

co potwierdziła dalsza obserwacja kliniczna. Wszystkie guzy przerzutowe były pierwszą manifestacją choroby nowotworowej. U obydwu pacjentów z rakiem nadnercza stwierdzono podkliniczny zespół Cushinga oraz podwyższony poziom DHEA-S. W przypadku obustronnego przerzutu gruczolakoraka płuca rozwinęła się niedoczynność nadnerczy. Wśród pozostałych 34 pacjentów z nowotworami łagodnymi hipersekreję hormonalną wykazywały 2 pheochromocytoma i 1 gruczolak (podkliniczny zespół Cushinga). Średnica guzów złośliwych wynosiła od 28 do 200 mm (mediana: 54 mm). Guzy nieoperowane i niebioptowane miały średnicę od 11 do 70 mm (mediana 29 mm) i w dalszej obserwacji nie wykazują wzrostu i zaburzeń hormonalnych.

Wnioski: Nowotwór złośliwy rozpoznano u 7 (17%) pacjentów, w tym u 3 (43%) były zaburzenia hormonalne. Tylko 3 (9%) z pozostałych 34 (83%) guzów wykazywały nadczynność hormonalną. Potwierdzono wysokie ryzyko złośliwości w guzach o średnicy większej niż 40-50 mm.

MALIGNANCY OF ADRENAL INCIDENTALOMA IN OWN MATERIAL

Grzegorz Świder, Marek Grzywa

Department of Internal Diseases, Nephrology and Endocrinology with Nuclear Medicine Unit, District Hospital No 2, Rzeszów

Aim: Evaluation of malignancy among incidentally detected adrenal tumors.

Material and methods: 41 patients (28 F, 13 M) hospitalized between November 1999 and February 2005 were retrospectively analyzed. The mean age was 56 years (range: 20-79). The routine biochemical, hormonal and visual exams were performed in all patients.

Results: 11 patients underwent surgery. 2 adrenal cancers, 1 renal-cell cancer and 1 bilateral lung adenocarcinoma metastases were recognized. Benign tumors were diagnosed in others 7 operated patients. These were: 2 pheochromocytoma, 2 myelolipoma, 1 angiomyolipoma, 1 adenoma, 1 hyperplastic tumor. In 3 not operated cases the diagnosis was established on base of fine-needle biopsy. Bilateral renal cancer metastases were in 1 and bronchial cancer (carcinoma planoepitheliale) metastases were in 2 patients. It was confirmed by follow-up. All metastatic lesions were identified as first manifestations of cancer. Pre-clinical Cushing syndrome and DHEA-S elevated level were detected in both cases of adrenal cancers. Adrenal insufficiency revealed in patient with bilateral lung cancer metastases. Only 3 of benign adrenal tumors shown hormonal hypersecretion. These were 2 pheochromocytoma and 1 adenoma (pre-clinical Cushing syndrome). Median diameter of malignant tumors was 54 mm (range: 28-200). Tumors which did not underwent invasive procedures were smaller. Their median diameter was 29 mm (range: 11-70). They didn't reveal structural and functional progression in follow-up.

Conclusions: Malignant lesions were recognized in 7 (17%) patients and 3 (43%) of them presented hormonal disturbances. 3 (9%) of the others 34 (83%) tumors showed hyperfunctioning status. High risk of malignancy was confirmed for tumors larger than 40-50 mm.

s-05 Endokrynologia molekularna 2

Przewodniczący sesji:

Ludwik Malendowicz, Gabriela Męteń-Mucha

Wykład programowy

PRO5

ANALIZA UWARUNKOWAŃ GENETYCZNYCH I PRZEBIEGU CHOROBY W DUŻEJ RODZINIE Z ZESPOŁEM MEN 2A

Maria Gryczyńska¹, Katarzyna Ziemińska¹, Marta Kaczmarek², Robert Kalak³, Rafał Czepczyński¹, Marek Niedziela⁴, Leszek Pietz¹, Michał Drews⁵, Marlena Pisarek¹, Przemysław Majewski⁶, Ryszard Słomski^{2,3}, Jerzy Sowiński¹

¹ Katedra i Klinika Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych, AM Poznań

² Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk, Poznań

³ Katedra Biochemii i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, Poznań

⁴ Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieku Rozwojowego, AM, Poznań

⁵ Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Gastroenterologicznej i Endokrynologicznej, AM, Poznań

⁶ Katedra Patomorfologii, AM, Poznań

Cel pracy: Ocena podłoża genetycznego oraz czasu wystąpienia i progresji objawów chorobowych u członków rodziny obciążonej zespołem MEN2A.

