nasilenia objawów zespołu klimakterycznego.

#### Is serotonin and galanin implicated in climacteric symptoms etiology?

*Radosław Słopeń, Błażej Męczekalski,*

*Alina Warenik-Szymankiewicz*

*Department of Gynecological Endocrinology University of Medical Sciences of Poznań, Poland*

We studied 39 postmenopausal patients attending the Clinic of Gynecological Endocrinology, University of Medical Sciences, Poznań because of climacteric complaints. In the study group the severity of climacteric symptoms was assessed using the Kupperman index. Serum  $17\beta$ -estradiol, follicle stimulating hormone (FSH), serotonin and galanin concentrations were measured by radioimmunoassay.

The mean value of Kupperman index in the study group was 24.5 points ( $SD \pm 8.8$  points): 8 patients had mild climacteric syndrome, 24 moderate and 7 climacteric syndrome of severe intensity. Among climacteric syndrome symptoms the most frequently observed were: nervousness (89.7% of the study group), sleep disorders (84.6% of the study group) and general weakness (82.1% of the study group).

$17\beta$ -estradiol serum concentration was lower than 0.014 ng/ml in 33 women, the mean serum estradiol concentration for the remaining group was 0.03 ng/ml ( $SD \pm 0.02$  ng/ml). Serum FSH concentration was higher than 150 IU/l in 8 patients, the mean serum FSH concentration for the remaining group was 76.6 IU/l.

The mean serum serotonin concentration in the group of patient with mild climacteric syndrome was 97.7 ng/ml ( $SD \pm 16.6$  ng/ml), and in the group of patients with moderate and severe climacteric syndrome was 36.2 ng/ml ( $SD \pm 24.1$  ng/ml) (Mann Whitney test:  $p < 0.05$ ).

The mean serum galanin concentration in the group of patient with mild and moderate climacteric symptoms was 15.9 pg/ml ( $SD \pm 12.6$  pg/ml), and in the group of patients with severe climacteric symptoms was 29.5 pg/ml ( $SD \pm 23.3$  pg/ml) ( $t$ -Student test:  $p < 0.05$ ). We also analyzed a possible relationship between serum serotonin and galanin concentration and climacteric symptoms presence. Climacteric patients with nervousness had lower serum galanin concentration than the patients without this symptom ( $t$ -Student test  $p < 0.05$ ).

We concluded that serum serotonin and galanin concentration in postmenopausal women is related to severity of climacteric syndrome.

#### P4.03. Ekspresja genu GnRH i genu receptora GnRH (GnRH-R) w podwzgórzu oraz GnRH-R w przysadce owiej aneuralnych i w fazie ciała żółtego cyklu estralnego

*M. Ciechanowska<sup>1</sup>, M. Łopot<sup>1</sup>, T. Malewski<sup>2</sup>, K. Mateusiak<sup>1</sup>, F. Przekop<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielańskiego PAN, Jabłonna,*

<sup>2</sup>*Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec*

**Wstęp:** W porównaniu z dobrze udokumentowanymi danymi w literaturze światowej, dotyczącymi regulacji uwalniania GnRH/LH u owcy i innych gatunków o sezonowym charakterze rozrodczym w różnych stanach fizjologicznych, badania nad ekspresją genu GnRH i genu receptora GnRH (GnRH-R) u tych gatunków były tematem zaledwie kilku prac. Analiza ekspresji GnRH i GnRH-R

stanowi istotną część składową informacji niezbędnych do wyjaśnienia neuroendokrynej regulacji sekrecji GnRH/LH w różnych okresach rozrodczych u tych gatunków.

**Celem** niniejszych badań było określenie techniką RT-PCR ekspresji genów GnRH i GnRH-R w podwzgórzu oraz genu GnRH-R w przednim płacie przysadki mózgowej u owiec anestralnych i owiec w fazie ciała żółtego cyklu estralnego. Istotnym zagadnieniem tych prac było wykazanie ewentualnych różnic w ekspresji genów GnRH i GnRH-R w różnych okresach rozrodczych u owcy o zbliżonym profilu sekrecyjnym LH, charakteryzującym się małą częstotliwością pulsów LH.

**Wyniki:** U owiec anestralnych porównywalne stężenia GnRH mRNA stwierdzono we wszystkich strukturach: okolicy przedwzrokowej, przednim i brzuszno-przysadkowym podwzgórzu. Stężenia GnRH-R mRNA były różne w poszczególnych strukturach obejmujących okolicę przedwzrokową, przednie i brzuszno-przysadkowe podwzgórze, jądro lejka/wyniosłość pośrodkową. Najwyższe stężenia GnRH-R mRNA odnotowano w tkance jądra lejka/wyniosłości pośrodkowej i przednim płacie przysadki mózgowej. U owiec w fazie ciała żółtego cyklu estralnego stężenia GnRH mRNA i GnRH-R mRNA we wszystkich wymienionych strukturach były istotnie wyższe niż u owiec anestralnych. Identyczną zależność obserwowano, analizując stężenia LH w surowicy badanych owiec.

**Wnioski:** Otrzymane wyniki sugerują, że jednym z istotnych zjawisk, w następstwie których dochodzi u owiec do zmniejszenia sekrecji LH i stanu anestrального w okresie długiego dnia, może być obserwowana obniżona ekspresja genów GnRH i GnRH-R w podwzgórzu oraz genu GnRH-R w przednim płacie przysadki mózgowej.

#### Expression of GnRH gene and GnRH receptor (GnRH-R) gene in the hypothalamus and GnRH-R gene in the anterior pituitary gland of anestrus and luteal-phase ewes

M. Ciechanowska<sup>1</sup>, M. Łopot<sup>1</sup>, T. Malewski<sup>2</sup>, K. Mateusiak<sup>1</sup>, F. Przekop<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Jabłonna

<sup>2</sup>Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences, Jastrzębiec, Poland

In the light of data that seasonal changes in the innervation of GnRH neurons in the hypothalamus and a function of some neural systems affecting GnRH cells are associated with GnRH release in the ewes we put the question how the different physiological states are reflected in the expression of GnRH gene and GnRH-R gene in the hypothalamus and GnRH-R gene in the anterior pituitary gland in seasonally anestrus and luteal-phase ewes. Analysis of GnRH gene expression by RT-PCR in the anestrus ewes indicated the comparable levels of GnRH mRNA in the preoptic area, anterior and ventromedial hypothalamus; the GnRH-R mRNA at different concentrations were found throughout preoptic area, anterior and ventromedial hypothalamus, nucleus infundibularis/median eminence (SME) and in the anterior pituitary gland. The highest levels of GnRH-R mRNA were detected in the SME and in the anterior pituitary gland. In ewes during the luteal phase of the estrous cycle the levels of GnRH mRNA and GnRH-R mRNA in all structures were significantly higher than in anestrus ewes. Also LH concentration in the blood plasma of luteal phase ewes were significantly higher than those of anestrus ewes.

**In conclusion,** the obtained results suggest that a low expression of GnRH gene and GnRH-R gene in the hypothalamus and GnRH-R gene expression in the SME and in the anterior pituitary gland,

among others, may be also responsible for a decrease of LH secretion and anovulatory state in ewes during the long photoperiod.

#### P4.04. Wpływ endotoksyny bakteryjnej na stężenie hormonu luteinizującego, hormonu wzrostu i kortyzolu u anestralnych owiec

Andrzej Herman, Dorota Tomaszewska-Zaremba, Katarzyna Romanowicz

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego, PAN, Jabłonna

Podstawowym wymogiem przeżycia organizmu ssaków jest utrzymanie homeostazy. Wśród systemów utrzymujących stan równowagi organizmu kluczową rolę odgrywają zarówno układ neuroendokryny, jak i odpornościowy. Jak wykazano w licznych badaniach, endotoksyna bakteryjna (LPS), silny stymulator układu odpornościowego, podana obwodowo może zmieniać sekrecję niektórych hormonów.

Celem badań było zbadanie wpływu obwodowego podania endotoksyny bakteryjnej na sekrecję hormonu luteinizującego (LH), hormonu wzrostu (GH) i kortyzolu.

Doświadczenie wykonano na 12 owcach rasy Czarnogłówka w okresie anestralskim. Badane hormony oznaczano metodą RIA w próbkach krwi pobieranych co 15 minut, począwszy 2 h przed podaniem, a następnie 6 h po podaniu LPS (400 ng/kg, dożylnie, n = 6) lub soli fizjologicznej (dożylnie, n = 6).

Podanie soli fizjologicznej nie wpływało na sekrecję badanych hormonów, natomiast iniekcja endotoksyny bakteryjnej istotnie podwyższyła stężenie kortyzolu i GH, natomiast obniżyła stężenie LH w osoczu. U zwierząt poddanych działaniu LPS obserwowano znaczne podwyższenie temperatury ciała, wydzielinę z nosa, kaszel, ospałość.

Uzyskane wyniki wykazały, że endotoksyna bakteryjna może powodować zmiany w sekrecji GH, LH i kortyzolu u anestralnych owiec. Sądzi się, że hamujące działanie LPS na procesy rozrodcze może być konsekwencją aktywacji badanych czynników takich jak GH, kortyzol i temperatura ciała.

#### Effect of endotoxin on the level of luteinizing hormone, growth hormone and cortisol in anestrus ewes

Andrzej Herman, Dorota Tomaszewska-Zaremba, Katarzyna Romanowicz

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

Infections disease processes cause physiological adaptations in animals to recorder different functions to support host survival. Neuroendocrine and immune systems mediate this process. Endotoxin (LPS), a potent stimulator of the immune system, has been shown to alter the release of certain hormones following systemic administration.

The aim of this study was to determine the effect of systemic injection of LPS on the luteinizing hormone (LH), growth hormone (GH) and cortisol secretion.

The experiment was performed on 12 anestrus Blackface ewes. Blood samples for hormone determination were obtained at 15 min. intervals beginning 2 h before and continuing 6 h after endotoxin (400 ng/kg, iv bolus, n = 6) or saline (vehicle, iv, n = 6) injection. Saline had no effect on the investigated hormone secretion. In contrast, endotoxin significantly stimulated cortisol and GH secretion and produced a decrease in plasma LH concentrations and induced marked increase in body temperature.

The results of this study demonstrate the ability of endotoxin to alter GH, LH and cortisol secretion in anestrus ewes. We can conclude that suppressive effect of LPS on the reproductive axis can be partly a consequence of activation other studied parameters (such as GH, cortisol and body temperature).

#### P4.05. Ekspresja białka leptyny i receptora leptyny w przysadce świni podczas wczesnej ciąży

Gabriela Siawrys<sup>1</sup>, Tadeusz Kamiński<sup>1</sup>, Nina Smolińska<sup>1</sup>, Stanisław Okrasa<sup>1</sup>, Alina Gajewska<sup>2</sup>, Kazimierz Kochman<sup>2</sup>, Jadwiga Przała<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

<sup>2</sup>Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego PAN, Jabłonna

Ostatnie doniesienia wskazują, że leptyna uczestniczy w regulacji funkcji rozrodczych u różnych gatunków zwierząt, w tym u świni. Hormon ten może działać przez oś podwzgórze-przysadka-gonady, po związaniu się z receptorami, z których długa forma (OB-Rb) jest szczególnie ważna.