Materiał i metody: Przebadano 65 osób należących do rodziny obciążonej zespołem MEN2A w wieku od 4 do 72 lat. U badanych pobrano krew na badania genetyczne, podstawowy poziom kalcytoniny oraz wykonano badanie USG tarczycy i BCC zmian ogniskowych tarczycy. Badania genetyczne eksonów 10, 11 i 13 protoonkogenu RET wykonano analizując DNA komórek krwi obwodowej przy wykorzystaniu metod PCR i SSCP, a następnie sekwencjonowania automatycznego (aparatury ALFexpress, Amersham-Pharmacia). U chorych ze stwierdzonym zespołem MEN2A lub wykazaną predyspozycją genetyczną oceniano wydzielanie kalcytoniny w teście z pentagastryną, czynność i morfologię nadnerczy (wydalanie kwasu wanilinomigdałowego z moczem, KT i scyntygrafia ¹³¹I-MIBG) oraz czynność przytarczyc z ich ewentualną lokalizacją (KT, scyntygrafia MIBI).

Wyniki: Badania genetyczne wykazały obecność mutacji w obrębie eksonu 11 protoonkogenu RET (T634C; Cys>Arg) u 10 członków badanej rodziny w tym u dorosłych: 5 kobiet i 1 mężczyzny oraz u 4 chłopców w wieku od 13 do 16 lat. Dorośli chorzy w momencie diagnozy w większości prezentowali cechy zespołu MEN 2A tj. obecność raka rdzeniastego tarczycy i obu-stronnego guza chromochłonnego nadnerczy, u trzech chorych stwierdzono nadczynność przytarczyc. Poziom kalcytoniny podstawowej u dorosłych przed tyreoidektomią wynosił 21-477 pg/ml. U czterech młodszych badanych ze stwierdzoną mutacją protoonkogenu RET poziom kalcytoniny podstawowej wynosił od 21,0 do 67,8 pg/ml, a w badaniu USG tarczycy stwierdzono obecność zmian ogniskowych. Chorzy zostali skierowani na leczenie operacyjne. Do tej pory nie stwierdzono u nich pozostałych składowych zespołu MEN2A.

Podsumowanie: wykryta mutacja kodonu 634 w eksonie 11 protoonkogenu RET w badanej rodzinie jest najczęściej występującym defektem genetycznym warunkującym rozwój zespołu MEN2A. Występowanie tego defektu u tak wielu osób potwierdza konieczność przeprowadzania szerokich badań przesiewowych.

Słowa kluczowe: Protoonkogen RET, mutacja, zespół MEN2A

ANALYSIS OF GENETIC BACKGROUND AND COURSE OF THE DISEASE IN LARGE FAMILY WITH MEN2A SYNDROME

Maria Gryczyńska¹, Katarzyna Ziemnicka¹, Marta Kaczmarek², Robert Kalak³, Rafał Czepczyński¹, Marek Niedziela⁴, Leszek Pietz¹, Michał Drews⁵, Marlena Pisarek¹, Przemysław Majewski⁶, Ryszard Słomski^{2,3}, Jerzy Sowiński¹

¹ Department of Endocrinology, Metabolism and Internal Diseases, University of Medical Science (UOMS), Poznań

² Institute of Human Genetics, Polish Academy of Science, Poznań

³ Department of Biochemistry and Biotechnology, Academy of Agriculture, Poznań

⁴ Department of Paediatric Endocrinology and Diabetes, UOMS, Poznań

⁵ Department of General, Gastroenterological and Endocrinological Surgery, UOMS, Poznań

⁶ Department of Pathology, UOMS, Poznań

Aim of the study was to analyze a genetic predisposition, time of the onset and progression of the disease in members of the large family affected by MEN2A syndrome.

Material and Methods: 65 persons at the age 4 – 72 years old, belonging to the family with MEN2A syndrome were analyzed. In all cases blood for genetic studies and calcitonin level was taken, ultrasound of the thyroid was done and the thyroid lesions were submitted to FNAB. Genetic studies of exons: 10, 11 and 13 of the RET proto-oncogene were done using DNA from peripheral blood cells and performing PCR, SSCP and automatic sequencing (ALF-express, Amersham-Pharmacia). In patients with diagnosed MEN2A syndrome or established genetic predisposition the secretion of pentagastrin-stimulated calcitonin, function and morphology of the adrenal glands (diurnal VMA excretion with urine, CT and ¹³¹I-MIBG scintigraphy) and function of the parathyroid glands and if necessary their localization (CT, MIBI scintigraphy) were done.

Results: Genetic studies revealed presence of mutation within the exon 11 of the RET proto-oncogene (T634C; Cys>Arg) in 10 members of the family: 6 adults: 5 women and 1 men and 4 adolescents at the age 13-16 yrs. The most of the adult patients, at the moment of diagnosis, presented the features of MEN2A syndrome, e.g. MTC and bilateral pheochromocytoma, in 3 patients parathyroid gland adenoma was also diagnosed. Basic calcitonin level in adults before surgery was 21-477 pg/ml. In 4 adolescents with RET proto-oncogene mutation basic calcitonin level was 21-67.8 pg/ml and during the USG presence of the thyroid lesions was confirmed. These patients were referred at surgery. Currently, beside MTC, they do not present any other components of MEN2A syndrome.

Conclusions: This mutation of codon 634 in exon 11 of RET proto-oncogene is the most common defect determined development of MEN2A syndrome. The presence of this defect in so many members of the family confirms the necessity of wide genetic and clinical screening.

Key words: RET proto-oncogene, mutation, MEN2A syndrome

Doniesienia ustne

S05-1

HORMON TARCZYCY – ZMIENIA EKSPRESJE CYKLINY E I JEJ NISKOCZĄSTECzkOWYCH IZOFORM (LMW) W RAKU JASNOKOMÓRKOWYM (RCCC) NERKI LUDZKIEJ

Piotr Popławski¹, Olga Turowska¹, Zbigniew Tanski², Alicja Nauman¹

¹ Zakład Biochemii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

² Oddział Urologii, Szpital Zespolony, Ostrołęka

Wstęp. Zaburzenia w regulacji przejścia z fazy G1 do S cyklu komórkowego są podstawową przyczyną onkogenezy. Ekspresja cykliny E, jednego z kluczowych białek regulujących przejście z fazy G1 do S, jest regulowana przez czynnik transkrypcyjny E2F1. Transkrypcja genu kodującego E2F jest negatywnie regulowana przez jądrowe receptory trijodotyroniny (T₃). Wykazano zaburzoną ekspresję cykliny E i jej LMW w wielu nowotworach. Wyniki badań prowadzonych przez nasz zespół pozwoliły wysunąć hipotezę, że nieprawidłowości jądrowych receptorów hormonów tarczycy (mutacje, obniżone wiązanie z DNA lub z T₃) są jednym z powodów powstawania RCCC.

Cel. Celem poniższych badań była ocena, czy nieprawidłowości w funkcjonowaniu receptorów dla T₃ w RCCC powodują, poprzez oddziaływanie na cyklinę E, zaburzenia regulacji przejścia z fazy G1 do S.

Materiały i Metody. W badaniach wykorzystano 26 tkanek nowotworowych pochodzących od pacjentów z RCCC (+ 26 kontroli) oraz 15 tkanek nienowotworowych. Ekspresję cykliny E i jej LMW oznaczano metodą Western-blott. Maksymalne wiązanie receptorów (Bmax) oznaczano metodą radioizotopową opisaną przez Scatcharda.

Wyniki. Analiza całkowitej ekspresji cykliny E wykazała statystycznie znaczące różnice pomiędzy zdrowymi kontrolami i tkankami nowotworowymi (G2 i G3). W tkankach nowotworowych wykazano znacząco podwyższoną ekspresję LMW. Analiza Scatcharda wykazała istotnie obniżone Bmax w tkankach nowotworowych. Wykazano, że w grupie tkanek nowotworowych z Bmax obniżonym o 25-50% występuje znacząco podwyższona ekspresja cykliny E.

Wnioski i podsumowanie. Zaburzone wiązanie T₃ z TR w RCCC ma wpływ na wzrost ekspresji cykliny E i jej LMW, ekspresja tych białek jest negatywnie regulowana przez zależny od T₃ i TR gen E2F, którego produkt białkowy reguluje z kolei ekspresję cykliny E. Zatem obniżone wiązanie T₃ z TR będzie powodowało zwiększoną

ekspresję E2F, zwiększoną ekspresję cykliny E, skrócenie fazy G1 i przyspieszoną proliferację. Obecne wyniki badań wspierają hipotezę, że upośledzona funkcja T₃/TR może być współodpowiedzialna za proces nowotworzenia.