**Celem** prezentowanych badań była komórkowa lokalizacja ekspresji mRNA leptyny i jej długiej formy receptora (OB-Rb) oraz ekspresji białka leptyny i OB-Rb w przednim (AP) i nerwowym (NP) płacie przysadki u świń w środkowo- i późnolutealnej fazie cyklu rujowego (10.–12. i 14.–16. dzień) i dwóch okresach wczesnej ciąży (14.–16. i 30.–32. dzień).

**Metody:** Ekspresja obu genów była badana przy użyciu metody hybrydyzacji *in situ*, natomiast produkty białkowe tych genów metodą Western-blot.

**Wyniki:** Metodą hybrydyzacji *in situ* zlokalizowano ekspresję mRNA leptyny i OB-Rb w przednim (AP) i nerwowym (NP) płacie przysadki u cyklicznych (10.–12. i 14.–16. dzień) i ciężarnych (14.–16. i 30.–32. dzień) loszek. Wyniki badań przy użyciu metody Western-blot wykazały, że u badanych zwierząt występuje także ekspresja białka leptyny i OB-Rb w obu płatach przysadki. Podczas ciąży (14.–16. i 30.–32. dzień) ekspresja białka leptyny w AP była wyższa w porównaniu z 10.–12. dniem cyklu, podczas gdy ekspresja białka OB-Rb była hamowana. Ponadto w 14.–16. dniu ciąży zaobserwowano wyższą ekspresję białka leptyny w AP, natomiast niższą w NP w porównaniu z 14.–16. dniem cyklu. Z kolei, ekspresja białka OB-Rb w NP była wyższa w 14.–16. dniu ciąży w relacji do 14.–16. dnia cyklu.

**Wnioski:** Różnice w poziomie ekspresji białka leptyny i jej receptora w przysadce świni pomiędzy fazą lutealną cyklu rujowego a wczesną ciążą sugerują, że leptyna uczestniczy w modulowaniu funkcji rozrodczych na poziomie przysadki.

PBZ KBN-084/P06/2002 i Nr 0206.0805.

#### Leptin and leptin receptor proteins expression in porcine pituitary gland during early pregnancy

Gabriela Siawrys<sup>1</sup>, Tadeusz Kamiński<sup>1</sup>, Nina Smolińska<sup>1</sup>, Stanisław Okrasa<sup>1</sup>, Alina Gajewska<sup>2</sup>, Kazimierz Kochman<sup>2</sup>, Jadwiga Przała<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Physiology, University of Warmia and Mazury, Olsztyn

<sup>2</sup>The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition PAN, Jabłonna

Recent evidences indicate that leptin is involved in the regulation of reproductive functions in different species, including pigs. It can act through hypothalamic-pituitary-gonadal axis, after binding to its receptors, of which a long form (OB-Rb) seems to be especially important.

**The aim** of present studies were to localize the expression of the leptin and the long form leptin receptor (OB-Rb) mRNAs and proteins in the anterior (AP) and neural (NP) pituitary of the pig during mid- and late-luteal phase of the estrous cycle (days 10–12 and 14–16) as well as two stages of early pregnancy (days 14–16 and 30–32). Expression of both genes were examined using *in situ* hybridization methods, whereas protein products of these genes through Western-blotting method.

**The results** obtained by *in situ* hybridization method showed that in cyclic (days 10–12 and 14–16) and pregnant (days 14–16 and 30–32) pigs leptin mRNA and OB-Rb mRNA are expressed both in AP and NP. Based on Western-blotting it was demonstrated the expression of leptin and OB-Rb proteins in AP and NP as well. During early pregnancy (days 14–16 and 30–32) leptin protein expression in AP was increased in comparison with days 10–12 of the estrous cycle, whereas OB-Rb protein content was suppressed. Moreover on days 14–16 of the pregnancy leptin protein expression in AP was increased in relation to days 14–16 of the cycle, whilst in NP was decreased. In turn, OB-Rb protein expression in NP was greater on days 14–16 of the pregnancy than on days 14–16 of the cycle.

**The finding** of differences in leptin protein and leptin receptor protein expression levels between luteal phases of the estrous cycle and early pregnancy in porcine pituitary suggests that leptin may take part in the modulation of reproductive processes at the pituitary level.

Project No PBZ KBN-084/P06/2002 and No 0206.0805.

#### P4.06. Ekspresja genów kodujących prodynorfinę i receptor opioidowy $\kappa$ w przysadce u loszek podczas cyklu rujowego

Bartosz Wylot, Jarosław Staszkiwicz, Bartłomiej E. Kraziński, Stanisław Okrasa

Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

**Wprowadzenie:** Endogenne peptydy opioidowe (EOP) — powstające z prekursorów, takich jak: POMC, proenkefalina i prodynorfina — są zaangażowane w regulację procesów rozrodczych u samic. Najwięcej danych dotyczących roli EOP w regulacji osi podwzgórze-przysadka-jajnik odnosi się do peptydów powstających z POMC ( $\beta$ -endorfiny) i proenkefaliny (enkefalin), które wykazują najwyższe powinowactwo odpowiednio do receptorów typu  $\mu$  i  $\delta$ . Udział peptydów powstających z prodynorfiny (działających głównie przez receptory  $\kappa$ ) w regulacji funkcjonowania osi gonadalnej jest znacznie słabiej poznany. Ekspresję genów prodynorfiny i receptora  $\kappa$  stwierdzono w przysadce, jednak do tej pory nie badano ich ekspresji w tym gruczole w zależności od okresu aktywności płciowej samicy.

**Celem** badań było oznaczenie ekspresji genów prodynorfiny i receptora opioidowego  $\kappa$  w przednim płacie przysadki świni podczas cyklu rujowego.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły przysadki (5 × N = 7) pobierane od loszek znajdujących się w 3.–5., 8.–10., 13.–15., 16.–17. oraz 19.–20. dniu cyklu rujowego. Poziom mRNA badanych genów określono za pomocą półilościowej analizy RT-PCR z zastosowaniem starterów specyficznych dla genów prodynorfiny i receptora  $\kappa$  oraz genu referencyjnego L19. Uzyskane produkty PCR zsekwencjonowano w celu potwierdzenia ich specyficzności.

**Wyniki:** W badaniach wykazano istotne ( $p < 0,05$ ) zmiany ekspresji badanych genów podczas cyklu. Stwierdzono, iż największa ekspresja genu prodynorfiny zachodzi 3.–5. dnia cyklu. Największą ekspresję genu receptora  $\kappa$  obserwowano 8.–10. dnia cyklu.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki sugerują udział systemu prodynorfinowego w lokalnej modulacji wydzielenia gonadotropin, jak również innych hormonów przedniego płata przysadki u świni.

## Expression of prodynorphin and $\kappa$ -opioid receptor genes in the anterior pituitary of cyclic gilts

Bartosz Wylot, Jarosław Staszkiwicz,  
Bartłomiej E. Kraziński, Stanisław Okrasa

Department of Animal Physiology, University of Warmia and Mazury, Olsztyn

**Introduction:** Endogenous opioid peptides (EOP) — derived from opioid precursors, i.e. POMC, proenkephalin and prodynorphin — are involved in the regulation of reproduction in females. The majority of data concerning the role of EOP in the regulation of the hypothalamus-pituitary-ovarian axis refers to the peptides derived from POMC ( $\beta$ -endorphin) and proenkephalin (enkephalins), which show high affinity for  $\mu$  and  $\delta$  receptors, respectively. The role of prodynorphin products (acting mainly through  $\kappa$  receptors) in the regulation of function of the gonadal axis is less known. Expression of the genes coding for prodynorphin and  $\kappa$ -opioid receptor has been confirmed in pituitary, however, their expression in the gland in relation to reproductive stages has not been studied.

**Aim:** The aim of this study was to determine the expression of prodynorphin and  $\kappa$  receptor genes in the anterior pituitary of the pig during the estrous cycle.

**Materials and methods:** Pituitaries ( $5 \times N = 7$ ) were collected from sows on days 3–5, 8–10, 13–15, 16–17 and 19–20 of the cycle. The gene expression was determined with a semi-quantitative RT-PCR assay with the use of primers specific for prodynorphin and  $\kappa$  receptor genes as well as the reference gene L19. PCR products were sequenced to confirm their specificity.

**Results:** Significant ( $p < 0.05$ ) changes in the expression of investigated genes in the pituitary were demonstrated during the estrous cycle. The highest expression of prodynorphin gene was found on days 3–5 of the cycle. In turn, the highest expression of  $\kappa$  receptor gene was observed on days 8–10 of the cycle.

**Conclusion:** These results suggest participation of the prodynorphin system in a local modulation of the secretion of gonadotropins as well as other anterior pituitary hormones in the pig.

## P4.07. Wpływ leptyny infundowanej dokomorowo na sekrecję melatoniny u owiec w okresie długiego dnia

Dorota A. Zięba<sup>1</sup>, Tomasz Misztal<sup>2</sup>, Edyta Molik<sup>1</sup>,  
Katarzyna Romanowicz<sup>2</sup>, Duane Keisler<sup>3</sup>, Maciej Murawski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Hodowli Owiec i Kóz, Akademia Rolnicza, Kraków

<sup>2</sup>Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt, Polska Akademia Nauk, Jabłonna

<sup>3</sup>Department of Animal Science, University of Missouri, Columbia, Missouri, USA

**Wstęp:** Stężenie leptyny we krwi obwodowej podlega zmianom zarówno dobowym, jak i sezonowym. Zwierzęta rozmnażające się sezonowo: owce i chomiki syberyjskie przejawiają roczne zmiany aktywności płciowej, apetytu i masy ciała. Wzrost poboru pokarmu/masy ciała podczas długich dni wiąże się z wysokim stężeniem leptyny obwodowej i niskim jej stężeniem w płynie mózgowo-rdzeniowym, natomiast podczas dni krótkich obserwowane jest zjawisko odwrotne. Wobec braku danych dotyczących interakcji pomiędzy leptyną a melatoniną podjęto badania, których celem było określenie przypuszczalnych oddziaływań pomiędzy tymi hormonami.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w okresie wydłużającego się dnia (marzec–maj) na owcach długowłnistych ( $n = 8$ ), którym chirurgicznie implantowano stalowe kaniule do trzeciej komory mózgowej (IIIv). Infuzje płynu Ringera-Lock'a (RL, kontrola) lub rekombinowanej owczej leptyny — 0,5 mg/kg m.c. (7,5 mg/100 ml) — do IIIv przeprowadzano seriami: 4-krotnie

po 100 ml/h w odstępach 30-minutowych, przy użyciu pompy mikroiniekcyjnej. Początek pierwszej infuzji pokrywał się z czasem naturalnego zachodu Słońca. Próbkę krwi pobierano z żyły jarzmowej przez okres 6 h, co 15 minut i w uzyskanym osoczu oznaczono stężenia melatoniny i leptyny metodami RIA.

**Wyniki:** Dokomorowa infuzja leptyny spowodowała istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost średniego stężenia leptyny we krwi owiec w porównaniu z grupą kontrolną. Uwidoczniło się to szczególnie podczas 3 ostatnich godzin doświadczenia. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu infundowanej leptyny na sekrecję melatoniny ( $p > 0,2$ ).

**Wnioski:** Brak zmian w sekrecji melatoniny u owiec pod wpływem infundowanej do IIIv leptyny jest prawdopodobnie związany z niewrażliwością na wysokie stężenie leptyny neuronów podwzgórza (zwłaszcza jądra łukowatego), a także szyszynki w której wykazano występowanie receptorów leptyny, w okresie wydłużającego się dnia. Badania te są zgodne z wykazaną u chomika syryjskiego leptynoopornością, występującą w tym właśnie okresie.

## Effect of i.c.v. infusion of exogenous leptin on melatonin secretion in ewes during the long day photoperiod

Dorota A. Zięba<sup>1</sup>, Tomasz Misztal<sup>2</sup>, Edyta Molik<sup>1</sup>, Katarzyna Romanowicz<sup>2</sup>, Duane Keisler<sup>3</sup>, Maciej Murawski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Sheep and Goat Breeding, University of Agriculture, Cracov

<sup>2</sup>Institute of Physiology and Animal Feeding, Polish Academy of Sciences, Jabłonna

<sup>3</sup>Department of Animal Science, University of Missouri, Columbia, Missouri, USA

**Introduction:** Seasonal species include the sheep, a short-day (SD) breeder, and Siberian hamster, a long-day (LD) breeder exhibit physiological adaptations to the environment including annual cycles of appetite and body weight change. Appetite and body weight increase during LD and decrease during SD, regardless of food abundance, and changes in body weight are associated with concomitant changes in adipose tissue mass, leptin gene expression, and leptin secretion. Photoperiodic signals to the brain are mediated humorally by pineal-derived melatonin that is secreted almost entirely during the night and which depends on stimuli initiating from the suprachiasmatic nucleus (SCN), the mammalian „biological clock”. Recently, the mRNA for long-form of the leptin receptor was detected in the SCN and pineal gland of a ruminant species, suggesting an interaction between photoperiod, melatonin, and leptin.

**Material and methods:** Studies were conducted on 8 sheep which received third ventricle (IIIv) cannulas. Ewes received Ringer-Locke solution as a control group; and leptin in a dose of 0.5 mg/kg of body weight (7.5 mg/100 ml of R-L) in a Latin Square design (i.e. each ewe received one treatment in random order on each day of two days experiment). Blood samples were collected at 15-min intervals for 6 h beginning one hour after sunset, with R-L solution or leptin infused i.c.v. immediately after the first intensive sample collected. Infusions were performed 4 times using a microinjection push-pull pump (each infusion lasted 60 minutes with 30 minutes breaks). Melatonin and leptin concentrations in were determined using RIA.

**Results:** Central treatment with leptin had stimulatory effect ( $p < 0.05$ ) on melatonin secretion during LD. This effect was especially consistent during last three hours of experiment. There was no effect of i.c.v. leptin on melatonin release from pineal gland ( $p > 0.2$ ).

**Conclusion:** We conclude that the release of melatonin from the ovine pineal gland is not responsive to leptin stimulation during LD and that observation is consistent with data obtained from

another seasonal species Siberian hamster, showing the development of leptin resistance during the long day photoperiod.

#### **P4.08. Wpływ stresu na ekspresję genu GnRH i genu receptora GnRH (GnRH-R) w podwzgórze oraz GnRH-R w przednim płacie przysadki owiec anestralnych i w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego**

*M. Łopot<sup>1</sup>, M. Ciechanowska<sup>1</sup>, T. Malewski<sup>2</sup>, K. Mateusiak<sup>1</sup>, F. Przekop<sup>1</sup>*

*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego PAN, Jabłonna  
Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec*

Analiza ekspresji genów: GnRH oraz receptora GnRH stanowi istotną część składową w wyjaśnieniu dysfunkcji procesów rozrodczych u zwierząt narażonych na czynniki stresogenne środowiska. Wyniki dotychczasowych badań nie zawsze są jednoznaczne i wskazują, że poziom ekspresji tych genów w znacznej mierze uzależniony jest od rodzaju analizowanej struktury, wieku i płci zwierzęcia, jego stanu fizjologicznego, rodzaju czynnika powodującego wyzwalenie reakcji stresowej, jego intensywności i czasu działania.

Celem niniejszych badań było określenie ekspresji genów GnRH i GnRH-R u owiec anestralnych i w fazie pęcherzykowej cyklu estralnego, w warunkach stresu krótkotrwałego i o przedłużonym działaniu. Czynnikiem stresogennym były łagodne impulsy prądu elektrycznego drażniące przednie kończyny zwierzęcia, trwające odpowiednio przez 3 godziny z przerwami (stres krótki), lub przez 5 godzin podczas 4 kolejnych dni (stres przedłużony).

Przy użyciu techniki RT-PCR wykazano u owiec estralnych, że stres w zależności od czasu trwania, w różny sposób wpływa na ekspresję GnRH i GnRH-R oraz na uwalnianie LH: stres krótkotrwały aktywuje ekspresję obydwu tych genów i uwalnianie LH, natomiast stres o przedłużonym działaniu — hamuje. W doświadczeniach przeprowadzonych na owcach anestralnych odnotowano istotny wzrost stężeń GnRH mRNA i GnRH-R mRNA zarówno w warunkach stresu krótkiego, jak i stresu o przedłużonym działaniu; wzrost wydzielania LH wystąpił jedynie u owiec poddanych krótkotrwałemu stresowi.

Pozytywna korelacja zmian poziomów ekspresji obydwu genów ze zmianami stężeń LH, obserwowana u owiec estralnych sugeruje, że stres może zakłócać procesy owulacji, nie tylko poprzez zmiany w uwalnianiu gonadotropin, lecz także w biosyntezie GnRH i jego białka receptorowego. Brak jednorodnej korelacji między ekspresją genów GnRH i GnRH-R a uwalnianiem LH u anestralnych samic wskazuje, że neuroendokryne mechanizmy regulujące ekspresję tych genów w warunkach stresogennych, różnią się od procesów neuralnych kontrolujących uwalnianie GnRH/LH.

#### **The effects of stress on the expression of the GnRH and GnRH receptor (GnRH-R) genes in the hypothalamus and GnRH-R gene in the anterior pituitary gland in anestrus and follicular phase ewes**

*M. Łopot<sup>1</sup>, M. Ciechanowska<sup>1</sup>, T. Malewski<sup>2</sup>, K. Mateusiak<sup>1</sup>, F. Przekop<sup>1</sup>*

*The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Jabłonna  
Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences, Jastrzębiec*

The analysis of the expression of GnRH gene and GnRH-R gene are very important to understanding the mechanisms through

which stress induces reproductive dysfunction. Currently available data indicate, that transcriptional activity of these genes in high degree are dependent upon the kind of analyzed tissue, physiological state of animals, the kind and intensity of stress application, age and gender.

Therefore, the aim of our study was to analyze the effect of short and prolonged footshock stimulation on the expression of GnRH and GnRH-R genes in anestrus and follicular phase ewes. The state of stress was induced by mild alternative current pulses on the feet of animals for 3 h (short stress) and for 5 h daily during 4 consecutive days (prolonged stress).

Using RT-PCR technique it was shown a different, time application-dependent influence of stress on the expression of GnRH gene, GnRH-R gene and LH secretion in the estrous ewes. In the contrast to the short stress stimulating effect, the prolonged stress significantly decreased GnRH mRNA and GnRH-R mRNA levels in analyzed tissue and LH concentration in blood plasma. In anestrus ewes a significant increase of GnRH mRNA and GnRH-R mRNA was observed under short and prolonged footshock stimulation: the increase of LH secretion was detected only in short stressed animals.

The direct relationship between GnRH and GnRH-R expression and LH secretion in follicular phase ewes suggest that an ovulatory disruption under stress condition depends not primarily on the gonadotropin release but also on the GnRH and GnRH-R biosynthesis. Lack of relation between GnRH, GnRH-R expression and LH secretion in anestrus ewes show that neural network controlling GnRH and GnRH-R expression differ to regulation GnRH/LH release.

#### **P4.09. Długotrwałe stymulacyjne działanie neuropeptydu PACAP38 na wydzielanie progesteronu w hodowli komórek ziarnistych jajnika dojrzałych szczurzy**

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

*Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Warszawa*

**Wstęp:** Neuropeptyd PACAP38 wydzielany przez komórki pęcherzyków jajnikowych może w sposób auto- i parakryny oddziaływać jako regulator syntezy progesteronu (PROG). PACAP może w sposób zależny od dawki stymulować cAMP i wydzielanie progesteronu w hodowli komórek ziarnistych jajnika. Wydaje się, że PACAP może wpływać na aktywację i syntezę kompleksu enzymatycznego P450 scc — kluczowego etapu steroidogenezy i na syntezę białka StAR etapu — limitującego szybkość steroidogenezy, odpowiedzialnego za transport cholesterolu do mitochondrium.

**Celem** pracy były badania nad rolą PACAP 38 w regulacji jajnikowej syntezy PROG.

**Materiał i metody:** Badano wpływ aminoglutetymidu (AGT) (inhibitor kompleksu enzymatycznego P450 scc), cykloheksymidu (CHX) (inhibitor syntezy białka StAR), aktynomycyny D (ACT) (inhibitor syntezy RNA) na stymulowane przez PACAP38 wydzielanie PROG z komórek ziarnistych jajnika dojrzałych szczurzy (diestrus) po 2 godzinach i po 24 godzinach inkubacji P450. Do hodowli komórkowej użyto 25 hydroksycholesterolu (25-HC) jako substratu kompleksu enzymatycznego P450 scc z pominięciem oddziaływania białka StAR. Stężenie PROG w zebranym medium oceniano metodą RIA.

**Wyniki:** Stymulowane przez PACAP38 wydzielanie PROG w obecności 25-OH ulegało całkowitemu zahamowaniu po 2 godzinach i 24 godzinach inkubacji z AGT i z CHX. Wydzielanie PROG sty-



mulowane przez PACAP38 w obecności ACT ulegało częściowemu zahamowaniu po 2 godzinach inkubacji i całkowitemu zahamowaniu po 24 godzinach inkubacji.

**Wnioski:** Długotrwała stymulacja przez PACAP38 wydzielania PROG wymaga *de novo* syntezy białka StAR.

*Badania finansowane z programu CMKP 501-1-1-28-32/05.*

### The long-term stimulatory effects of PACAP38 on progesterone release from cultured ovarian granulosa cells from adult cyclic rats

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

*Neuroendocrinology Department Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw*

**Introduction:** Neuropeptide PACAP expressed in steroidogenic ovarian cells of rat could be an auto- or paracrine regulator of progesterone (PROG) synthesis. PACAP may induce dose-dependent cAMP and PROG release from cultured ovarian cells. It seems that PACAP can influence ovarian activity and synthesis of P450 scc enzyme complex — a key step in steroidogenic cascade and synthesis of StAR protein — the rat limiting step in steroidogenesis, responsible for transfer of cholesterol into the mitochondria.