THYROID HORMONE – CHANGES EXPRESSION OF CYCLIN E AND ITS LOW MOLECULAR WEIGHT ISOFORMS (LMW) IN HUMAN RENAL CLEAR CELL CARCINOMA (RCCC)

Piotr Popławski¹, Olga Turowska¹, Zbigniew Tanski², Alicja Nauman¹

¹Department of Biochemistry Medical Center of Postgraduate Education, Warsaw

²Department of Urology Province Hospital, Ostrołęka

Introduction. The process of oncogenesis is most often connected with failure in G1 phase of the cell cycle. Expression of cyclin E, a key mediator in G1/S cell cycle checkpoint progression, is regulated by transcription factor E2F1. Nuclear triiodothyronine receptors negatively regulate transcription of E2F coding gene. Cyclin E and LMW are aberrantly expressed in a wide variety of cancers. We hypothesize that abnormal TRs (mutated, with lowered DNA or hormone) contribute to kidney tumorigenesis.

Goal. Our research goal was to check if abnormalities in T₃ receptor function are responsible for RCCC neogenesis due to its influence on cyclin E expression and abnormal regulation of G1/S checkpoint.

Materials and Methods. We have analyzed 26 RCCCs, 26 respective controls and 15 healthy kidney tissues. Expression of cyclins was analyzed by Western-blotting. Maximal thyroid hormone binding was measured by radioligand assay according to Scatchard.

Results. Analysis of total cyclin E expression revealed that the mean values of cyclin E protein were significantly higher in G2, G3 tumors vs. control tissues. Similarly, the mean values of LMW expression were significantly higher in G1, G2 and G3 tumors vs. control tissues. Scatchard analysis showed statistically significant T₃ maximal binding (B_{max}) decrease in G1, G2, G3 cancer tissues in comparison to healthy controls. We showed that group of cancer tissues with B_{max} lowered from 25-50% has significantly higher cyclin E expression.

Summary. Decreased T₃ binding by TR in RCCC has influence on cyclin E and LMW expression. Expression of those proteins is regulated by E2F1 transcription factor. E2F1 gene is negatively regulated by TR. Abnormal hormone binding to TR could result in aberrant regulation of E2F1 and increased level of cyclin E, and higher proliferation rate. Our results Support hypothesis that handicapped T₃/TR function could be responsible for kidney cancerogenesis.

S05-2

NIESTABILNOŚĆ MIKROSATELITARNA (MSI), MUTACJE W GENACH PTEN I β-KATENINY: RÓŻNE MOLEKULARNE DROGI POWSTAWANIA RAKA ENDOMETRIUM

Bożena Konopka¹, Aneta Janiec-Jankowska¹, Dorota Czapczak¹, Zygmunt Paszko¹, Włodzimierz Olszewski², Mariusz Bidziński³.

¹ Zakład Endokrynologii, Centrum Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa.

² Zakład Patologii Centrum, Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa.

³ Klinika Ginekologii, Centrum Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa.

Cel pracy: Ocena częstości występowania niestabilności mikrosatelitarnej (MSI) i mutacji w genach PTEN i β-kateniny oraz analiza wzajemnych relacji pomiędzy tymi czynnikami w rakach endometrium.

Materiał i metody: Materiałem badawczym było DNA wyizolowane z 60 raków endometrium i limfocytów krwi tych samych chorych. Mutacji poszukiwano we wszystkich 9 eksonach genu PTEN i w eksonie 3 genu β-kateniny za pomocą PCR-SSCP i sekwencjonowania. Analizę niestabilności mikrosatelitarnej przeprowadzono badając osiem markerów mikrosatelitarnych (D2S123, D3S966, D5S346, D17S250, D17S855, D17S1323, D18S58, BAT26) metodą PCR z użyciem starterów znakowanych fluorescencyjnie i elektroforezy w żelu poliakrylamidowym. Statystyczną ocenę wyników wykonano testem χ^2 .