**The aim:** The present study was designed to evaluate the role of PACAP38 in long-term regulation of ovarian PROG synthesis.

**Material and methods:** We examine the effects of aminoglutethimide (AGT) (an inhibitor of P450 scc enzyme complex), cycloheximide (CHX) (an inhibitor of StAR protein synthesis), actinomycin D (ACT) (an inhibitor of RNA synthesis) on PROG release stimulated by PACAP38 from cultured ovarian granulosa cells of adult cyclic rat (diestrus) during 2 h and 24 h incubation. We used 25 hydroxycholesterol (25-HC) as substrate of P450 scc enzyme, bypassing the need for StAR protein. Medium was collected for PROG evaluation by RIA method.

**Results:** PROG release stimulated by PACAP38 in the presence of 25-HC was totally inhibited by AGT and by CHX after 2 h and 24 h incubation. PROG release stimulated by PACAP38 was partially inhibited by ACT after 2 h incubation and totally inhibited after 24 h incubation.

**Conclusions:** The long-term stimulatory effect of PACAP38 on PROG release requires *de novo* synthesis of StAR protein.

*This study was supported by CMKP grant 501-1-1-28-32/05.*

### P4.10. Ekspresja genów kodujących POMC i receptor $\mu$ w przysadce podczas cyklu rujowego u loszek

*Jarosław Staszkiwicz, Bartosz Wylot, Stanisław Okrasa*

*Katedra Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn*

**Wprowadzenie:** Proopiomelanokortyna (POMC) jest wielocząsteczkowym i wielofunkcyjnym prekursorem, z którego powstają ACTH, MSH, LPH oraz endorfiny. Ośrodkowy układ nerwowy, przysadka, jak również tkanki obwodowe, są miejscem ekspresji genu POMC. Wcześniejsze badania wykazały, że  $\beta$ -endorfina — działająca głównie poprzez receptory opioidowe typu  $\mu$  — mo-

dukuje funkcjonowanie osi podwzgórze-przysadka-jajnik na wszystkich poziomach, regulując sekrecję GnRH, gonadotropin oraz steroidów jajnikowych. W przysadce, w której  $\beta$ -endorfina jest wydzielana wraz z ACTH, wykazano modulujący jej wpływ na sekrecję LH u świni. Jednakże profil przysadkowej ekspresji genów POMC i receptora  $\mu$  podczas cyklu rujowego u świni dotychczas nie był przedmiotem badań.

**Celem badań** było sprawdzenie czy w przysadce loszek ekspresja genów POMC oraz receptora  $\mu$  zmienia się podczas cyklu rujowego.

**Materiał i metody:** Przysadki ( $5 \times N = 7$ ) od loszek pobrano pobjawowo w 3.–5., 8.–10., 13.–15., 16.–17. i 19.–20. dniu cyklu. Ekspresję genów określano za pomocą półilościowej analizy mRNA metodą RT-PCR. Produkty PCR zsekwencjonowano w celu potwierdzenia ich specyficzności.

**Wyniki:** Uzyskane wyniki potwierdzają, że przysadka świni jest miejscem ekspresji genów kodujących zarówno POMC, jak i receptor  $\mu$ . Wykazano, że ekspresja genu POMC w dniach 13.–15. jest największa i istotnie podwyższona ( $p < 0,05$ ) w porównaniu z poziomem ekspresji tego genu w dniach 19.–20. Ekspresja genu receptora  $\mu$  nie zmieniała się istotnie w przebiegu cyklu rujowego. **Wnioski:** Przeprowadzone badania sugerują konstytutywny, niezależny od fazy cyklu, charakter przysadkowej ekspresji genu receptora  $\mu$ . Stwierdzone zmiany w ekspresji genu POMC w przysadce mogą wiązać się ze zróżnicowanym profilem sekrecji LH u świni.

### The expression of genes coding for POMC and $\mu$ receptor in anterior pituitary during the estrous cycle in gilts

*Jarosław Staszkiwicz, Bartosz Wylot, Stanisław Okrasa*

*Department of Animal Physiology, University of Warmia and Mazury, Olsztyn, Poland*

**Introduction:** Proopiomelanocortin (POMC) is a high molecular and multi functional precursor, from which ACTH, MSH, LPH and endorphins are derived. Central nervous system, pituitary gland and peripheral tissues express gene coding for POMC. Previous studies have indicated, that  $\beta$ -endorphin, preferentially acting through  $\mu$  opioid receptors, is involved in the regulation of reproductive processes at all levels of the hypothalamo-pituitary-gonadal axis. It influences GnRH, gonadotropins and ovarian steroids secretion. In pituitary gland, where  $\beta$ -endorphin and ACTH are secreted, the opioid peptide modulates LH secretion in sows. However, the pituitarian patterns of POMC and  $\mu$  receptor genes expression during the estrous cycle in pigs have not been examined.

**The aim** of this study was to test whether in pituitary gland the expression of genes coding for POMC and  $\mu$  receptor changes during the estrous cycle.

**Material and methods:** Porcine pituitaries were recovered ( $5 \times N = 7$ ) on days 3–5, 8–10, 13–15, 16–17 and 19–20 of the cycle. The expression of genes was analyzed with semi-quantitative RT-PCR method. PCR products were sequenced to prove their specificity.

**Results:** Obtained results confirmed the expression of analyzed genes in anterior pituitary. The POMC mRNA level was the highest on days 13–15 and significantly ( $p < 0,05$ ) elevated in comparison to that found on days 19–20. The expression of  $\mu$  receptor gene did not change significantly throughout the cycle.

**Conclusions:** The present study suggests stable expression of  $\mu$  receptor gene in anterior pituitary during the porcine estrous cycle. The changes in POMC gene expression in this gland might be related to differentiated pattern of LH secretion in the pig.

## SESJA PLAKATOWA (P5) — Tematy różne

**P5.01. Wpływ polisacharydu mannanu na interakcję greliny i neuropeptydów w układzie nerwowym***Krystyna Pierchala-Koziec, Joanna Zubel**Katedra Fizjologii Zwierząt, Akademia Rolnicza, Kraków*

**Wstęp:** Grelina może być uznana za jeden z najważniejszych peptydów łączących procesy fizjologiczne regulujące odżywianie, układ hormonalny, immunologiczny, wzrost i rozwój ludzi i zwierząt. Istotnym elementem obrony organizmu podczas wzrostu jest immunologiczna reakcja na polisacharydowe składniki mikroorganizmów. Mannan, polisacharyd znajdujący się w ścianach komórek *Saccharomyces cerevisiae* stymuluje układ immunologiczny poprzez złożone mechanizmy, także neurohormonalne.

**Cel:** Celem przeprowadzonych eksperymentów było określenie interakcji greliny i neuropeptydów podwzgórza i przysadki jagniąt poddanych działaniu mannanu.

**Materiały i metody:** Doświadczenia wykonano na 48 jagniętach pomiędzy 30. i 60. dniem życia w dwóch seriach. W pierwszej serii zwierzęta karmione były standardowo; podzielono je na grupę kontrolną i 3 doświadczalne otrzymujące w odstępach 7 dni dożylną iniekcję greliny (10 µg/kg m.c.), naltreksonu (3 mg/kg m.c.) lub deksametazonu (Dexaven, 10 µg/kg m.c.) W drugiej serii jagnięta podzielono na takie same grupy, ale standardową paszę wzbogacono dodatkiem 0,2% oligosacharydu mannanu. Po upływie 30 dni od wszystkich jagniąt pobrano podwzgórze i przysadkę, w których metodą radioimmunologiczną oznaczono stężenie wolnej i związanej Met-enkefaliny.

**Wyniki:** Iniekcje greliny, naltreksonu i deksametazonu zmieniły stężenie wolnej i związanej Met-enkefaliny w podwzgórzu jagniąt karmionych standardowo. Długotrwałe podawanie polisacharydu spotęgowało działanie greliny i antagonisty receptorów opioidowych. Reakcja przysadki na iniekcje hormonów była bardziej intensywna niż w podwzgórzu.

**Wnioski i podsumowanie:** Otrzymane wyniki wykazały wpływ mannanu na interakcję greliny, neuropeptydów oraz układu immunologicznego podczas wzrostu i rozwoju jagniąt.

*Finansowane przez grant Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr: 0763/P01/2006/30.*

**The effect of polysaccharide mannan components on the interaction of ghrelin and neuropeptides in the nervous system***Krystyna Pierchala-Koziec, Joanna Zubel**Department of Animal Physiology, University of Agriculture, Cracow*

**Introduction:** Ghrelin represents a crucial peptide connecting physiological processes regulating nutrition, immune and hormone system, growth and development in human and animals. An important part of host defense are immune responses to the polysaccharides components of microorganisms. Mannan, polysaccharide component of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall stimulates the immune system through complicated mechanisms, also neurohormonal.

**Aim of the study:** The aim of the study was to investigate the interaction of ghrelin and neuropeptides in the hypothalamus and pituitary of lambs treated with mannan.

**Materials and methods:** The experiments were performed on the 48 lambs between 30 and 60 days of life in two series. During the first experiment animals were fed with standard diet and divided into control, and three experimental groups injected i.v. every 7th day with ghrelin (10 µg/kg), naltrexone (3 mg/kg) or dexamethasone (Dexaven, 10 µg/kg). During the second experiment lambs were divided into the same groups but food was supplemented with 0.2% of mannan oligosaccharides. After 30 days the hypothalamus and pituitary were taken out and directed to radioimmunoassay of free and cryptic Met-enkephalin.

**Results:** Injections of ghrelin, naltrexone and dexamethasone changed the concentration of free and cryptic Met-enkephalin in the hypothalamus and pituitary of lambs fed with standard diet. Long term treatment with polysaccharide potentiated the effects of ghrelin and the opioid receptor's antagonist. The reaction of pituitary to the hormones injections was stronger than that observed in the hypothalamus.

**Conclusions and summary:** The obtained results showed the effect of mannan on the interaction between ghrelin, neuropeptides and immune system in lambs during the growth and development.

*Supported by the grant from the Ministry of Science and Education no. 0763/P01/2006/30.*

**P5.02. Ekspresja genów neuromedyny S (NMS), neuromedyny U (NMU) i ich receptorów w podwzgórzu i gruczołach dokrewnych szczura***Marcin Ruciński, Agnieszka Ziółkowska, Marcin Trejter, Marianna Tyczewska, Ludwik K. Malendowicz**Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego, Poznań*

**Wstęp:** Ostatnio z mózgu człowieka, szczura i myszy wyizolowano neuromedynę S (NMS), endogenny ligand sierocych receptorów sprzężonych z białkiem G — FM-3/GPR66 i FM-4/TGR-1. Wcześniej receptory te zidentyfikowano jako receptory NMU, odpowiednio NMUR1 i NMUR2. NMS posiada C-końcową sekwencję wspólną z NMU. Ponieważ jego ekspresja jest bardzo intensywna w jądrze nadskrzyżowaniowym, nazwano go neuromedyną S. NMS uważany jest za neuro- i immuno-peptyd uczestniczący między innymi w odpowiedzi immunologicznej, regulacji rytmu okołodobowego i spermatogenezie. Ponadto sugeruje się, iż NMS na poziomie podwzgórza wywiera efekt anorektyczny, działając w tym zakresie przez neurony CRH. Podobnie NMU — peptyd mózgowo-jelitowy — bierze udział w regulacji homeostazy energetycznej organizmu oraz regulacji czynności układu neuroendokrynologicznego.

**Cel i metody:** Celem badań było porównanie za pomocą metody PCR w czasie rzeczywistym, ekspresji genów NMS, NMU oraz ich receptorów NMUR1 i NMUR2 w podwzgórzu i niektórych klasycznych gruczołach dokrewnych szczura (przysadka mózgowa, tarczyca, nadnercze, jądro).

**Wyniki:** Za pomocą metody PCR w czasie rzeczywistym, w podwzgórzu i jądrze szczura wykazano znacznie wyższy poziom ekspresji (ok. 2–3-krotnie) genu NMS w porównaniu z genem NMU. W przeciwieństwie do tego, w przysadce i tarczycy szczura po-

ziom ekspresji genu NMU był około 1000-krotnie wyższy niż genu NMS. Niższą ekspresję obu genów obserwowano w nadnerczach i jajnikach. Ekspresja genu NMUR2 występowała głównie w podwzgórz, podczas gdy w badanych gruczołach dokrewnych obserwowano głównie ekspresję genu NMUR1. Za pomocą metod immunohistochemicznych NMS-reaktywne substancje wykazano w jądrach nadwzrokowym i przykomorowym podwzgórza oraz w komórkach C tarczycy.

**Wnioski i podsumowanie:** W przeprowadzonych badaniach wykazano duże różnice w poziomie ekspresji genów NMS, NMU oraz ich receptorów NMUR1 i NMUR2 w podwzgórz, przysadce mózgowej, tarczycy i jądrze szczyra. Taki wzór ekspresji sugeruje różną rolę NMS i NMU w regulacji osi neuroendokrynowej. Ponieważ obie neuromedyny są obecne w krążeniu, wydaje się, iż drogą endokrynową i/lub parakrynową/autokrynową mogą one brać udział w regulacji czynności systemu neuroendokrynowego.

### Expression of neuromedin S (NMS), neuromedin U (NMU) and their receptor genes in hypothalamus and endocrine glands of the rat

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

Department of Histology and Embryology, Poznań University of Medical Sciences, Poznań

**Introduction:** Neuromedin S (NMS) was recently isolated from the brains of humans, mice and rats as an endogenous ligand for the orphan G protein-coupled receptors FM-3/GPR66 and FM-4/TGR-1, which have been identified as neuromedin U (NMU) receptors 1 and 2, respectively. This 36-amino acid neuropeptide shares a C-terminal sequence with NMU, and because it is highly expressed in hypothalamic suprachiasmatic nuclei, was named neuromedin S (NMS). Available data stress numerous differences between NMS and NMU. NMS is considered to be neuro- and immuno-peptide involved for example in immune response, regulation of circadian rhythm and spermatogenesis. Furthermore, it has been suggested that NMS may be a potent anorexigenic hormone in the hypothalamus, acting among others via CRH neurons. Likewise, NMU — a brain-gut peptide — is involved in regulation of energy homeostasis and neuroendocrine functions.

**Aim and methods:** Studies aimed to compare, by means of Real Time-PCR expression of NMS, NMU and their receptors NMUR1 and NMUR2 genes in hypothalamus and some classical endocrine glands of the rat (pituitary, thyroid, adrenal, ovary and testis).

**Results:** In the rat hypothalamus and testis Real Time-PCR revealed a notably higher (approximately 2–3 folds) expression of NMS than NMU gene. In contrast, in pituitary and thyroid NMU gene expression was nearly 1000 times higher than that of NMS gene. Lower expression of both genes was observed in the adrenals and ovaries. Expression of NMUR2 gene was found mainly in the hypothalamus while in the studied endocrine glands NMUR1 gene was expressed. By immunocytochemistry, NMS was localized to supraoptic and paraventricular neurons of the hypothalamus and C cells of the thyroid gland.

**Conclusions:** Performed studies revealed a great differences in expression level of NMS, NMU and their receptor genes in hypothalamus, testis, pituitary and thyroid gland of the rat. Such expression suggests different roles of NMS and NMU in regulation of neuroendocrine axis function. Since both neuromedins are present in circulation, via endocrine and/or paracrine/autocrine mechanisms they may be involved in regulation of the neuroendocrine system function.

### P5.03. Oporność sekrecji prolaktyny i hormonu wzrostu na letni sygnał melatoniny u laktujących owiec

Edyta Molik<sup>1</sup>, Tomasz Misztal<sup>2</sup>, Katarzyna Romanowicz<sup>2</sup>, Edward Wierchoś<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Hodowli Owiec i Kóz, Akademia Rolnicza, Kraków

<sup>2</sup>Instytut Fizjologii i Żywności Zwierząt im. J. Kielanowskiego PAN, Jabłonna koło Warszawy

U zwierząt gospodarskich, zmiany długości dnia i zarazem profil nocnej sekrecji melatoniny wpływają na ich produktywności. Szczególne znaczenie ma fotoperiod u zwierząt dnia krótkiego (owce, kozy), u których melatonina pełni rolę modulatora sezonowych rytmów hormonalnych. Wykonane doświadczenie miało na celu zbadanie zmian w sekrecji prolaktyny (PRL) i hormonu wzrostu (GH) u owiec wykończonych w okresie dnia długiego (czerwiec) i następnie użytkowanych mlecznie w: 1. naturalnych warunkach świetlnych (Grupa I, n = 20) oraz 2. w sztucznie wydłużonych warunkach dnia długiego (Grupa II, 16 L: 8 D, n = 20). Dój owiec w obydwu grupach wykonywano dwa razy dziennie, od sierpnia do listopada i co 10 dni, przeprowadzono indywidualne kontrole mleczności. Kolekcje krwi przeprowadzano co 30 dni przez 6 godzin, od czasu zachodu Słońca, w odstępach 60-minutowych. Oznaczenia PRL i GH w osoczu wykonano metodą RIA.

Najwyższą wydajność mleczną w Grupie I i II stwierdzono w sierpniu. Wraz z upływem laktacji, od września do listopada, obserwowano istotne obniżanie się mleczności ( $p < 0,05$ – $p < 0,01$ ). W Grupie I, najwyższe stężenie PRL wystąpiło w lipcu i wynosiło  $234,0 \pm 39,0$  ng/ml. W kolejnych miesiącach, sekrecja PRL ulegała obniżeniu, osiągając najniższe stężenie w listopadzie  $16,8 \pm 3,4$  ng/ml ( $p < 0,01$ ). Podobnie kształtował się profil sekrecji GH:  $13,7 \pm 0,9$  oraz  $6,8 \pm 0,4$  ng/ml ( $p < 0,05$ ), odpowiednio w sierpniu i listopadzie. W Grupie II, najwyższe stężenie PRL stwierdzono w lipcu,  $278,8 \pm 55,3$  ng/ml. Pomimo utrzymywania tych owiec w sztucznych warunkach dnia długiego nastąpiło wyraźne obniżenie się sekrecji PRL do  $38,3 \pm 9,3$  ng/ml ( $p < 0,01$ ) w listopadzie. Podobne zmiany stwierdzono w koncentracji GH:  $18,2 \pm 1,3$  oraz  $8,7 \pm 0,6$  ng/ml ( $p < 0,05$ ), odpowiednio w sierpniu i listopadzie.

Użytkowanie mleczne owiec, wykończonych w czerwcu, w sztucznych warunkach dnia długiego nie przeciwdziała sezonowym zmianom sekrecji PRL i GH. Może to świadczyć o utracie wrażliwości neuronów podwzgórza lub komórek przysadki na powtarzający się zbyt długo letni sygnał melatoniny. Szybkie obniżanie się sekrecji PRL i GH u owiec wykończonych w sezonie letnim może być przyczyną wyraźnego załamania się produkcji mlecznej w badanym okresie.

### Refractoriness of prolactin and growth hormone secretion to the summer signal of melatonin in lactating sheep

Edyta Molik<sup>1</sup>, Tomasz Misztal<sup>2</sup>, Katarzyna Romanowicz<sup>2</sup>, Edward Wierchoś<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department Sheep and Goat Breeding, Agricultural University, Cracow

<sup>2</sup>The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition Polish Academy of Sciences, Jabłonna n/Warsaw

It is generally accepted that the level of livestock productivity is affected by day length, thus by the night profile of melatonin

secretion. In the short-day species, melatonin is known as a modulator of the seasonal rhythms of hormone secretion. The aim of this experiment was to examine the changes in prolactin (PRL) and growth hormone (GH) secretion in sheep lambed during the long photoperiod (June) and next used for milking: 1. in the conditions of natural photoperiod (Group I, n = 20) and 2. in artificially prolonged long-day conditions (Group II, 16 L:8 D, n = 20). During the period of milk use, from August to November, ewes were milked twice a day and the milk yields were recorded individually at 10-day intervals. From day 20 of lactation, blood samples were collected every 30 d, from the time of sunset over a period of 6 h, at 60 min. intervals. Concentrations of PRL and GH were measured by the RIA techniques.

The highest milk yields in both Groups occurred in August. A significant ( $p < 0.05$ – $p < 0.01$ ) decrease in the milk yield was noted next, from September to November. In Group I, the PRL level peaked in July,  $234.0 \pm 39.0$  ng/ml, when the sheep entered the trial. As the photoperiod decreased, the PRL concentration became lower, reaching  $16.8 \pm 3.1$  ng/ml in November ( $p < 0.01$ ). Profile of GH secretion was similar:  $13.7 \pm 0.9$  and  $6.8 \pm 0.4$  ng/ml ( $p < 0.05$ ), respectively in August and November. In Group II, the highest PRL level was found in July,  $278.8 \pm 55.3$  ng/ml. Although this group was provided 16 h of light, the PRL concentration decreased to  $38.3 \pm 9.3$  ng/ml ( $p < 0.05$ ) in November. Profile of GH secretion changed from  $18.2 \pm 1.3$  to  $8.7 \pm 0.6$  ng/ml ( $p < 0.05$ ), respectively in August and November.

Milk use of sheep, lambed in June, in the artificial conditions of the long day does not prevent seasonal changes in the PRL and GH secretion. This might be due to the lost of responsiveness (refractoriness) of the hypothalamic neurons and/or pituitary cells to the long-lasting summer signal of melatonin. The sharp decrease in PRL and GH secretion in sheep lambed during the summer season might cause a clear drop in the milk yield during the studied period.

#### P5.04. Udział błonowych receptorów $MT_2$ w onkostatycznym działaniu melatoniny na mysiego raka jelita grubego Colon 38 w warunkach *in vitro*

Katarzyna Winczyk<sup>1</sup>, Hanna Ławnicka<sup>2</sup>,  
Julita Fuss-Chmielewska<sup>1</sup>, Michał Karasek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Neuroendokrynologii, Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

<sup>2</sup>Zakład Immunoendokrynologii, Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

**Wstęp:** Melatonina (MLT), główny hormon szyszynki, na tkanki docelowe działa bezpośrednio poprzez dobrze scharakteryzowane receptory błonowe  $MT_1$  i  $MT_2$  należące do rodziny receptorów sprzężonych z białkami G oraz przez retinoidowe receptory jądrowe RZR/ROR. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że przeciwnowotworowe działanie melatoniny na raka jelita grubego Colon 38, zależy głównie od receptorów jądrowych RZR/ROR. Nie możemy jednakże wykluczyć udziału receptorów błonowych.