Wyniki: Niestabilność mikrosatelitarną (MSI+) stwierdzono w 19/60 (31,7%) rakach. Pozostałe 41 raków (68,3%) miało stabilne DNA (MSI-). W 17 przypadkach (28,3%) w badanych mikrosatelitach występowała też utrata heterozygotyczności (LOH). W 30 rakach (50%) stwierdzono mutacje w genie PTEN a w 9 (15%) w genie β-kateniny. Między wykrytymi defektami zaobserwowano następujące zależności. Mutacje w genie PTEN znacznie częściej występowały w rakach MI+ niż w rakach MI- (odpowiednio 73,7% i 39%; $\alpha=0,0125$) ale z wyjątkiem jednej, nie były one charakterystyczne dla MSI. Częstości występowania mutacji w genie β-kateniny w rakach MSI+ i MSI- nie różniły się istotnie (15,7% i 14,6%, $\alpha=0,785$). Natomiast mutacje β-kateniny najczęściej współwystępowały z mutacjami w genie PTEN (7/9; 77,8%).

Wnioski: Wyniki obecnej pracy wskazują, że raki endometrium mogą powstawać różnymi molekularnymi drogami. Mutacyjna inaktywacja genu PTEN odgrywa w nich kluczową rolę. Zarówno niestabilność mikrosatelitarna jak i mutacje genu β-kateniny są kolejnymi oprócz mutacji PTEN czynnikami, prawdopodobnie dwóch alternatywnych dróg patogenezy tych nowotworów.

MICROSATELLITE INSTABILITY, PTEN AND β-CATENIN GENE MUTATIONS: DIFFERENT MOLECULAR PATHWAYS TO ENDOMETRIAL CANCER

Bożena Konopka¹, Aneta Janiec-Jankowska¹, Dorota Czapczak¹, Zygmunt Paszko¹, Włodzimierz Olszewski², Mariusz Bidziński³.

¹ Endocrinology Department, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw.
² Department of Pathology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw.
³ Gynecological Oncology Department, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw.

Aim of the study was to assess incidence of microsatellite instability (MSI) and mutations in PTEN and β -catenin genes and to analyse of these factors in relation to each other in endometrial cancers.

Material and Methods: The study material included DNA from 60 endometrial cancers and from blood lymphocytes of the same patients. Mutations were assessed in all nine exons of PTEN gene and in exon 3 of β -catenin gene by PCR-SSCP and sequencing methods. The analysis of MSI was carried out using eight DNA microsatellite markers (D2S123, D3S966, D5S346, D17S250, D17S855, D17S1323, D18S58, BAT26) with fluorescent PCR and denatured gel electrophoresis. The results were analysed statistically by χ^2 test.

Results: Microsatellite instability (MSI+) was found in 19 cancers (31.7%). The DNA in the remaining 41 tumors (68.3%) was stable (MSI-). In 17 cases (28.3%), a loss of heterozygosity (LOH) also occurred. In 30 cancers (50%) mutations were found in PTEN gene and in nine tumors (15%) in β -catenin gene. The following relations were observed between the detected defects. In MSI+ tumors, PTEN mutations occurred significantly more frequently than in MSI- tumors (73.3% vs 39%, $\alpha=0.0125$) but, except for one, none of PTEN mutations were not characteristic for MSI. The incidences of mutations in β -catenin gene in MSI+ and MSI- cancers were not significantly differing between themselves (15.7% vs 14.6%, $\alpha=0.785$). However, mutations in β -catenin gene most frequently coexisted with mutations in PTEN gene (7/9; 77.8%).

Conclusions: The results of this study demonstrate that endometrial cancers can develop by various molecular pathways. Mutational inactivation of PTEN gene plays a major role in them. Both MSI and β -catenin are other factors, besides PTEN, but probably of two alternative ways of pathogenesis of those tumors.

S05-3

WSPÓŁWYSTĘPOWANIE USZKODZEŃ GENÓW TP53, TGF β IIR I PTEN W SPORADYCZNYCH RAKACH ENDOMETRIUM KOBIEC

Aneta Janiec-Jankowska, Bożena Konopka, Zygmunt Paszko i Marian Goluda

Zakład Endokrynologii Centrum Onkologii w Warszawie

Cel. Przedmiotem badań było określenie jakości i częstości współwystępowania patogennych mutacji w genach TP53, TGF β IIR i PTEN w sporadycznych rakach endometrium kobiet. Przeprowadzone badania mają istotne znaczenie dla poznawania etiopatogenezy tej choroby.

Materiał i metody. Badania wykonano na DNA 83 tkanek raków endometrium, w których za pomocą technik PCR a następnie sekwencjonowania określono skład nukleotydowy wszystkich kodujących eksonów genów TP53, TGF β IIR i PTEN.