**Cel:** Ocena udziału receptorów  $MT_2$  w onkostatycznym działaniu MLT na raka Colon 38 w warunkach *in vitro*.

**Materiały i metody:** Do badań użyto linię komórkową mysiego raka jelita grubego Colon 38. Proliferację komórek nowotworowych oceniono zmodyfikowaną metodą kolorymetryczną Mosmanna stosując test EZ4Y. W 48-godzinnej hodowli komórkowej zbadano działanie melatoniny, 4P-PDOT (selektywnego antagonisty receptora  $MT_2$ ) i luzindolu (antagonisty receptora  $MT_1$  i  $MT_2$ ) podawanych oddzielnie oraz MLT stosowanej łącznie z 4P-PDOT lub luzindolem.

**Wyniki:** Melatonina w obu badanych stężeniach ( $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ M) statystycznie obniżyła proliferację komórkową. Efekt hamujący 4P-PDOT i luzindolu był zdecydowanie słabszy. Łączne stosowanie MLT i 4P-PDOT nie zmieniło antyproliferacyjnego działania hormonu, natomiast luzindol podawany z MLT osłabił jej onkostatyczne właściwości.

**Wnioski:** Otrzymane wyniki łącznie z wcześniejszymi naszymi badaniami sugerują, że onkostatyczne działanie MLT zależy głównie od jądrowych receptorów RZR/ROR i prawdopodobnie od błonowych receptorów  $MT_1$ , bowiem selektywny antagonist receptorów  $MT_2$  nie zmienia właściwości antyproliferacyjnych MLT.

#### Involvement of $MT_2$ membrane receptors in oncostatic action of melatonin on murine colonic cancer Colon 38 *in vitro*

Katarzyna Winczyk<sup>1</sup>, Hanna Ławnicka<sup>2</sup>,  
Julita Fuss-Chmielewska<sup>1</sup>, Michał Karasek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neuroendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

<sup>2</sup>Department of Immunoendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University, Lodz

**Introduction:** Melatonin (MLT), the main hormone of the pineal gland acts on target tissues directly through well-characterized membrane  $MT_1$  and  $MT_2$  receptors belong to G-protein coupled receptors and also via retinoid nuclear receptors called RZR/ROR. Our earlier study have shown that antitumor effect of MLT on colonic cancer Colon 38 depends mainly on nuclear RZR/ROR receptors. However, we cannot exclude the participation of membrane receptors.

**Objective:** The assessment of  $MT_2$  receptors participation in oncostatic activity of MLT on Colon 38 cancer *in vitro* conditions.

**Materials and methods:** Cell line of murine colonic cancer — Colon 38 was used in our experiments. Proliferation of cancer cells was assessed using the modified colorimetric Mosmann method with test EZ4Y. In 48 hrs cell culture effects of MLT, 4P-PDOT (selective antagonist of  $MT_2$  receptors) and luzindole (antagonist of  $MT_2$  and  $MT_1$  receptors) given alone and MLT applied together with 4P-PDOT or luzindole were examined.

**Results:** Melatonin at both examined concentrations ( $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$ M) statistically significantly decreased the cell proliferation. Luzindole and 4P-PDOT exerted weaker inhibitory effects than MLT. Joint culture with MLT and 4P-PDOT did not change antiproliferative activity of hormone, whereas luzindole given together with MLT diminished its oncostatic properties.

**Conclusions:** The obtained data together with our previous study suggest that oncostatic effect of MLT depends mainly on nuclear receptors RZR/ROR and probably also  $MT_1$  membrane receptors, because selective antagonist of  $MT_2$  receptors does not change antiproliferative activity of MLT.

#### P5.05. Wpływ kurkuminy na obraz morfologiczny tarczycy u starych szczurów: badania morfometryczne

Monika Papież, Agata Gębarowska

Zakład Cytobiologii i Histochemii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum UJ, Kraków

**Wstęp:** Starzeniu się organizmu może towarzyszyć niedoczynność tarczycy. U starych szczurów z wiekiem spada poziom  $T_4$  i  $T_3$  w surowicy. W tarczycy pojawiają się histopatologiczne zmiany

świadczące o jej atrofi. W badaniach własnych wykazano, że polifenol kurkumina może zwiększać objawy niedoczynności tarczycy u szczurów otrzymujących jednocześnie propyltiouracyl.

**Cel pracy:** Histomorfometryczna analiza tarczycy starych szczurów po podaniu kurkuminy.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 18-miesięcznych samcach szczurów rasy Wistar. Szczury podzielono na dwie grupy: kontrolną (K) i doświadczalną (D). Szczurom podawano doustnie, codziennie przez 30 dni: grupa K (10 osobników) — 0,5 ml oleju kukurydzianego, grupa D (10 osobników) — kurkuminę w dawce 100 mg/kg m.c. w 0,5 ml oleju kukurydzianego. Tarczycę poddano analizie histomorfometrycznej polegającej na pomiarach wysokości nabłonka wydzielniczego, udziału procentowego pęcherzyków małych, średnich i dużych oraz frakcji objętościowej koloidu. W surowicy metodą RIA oznaczono poziom  $FT_4$  i  $FT_3$ . Pomiar histomorfometryczny wykonano za pomocą komputerowego systemu analizy obrazów mikroskopowych z programem Multi-Scan v.11.06. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono za pomocą testu ANOVA.

**Wyniki:** W tarczycach szczurów kontrolnych występowały zmiany spowodowane starzeniem się: dominowały duże pęcherzyki nad małymi; u niektórych szczurów obserwowano atroficzne pęcherzyki a ich tarczycę naciekały limfocyty. W grupie D wzrosła znacznie liczba pęcherzyków małych oraz wysokość nabłonka wydzielniczego w porównaniu z grupą K. Objętość koloidu była znacznie większa u szczurów D w porównaniu z grupą K. Poziom  $FT_3$  w surowicy wrósł znacznie u szczurów D w porównaniu z K. Nie było różnic w zawartości  $FT_4$  między grupą D i K.

**Wnioski i podsumowanie:** Zmiany morfologiczne w tarczycy szczurów doświadczalnych wskazują, iż kurkumina zmniejsza skutki towarzyszące procesom starzenia się w tarczycy.

### The influence of curcumin on the morphology of the thyroid in old rats: morphometrical investigations

Monika Papież, Agata Gębarowska

Department of Cytobiology and Histochemistry, Pharmaceutical Faculty, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Cracow, Poland

**Introduction:** The aging of an organism may be connected with hypothyreosis. In rats, the plasma levels of  $T_4$  and  $T_3$  decrease with age. In the thyroid there occur histopathological changes which are indicative of its atrophy. Our own investigation has shown that the polyphenol curcumin can enhance the manifestations of hypothyreosis in rats simultaneously treated with propyltiouracil.

**Aim of the study:** A histomorphometric analysis of an old rat thyroid after curcumin administration.

**Material and methods:** The study was conducted on 18-month-old male Wistar rats. The rats were divided into two groups: control (K) and experimental (D). They were treated daily for 30 days by gavage with: group K (6 rats) — 0.5 ml of corn oil; group D (6 rats) — curcumin, 100 mg/kg b.w. Their thyroids were histomorphometrically analyzed with respect to follicular epithelium height; besides, the percentage of small-, medium- and large-size follicles and the colloid volume density were assessed. Plasma  $FT_4$  and  $FT_3$  were measured using RIA. A morphometric assay was carried out using a computer-assisted image analyzer with a MultiScan v.11.06 program. The results were statistically analyzed by the ANOVA test.

**Results:** Changes connected with aging were observed in the thyroid of control rats: there were more large follicles than small; in some rats there were atrophic follicles and their thyroid was infiltrated with leukocytes. In group D, there was a significant increase in the number of small follicles and in the height of the follicular

epithelium in comparison with group K. The volume density of the colloid was significantly larger in the D rats compared to the K ones. The plasma level of  $FT_3$  was significantly decreased in the D rats compared to the K ones. There were no differences in plasma  $FT_4$  level between groups D and K.

**Conclusions:** The morphological changes observed in experimental rat thyroid indicate that curcumin decreases age-related effects in the thyroid.

### P5.06. Wpływ leptyny na uwalnianie podstawowe LH z komórek przysadki młodocianych oraz dojrzałych szczurzy

Ewa Wolińska-Witort, Lidia Martyńska, Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik, Elżbieta Wasilewska-Dziubińska, Bogusława Baranowska  
Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej CMKP, Warszawa

**Wstęp:** Leptyna może pełnić ważną rolę w fizjologicznej regulacji dojrzewania płciowego i płodności. Hormon ten działa przez specyficzne receptory, których obecność wykazano również w komórkach przysadki.

**Celem** badań było stwierdzenie, czy bezpośrednie działanie leptyny na podstawową sekrecję LH zależy od aktywności komórek przysadki związanej ze stanem fizjologicznym oraz poziomem estrogenów szczurzy, od których pobierano komórki.

**Materiał i metody:** Komórki do hodowli pozyskiwano od owariotomizowanych (OVX) lub OVX, a następnie traktowanych estradiolem (OVX/ $E_2$ ) młodocianych oraz dorosłych szczurzy. Hodowle komórek inkubowano przez 20 godzin w medium zawierającym: 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM leptyny lub bez leptyny (kontrola).

**Wyniki:** W grupie szczurzy niedojrzałych, stwierdzono znaczący wzrost sekrecji LH z komórek przysadki hodowanych w obecności 0,1 nM i 1 nM leptyny zarówno w grupie OVX (148%,  $p < 0,001$  i 128%,  $p < 0,01$ ), jak również w grupie OVX/ $E_2$  (125%,  $p < 0,05$  w obu dawkach) w porównaniu z kontrolą. Nie stwierdzono zmian stężenia LH w porównaniu z kontrolą w hodowli komórek inkubowanych z wysokimi dawkami leptyny (10 nM lub 100 nM). Natomiast, w hodowli komórek przysadki dorosłych szczurzy wzrost uwalniania LH, w porównaniu z kontrolą wykazano jedynie w obecności leptyny w stężeniu 10 nM, odpowiednio: 168% ( $p < 0,001$ ) dla OVX i 127% ( $p < 0,01$ ) dla OVX/ $E_2$ . Nie stwierdzono wpływu pozostałych badanych stężeń leptyny na sekrecję LH.

**Wnioski:** Uzyskane wyniki sugerują, że wrażliwość komórek gonadotropowych na leptynę zależy od ich aktywności związanej z wiekiem i stanem dojrzałości płciowej i może być modyfikowana przez estrogeny.

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

### The effect of leptin on the basal LH release from the pituitary cells of juvenile and adult female rats

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

Department of Neuroendocrinology, Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw

**Introduction:** It has been reported in many studies that leptin plays an important role in the physiological regulation of puberty and

fertility. This hormone acts via specific receptors, which are also found in the pituitary cells.

**The aim** of our study was to determine whether direct effect of leptin on the basal LH secretion from the pituitary cells depends on physiological stage or estrogens level of female rats, from which the cells were taken.

**Material and methods:** The pituitary cells were obtained from ovariectomized (OVX) or OVX/estradiol treated (OVX/E<sub>2</sub>) juvenile or adult female rats. The cell cultures were incubated for 20 h with leptin in doses of 0.1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM or without leptin (control group).

**Results:** We found in the juvenile groups a significant increase LH secretion from the pituitary cell cultures in the presence of 0.1 nM and 1 nM of leptin in OVX (141%,  $p < 0.001$  and 128%,  $p < 0.01$ ) and in OVX/E<sub>2</sub> groups (125%,  $p < 0.05$  for both doses of leptin) compared to the control. However, no effect of higher doses (10 nM or 100 nM) of leptin on LH secretion was observed. Data obtained from the adult groups showed that only incubation with 10 nM of leptin resulted in significant elevation of LH release compared to the control group (168% for OVX,  $p < 0.001$  and 127%,  $p < 0.01$  for OVX/E<sub>2</sub>). All other tested doses did not change LH release from the pituitary cells.

**Conclusion:** The obtained results suggest that sensitivity of gonadotrophic cells to leptin depends on their activity in different age and puberty stage and can be modified by estrogen status.

*This study was supported by CMKP grant 501-1-128-33/05.*

### P5.07. Oś GHRH-GH u myszy z mutacją *mosaic*: ekspresja hormonów oraz ultrastruktura neuronów w wyniosłości pośrodkowej i komórek w przednim płacie przysadki

Alina Gajewska<sup>1</sup>, Barbara Gajkowska<sup>2</sup>, Urszula Wojewódzka<sup>2</sup>, Józefa Styrna<sup>3</sup>, Kazimierz Kochman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Jabłonna n. Warsaw, Poland

<sup>2</sup>Department of Cell Ultrastructure, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

<sup>3</sup>Department of Genetics and Evolution, Institute of Zoology, Jagiellonian University, Cracow, Poland

**Wstęp:** Homeostaza jonów miedzi w komórce zależy od funkcjonowania białek odpowiedzialnych za transport miedzi przez błonę komórkową: Cu-ATP-az oraz transportera CTR1. O znaczeniu prawidłowego metabolizmu miedzi w komórce świadczą dwie, zidentyfikowane u ludzi, recesywne choroby genetyczne: Menkesa i Wilsona. Zwierzęcym modelem choroby Menkesa są myszy ze zlokalizowaną na chromosomie X mutacją typu *mottle* (Atp7d<sup>mo</sup>), do którego należy mutacja *mosaic* zidentyfikowaną na chromosomie X. Mutacja *mosaic* (Atp7d<sup>mo-ms</sup>) jest spowodowana zmianą w genie Atp7 kodującym białko CPx, zaangażowane w transport miedzi poprzez błonę komórkową.

U samców z mutacją *mosaic* nieprawidłowy metabolizm miedzi w komórce prowadzi do defektów w pigmentacji i strukturze okrywki włosowej, krótkiego okresu życia (myszy te dożywają zaledwie do 16. dnia rozwoju postnatalnego), obniżonego stężenia miedzi w mózgu, wątrobie i sercu i jednocześnie zwiększonej jej akumulacji w komórkach jelita i nerkach. Samce myszy z mutacją *mosaic*, począwszy od 8. dnia życia, charakteryzują się zaburzeniami wzrostu i rozwoju sugerującymi znaczące upośledzenie osi somatotropowej. **Cel badań:** Porównanie ekspresji hormonu uwalniającego hormon wzrostu (GHRH) w wyniosłości pośrodkowej oraz hormonu wzro-

stu (GH) w komórkach przedniego płata przysadki u myszy normalnych oraz z mutacją *mosaic*.

**Materiał i metody:** 14-dniowe samce myszy bez i z mutacją *mosaic*. Identyfikacji neuronów GHRH oraz komórek GH w przysadce dokonano metodą immunocytochemiczną przy wykorzystaniu mikroskopii elektronowej.

**Wyniki:** U myszy z mutacją *mosaic* obserwowano zmniejszoną ekspresję GHRH w neuronach oraz zmienioną ultrastrukturę tych neuronów w obrębie szorstkiego retikulum endoplazmatycznego, mitochondriów i błony jądrowej. Nie stwierdzono różnic w ekspresji GH w komórkach przysadki, jednakże u myszy zmutowanych zidentyfikowano fagocytozę komórek GH przez aktywowane komórki pęcherzykowo-gwiaździste.

**Wnioski:** Miedź jest mikroelementem kluczowym w prawidłowym rozwoju neuroendokrynych struktur mózgu, gdyż jej niedobór spowodowany mutacją *mosaic* prowadzi do patologicznych zmian strukturalnych w obrębie wyniosłości pośrodkowej i przedniego płata przysadki. Zmiany te wpływają na aktywność układu GHRH-GH i w konsekwencji przyczyniają się do upośledzenia wzrostu obserwowanego u myszy z tą mutacją.

### Growth hormone releasing hormone in the median eminence and growth hormone in adenohypophysial cells of *mosaic* mutant mice: an electron microscopic study

Alina Gajewska<sup>1</sup>, Barbara Gajkowska<sup>2</sup>, Urszula Wojewódzka<sup>2</sup>, Józefa Styrna<sup>3</sup>, Kazimierz Kochman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Jabłonna Warsaw

<sup>2</sup>Department of Cell Ultrastructure, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw

<sup>3</sup>Department of Genetics and Evolution, Institute of Zoology, Jagiellonian University, Cracow

**Introduction:** Copper homeostasis within the cell is maintained by two transport systems: Cu-ATPases that enable cellular egress of this metal and via Cu transporter CTR1 responsible for copper uptake. Recessive genetic disorders associated with altered copper metabolism: Menkes syndrome and Wilson disease highlights the importance of intact Cu transport mechanisms. Mice X-linked mottled mutants (Atp7a<sup>mo</sup>) serve as animal models for Menkes disease. Also the mosaic mutation linked to X-chromosome (Atp7a<sup>mo-ms</sup>) found in the mice colony of the Jagiellonian University belongs to the group of mottled mutations. In mosaic mutant males, defective Cu metabolism leads to the defects in pigmentation and hair structure, short life-span (they die at about the 16<sup>th</sup> postnatal day), decreased copper level in brain, liver and heart with an increased accumulation in the small intestine and kidneys. Starting from the 8<sup>th</sup> day of life, the mosaic males exhibit a progressive decrease in body weight with poor viability and progressive paresis of the hind limbs.

**Purpose of the study:** Comparison of median eminence GHRH and pituitary GH expression in normal and mosaic male mice.

**Material and methods:** An electron microscopic immunocytochemical study on 14 days old mosaic mutant and normal male mice, according to the post-embedding immunogold procedure.

**Results:** Mosaic mutation led to the deep changes in the morphology of GHRH neurons: RER channels, mitochondria, neuropil synapses and dendritic processes were swollen. Moreover, an abnormal configuration of nuclear envelope and a significant decrease in GHRH labeling was observed. Also pituitary GH cells exhibited certain abnormalities. The striking findings were the presence of

folliculo-stellate cells with a large clusters containing fragments of GH labeled cells as well as an intracellular large electron-lucent spaces with remnant cellular material in parenchyma of adenohypophysis of mutant mice. These data suggest that in mosaic mice pituitary GH cells undergo a phagocytosis process.

**Conclusions:** The structural and functional abnormalities observed in GHRH neurons and GH cells might have influence on GHRH-GH axis activity and in consequence contribute to the impaired body growth observed in mosaic mice.

### P5.08. Zróżnicowana odpowiedź endokrynowa na doośrodkowe podanie genisteiny u owiec

*Tomasz Misztal, Konrad Górski, Katarzyna Romanowicz*  
Instytut Fizjologii i Żywności Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN, Jabłonna koło Warszawy

Fitoestrogeny, niesteroidowe związki produkowane przez rośliny są strukturalnie podobne do zwierzęcych estrogenów i cechują się podobnym mechanizmem działania poprzez wiązanie się z receptorem estrogenowym. Wykonane doświadczenie miało na celu zbadanie ośrodkowego wpływu fitoestrogenu genisteiny na sekrecję trzech podstawowych hormonów, odpowiedzialnych za: przekazywanie informacji o długości dnia (melatoniny), wzrost (hormon wzrostu — GH) i rozród (hormon luteinizujący — LH).

U 5 jednorocznych tryczków rasy czarnogłówka wykonano w grudniu po 2 infuzje do trzeciej komory mózgowej: kontrolną — płynu Ringera-Locke'a (Grupa RL) i genisteiny (Grupa G), 10 mg/100 ml/h (razem 40 mg), w odstępach 2-tygodniowych. Infuzje wykonywano seriami: 4 razy po 1 godzinie, w odstępach 30-minutowych, od godziny 16.30 do godziny 22.00. Próbkę krwi pobierano przez 8 godzin, od 14.00 do 22.00, w odstępach 10-minutowych, przez kateter wprowadzony do żyły szyjnej. Stężenia melatoniny, GH i LH w osoczu oznaczono metodą RIA i zaszeregowano do 3 okresów czasowych: przed infuzją (14.00–16.30 — godziny popołudniowe), pierwsza (16.45–19.15 — godziny wieczorne) i druga (19.30–22.00 — godziny nocne) połowa okresu infuzji.

W Grupie RL, średnie stężenie melatoniny w osoczu zwiększało się stopniowo od godzin popołudniowych, poprzez wieczorne ( $p < 0,001$ ), aż do godzin nocnych ( $p < 0,001$ ). Stężenia GH i LH były istotnie ( $p < 0,05$ – $p < 0,001$ ) wyższe w godzinach nocnych niż w popołudniowych i wieczornych. W Grupie G, poziom sekrecji melatoniny w godzinach nocnych był istotnie ( $p < 0,01$ ) niższy od określonego, w tym samym okresie, w Grupie RL. Nocny wzrost sekrecji GH był większy w Grupie G, jednak, nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniach GH w badanych okresach pomiędzy grupami. Stężenie LH w Grupie G utrzymywało się na podobnym poziomie przez wszystkie okresy doświadczenia i w godzinach nocnych było istotnie ( $p < 0,05$ ) niższe od obserwowanego w tym samym czasie w Grupie RL.

Badania te wskazują, że fitoestrogen genisteina może wywierać modulujące działanie, na poziomie ośrodkowego układu nerwowego, na sekrecje melatoniny, GH i LH u samców owcy.

### Varied endocrine response to the central administration of genistein in the ram

*Tomasz Misztal, Konrad Górski, Katarzyna Romanowicz*  
The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition Polish Academy of Sciences, Jabłonna n/Warsawo

Phytoestrogens, the nonsteroidal compounds produced by many plants are similar to animal estrogens and share a similar mecha-

nism of action through their affinity for and binding to estrogenic receptors. The aim of the study was to examine the central influence of a phytoestrogen, genistein, on the secretion of three principal hormones responsible for photoperiodic transduction (melatonin), growth (growth hormone, GH) and reproduction (luteinizing hormone, LH) in male sheep.

Five one-year old rams of the Blackface breed of sheep were infused intracerebro-ventricularly twice: once with vehicle and once with genistein, 10 mg/100 ml/h (total 40 mg), at 2-week intervals in early December. The treatments were made in a series of four 1-h infusions at 30-min intervals, from 16.30 to 22.00 h. Plasma samples were collected for 8 h, from 14.00 to 22.00 at 10 min intervals, through a catheter inserted into the jugular vein. The plasma concentrations of melatonin, GH and LH were assayed by RIA and assembled to 3 periods: before the infusion (14.00–16.30 — afternoon hours), the first (16.45–19.15 — evening hours) and the second (19.30–22.00 — night hours) half of the treatment.

In vehicle-infused rams, the mean plasma melatonin concentration increased gradually from the afternoon to the evening hours ( $p < 0.001$ ) and next to the night hours ( $p < 0.001$ ). Plasma GH and LH concentrations were significantly higher ( $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ ) during the night hours than the concentrations noted during the afternoon and evening hours. In genistein-treated rams, the night increase in melatonin was reduced and significantly ( $p < 0.01$ ) lower than that noted during the respective period in vehicle-treated rams. The night increase in GH secretion was more potent, however, no significant differences in GH concentrations were noted during the studied periods between groups. The LH secretion was sustained on a similar level during all periods of the experiment and the concentration noted during the night hours was significantly ( $p < 0.05$ ) lower than that noted during the respective period in vehicle-treated rams.

Genistein, a phytoestrogen, may exert a potent modulatory effect at the level of the central nervous system on the secretion of melatonin, GH and LH in male sheep.

### P5.09. Wpływ oreksyny A na wydzielanie prolaktyny z komórek przysadki niedojrzałych samic szczura w warunkach hodowli pierwotnej

*Lidia Martyńska, Ewa Wolińska-Witort, Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik, Bogusława Baranowska*  
Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej Centrum Medycznej Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

**Wstęp:** Oreksyna A, peptyd syntetyzowany głównie w bocznym obszarze podwzgórza, wykazuje szerokie działanie zarówno w centralnym układzie nerwowym, jak i w tkankach obwodowych. Peptyd ten reguluje łaknienie, aktywność lokomotoryczną, metabolizm, a także uczestniczy w regulacji uwalniania hormonów z przysadki. Oreksyna A działa poprzez specyficzne receptory typu 1 i 2, których obecność wykazano ostatnio w komórkach przysadki.

**Cel:** Celem pracy było zbadanie bezpośredniego wpływu oreksyny A na wydzielanie prolaktyny z przysadki niedojrzałych samic szczura. **Materiał i metody:** Do badań *in vitro* pobrano przysadki od niedojrzałych, 30-dniowych szczurzy. Hodowla pierwotna komórek przysadki ( $5 \times 10^5$  komórek/dolek) została poddana inkubacji z oreksyną A w stężeniach: 0,1 nM, 1 nM, 10 nM i 100 nM lub bez oreksyny A (kontrola) przez 1 i 4 godziny. W zebranych po odpowiednim czasie mediach hodowlanych oznaczono stężenie prolaktyny metodą RIA.

**Wyniki:** Stwierdzono istotny statystycznie wzrost wydzielania prolaktyny zależny od dawki oreksyny A i czasu inkubacji. Po 1 godzinie najsilniejszy efekt wywołała oreksyna A w stężeniu 10 nM podnosząc stężenie prolaktyny o 110% ( $p < 0,002$ ) w porównaniu z grupą kontrolną. Po 4 godzinach nadal obserwowano zwiększone wydzielanie prolaktyny. Oreksyna A w stężeniu 10 nM zwiększyła sekrecję prolaktyny o 76% ( $p < 0,005$ ) w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast najniższe stężenie oreksyny A (0,1 nM) nie wykazywało już stymulacyjnego działania.

**Wnioski i podsumowanie:** Uzyskane wyniki sugerują, że oreksyna A może stymulować uwalnianie prolaktyny, działając bezpośrednio na komórki przysadki.

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

### The influence of orexin A on secretion of prolactin from immature female rat pituitary cells in a primary culture

*Lidia Martyńska, Ewa Wolińska-Witort, Magdalena Chmielowska, Wojciech Bik, Bogusława Baranowska*

*Department of Neuroendocrinology, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw, Poland*

**Introduction:** Orexin A is a peptide synthesized mainly in the lateral hypothalamus. It shows wide effect in the central nervous systems as well as in the peripheral tissues. Orexin A is involved not only in the regulation of food intake, locomotor activity, energy expenditure but also can influence the pituitary hormones secretion. Recently, the specific orexin-1 and orexin-2 receptors have been found on the anterior pituitary cells.

**Aim:** The aim of this study was to determine whether orexin A in female immature rats may be involved in the regulation of prolactin secretion directly on the pituitary level.

**Material and methods:** Pituitary to the in vitro study has been taken from 30 day old immature female rats. The primary pituitary cells culture ( $5 \times 10^5$  cells/well) was incubated with different doses of orexin A (0.1 nM, 1 nM, 10 nM and 100 nM) or without orexin A (control) for 1 h and 4 h. Prolactin concentrations in medium were assayed by RIA.

**Results:** A significant elevation in prolactin release was observed dependence on orexin A dose and incubation time. After 1 h incubation all doses of orexin A significantly increased prolactin secretion with maximum effect of 10 nM orexin A dose. The rise compared to the level in the control group reached 110% ( $p < 0.002$ ). After 4 h of incubation with 10 nM of orexin A the prolactin medium concentration was still enhanced by 76% compared to the level in the control group ( $p < 0.005$ ). Only the lowest concentration of orexin A (0.1 nM) had no stimulative effect any more.

**Conclusions:** The obtained data suggest that orexin A may stimulate the prolactin release directly on the pituitary cells level.

*This study was supported by CMKP grant 501-2-1-27-19/06.*

### P5.10. Wpływ estradiolu i tamoksyfenu oraz ich współdziałania z 5-fluorouracylem na wzrost mysiego raka jelita grubego COLON 38 in vitro

*Ewelina Motylewska, Hanna Ławnicka, Gabriela Meleń-Mucha*

*Zakład Immunoendokrynologii Katedra Endokrynologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź*

**Wstęp:** Niezadowalająca skuteczność 5-fluorouracylu (5-FU) w leczeniu uzupełniającym raka jelita grubego jest przyczyną poszukiwań nowych metod terapeutycznych, w tym substancji nasilających działanie tego cytostatyku. Od wielu lat postulowany jest udział estrogenów w rozwoju raka jelita grubego.

**Cel:** Celem naszej pracy była ocena wpływu estradiolu, tamoksyfenu (selektywnego modulatora receptorów estrogenowych — SERM) i 5-FU zastosowanych osobno lub łącznie w różnych stężeniach na wzrost mysiego raka jelita grubego Colon 38 w 24-godzinnej i 72-godzinnej hodowli komórkowej.

**Materiał i metody:** Przeprowadzono łącznie 9 eksperymentów. Działanie tamoksyfenu i estradiolu badano w stężeniach od  $10^{-4}$  do  $10^{-12}$  M, zaś 5-FU w stężeniach od 1 do 1024  $\mu$ M. Celem wyeliminowania wpływu estrogenów i substancji estrogenopodobnych zawartych w medium hodowlanym do badań używano medium *phenol-red free* oraz surowicy oczyszczonej z hormonów. Wzrost komórek oznaczano za pomocą metody kolorymetrycznej Mosmanna.

**Wyniki:** 5-FU hamował wzrost raka Colon 38 we wszystkich badanych stężeniach, wykazując najsilniejszy wpływ w najwyższym stężeniu. 5-FU w stężeniu 1  $\mu$ M, hamującym wzrost badanej linii o około 33%, został użyty do badań interakcji z innymi substancjami. Tamoksyfen silnie hamował wzrost raka Colon 38 w stężeniu  $10^{-4}$  i  $10^{-5}$  M, nie wykazując tego działania w pozostałych badanych stężeniach. Ponadto tamoksyfen w stężeniach  $10^{-4}$  i  $10^{-5}$  M nasilał hamujący wpływ 5-FU. Podobnie estradiol w stężeniu  $10^{-4}$  i  $10^{-5}$  M hamował wzrost raka Colon 38, nie modulując działania 5-FU.

**Wnioski:** Wykazane w tej pracy cytostatyczne działanie tamoksyfenu i estradiolu oraz ich korzystne współdziałanie z 5-FU wskazuje na możliwość wykorzystania tych związków w terapii raka jelita grubego, co wymaga jednak dalszych badań.

*Praca finansowana z funduszy prac własnych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi Nr 502-11-295.*

### The influence of estradiol and tamoxifen applied alone and in combination with 5-fluorouracil on the growth of murine COLON 38 cancer cells in vitro

*Ewelina Motylewska, Hanna Ławnicka, Gabriela Meleń-Mucha*

*Department of Immunoendocrinology, Chair of Endocrinology, Medical University of Łódź*

**Introduction:** The efficacy of colon cancer treatment with 5-fluorouracil (5-FU) remains unsatisfactory. Therefore, there are still carried on researches for new substances enhancing the antineoplastic effect of 5-FU. The potential role of estrogens in the pathogenesis of colon cancer has been discussed for many years.

**Aim:** The aim of this study was to examine the effect of estradiol, tamoxifen (selective estrogen receptor modulator — SERM) and 5-FU applied alone or in combination at various concentrations on the growth of murine Colon 38 cancer cells in 24 and 72 hours cell culture.



**Material and methods:** Nine separate experiments were done. The effect of tamoxifen and estradiol was studied at the concentrations from  $10^{-4}$  to  $10^{-12}$  M, and 5-FU at the concentrations from 1 to  $1024 \mu\text{M}$ . Hormon free serum and phenol red free medium were used in studies to eliminate the influence of estrogens and estrogen-like substances contained in medium. The growth of Colon 38 cancer cells was assessed by the colorimetric Mosmann method.

**Results:** We found that 5-FU inhibited the growth of Colon 38 cancer cells at all examined concentrations, exerting the most potent effect at the highest concentration. 5-FU at the concentration of  $1 \mu\text{M}$ , inhibiting cell growth about 33%, was used to study the interaction with other

substances. Tamoxifen inhibited the growth of Colon 38 cancer cells at the concentration of  $10^{-4}$  and  $10^{-5}$  M but it did not exert such effect in the other studied concentrations. Moreover, tamoxifen at the concentration of  $10^{-4}$  and  $10^{-5}$  M enhanced the cytostatic effect of 5-FU. Similarly, estradiol inhibited growth of this cell line at the concentration of  $10^{-4}$  and  $10^{-5}$  M and did not modulate the action of 5-FU.

**Conclusions:** The cytostatic effect of tamoxifen and estradiol applied alone or in combination with 5-FU suggests a possibility of using them in treatment of colon cancer. However, further studies are necessary.

*This work was supported by the funds of Medical University of Łódź No. 502-11-295.*