Wyniki. Wśród 83 raków endometrium 37,3% posiadało mutację w genie TP53, 18,9% w genie TGF β IIR a 46,7%

w genie PTEN. Wykryte mutacje miały w większości charakter nonsensowny lub były to mutacje zmiany sensu. Prowadziły one do powstawania kadłubowych białek lub zamiany w białku aktywnych chemicznie aminokwasów Niewątpliwie, zmiany te mogły brać udział w procesie karcynogenezy raka endometrium. Porównanie jednoczesnego współwystępowania w rakach endometrium w/w mutacji wykazało, że mutacje w genie TGF β IIR i w genie TP53, zdarzały się bardzo rzadko (3,3%) a z genem PTEN nieco częściej (6,7%). Najczęściej występowały ze sobą mutacje w genach PTEN i TP53 (15,6%). Przypuszcza się, że najwcześniejszymi zmianami w rakach endometrium kobiet są zmiany w genach TGF β IIR i PTEN, które spotyka się już w hyperplazjach endometrium. Przypuszczamy, że mutacje w genie PTEN biorą najwcześniejszy udział w karcynogenezie raka endometrium. Jednakże nie można brać pod uwagę faktu, że raki endometrium powstają na podłożu hiperplazji, w której zaburzenia w metabolizmie androgenowo-estrogenowym mogą odgrywać istotną rolę zwłaszcza przy udziale nadprodukcji katechol-estrogenów, które są jak wiadomo bezpośrednimi kancerogenami w tkankach hormonozależnych.

CONCOMITANT MUTATIONS IN TP53, TGF β IIR AND PTEN GENES IN SPORADIC ENDOMETRIAL CANCERS

Aneta Janiec-Jankowska, Bożena Konopka, Zygmunt Paszko i Marian Goluda

¹ Endocrinology Department, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw.

Purpose: The aim of the study was to investigate the pathogenic mutations in TP53, TGF β IIR and PTEN genes in sporadic endometrial cancers, that may play an important role in etiopathogenesis of the disease.

Materials and Methods: DNA was isolated from 83 endometrial cancer cells, and nucleotide sequences of coding exons of TP53, TGF β IIR and PTEN genes were determined by PCR and sequencing techniques.

Results: Mutations in TP53, TGF β IIR and PTEN genes were found in 37.3%, 18.9% and 46.7%, respectively, of 83 endometrial cancers. Most of the identified mutations were either nonsense or missense, resulting in a production of truncated proteins or proteins containing aminoacid substitutions. These changes could play a role in endometrial carcinogenesis. Mutations in TGF β IIR were accompanied by TP53 mutations in only 3.3% of patients and by PTEN mutations in 6.7%. Concomitant mutations in PTEN and TP53 were found most frequently (15.6%). Mutations in TGF β IIR and PTEN, found already in endometrial hyperplasias are thought to be the early changes endometrial carcinogenesis. We suggest that mutations in PTEN gene play a role in the very early stages of endometrial carcinogenesis. However, considering the links between hyperplasias and endometrial cancers, one should be aware of the important contribution of abnormal androgene-estrogene metabolism in the pathogenesis of endometrial cancer, especially of the role of overproduction of katechol-estrogens, the known cancerogenes for hormone-dependent tissues.

S05-4

**OBUSTRONNE RAKI PIERSI KOBIET;
OBECNOŚĆ DZIEDZICZNYCH MUTACJI
W GENACH BRCA1, BRCA2, CHEK2 I RELACJE
Z WIEKIEM ZACHOROWANIA**

*Elżbieta Skasko, Anna Niwińska, Zygmunt Paszko,
Ewa Kwiatkowska, Aneta Bałabas, Anna Kluska,
Magdalena Piątkowska, Dorota Nowakowska,
Tadeusz Pieńkowski.*

*Centrum Onkologii- Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w
Warszawie*

Cel, materiał i metody. Obiektem badań były 132 chore na obuustronnego raka piersi. U chorych tych technikami biologii molekularnej zbadano w DNA limfocytów krwi obwodowej obecność wybranych mutacji w genach BRCA1, BRCA2 i CHEK2. Oceniono również rodzinne obciążenia chorych nowotworami. Całość uzyskanych danych odniesiono do wieku zachorowania kobiet na raka piersi. Raki synchroniczne występowały u 29,5% (39/132) a raki metachroniczne u 70,5% (93/132) przebadanych chorych.

Wyniki. Wykryto następujące mutacje: w genie BRCA1 – 5382insC u 8 chorych; T300G u 2 chorych oraz 3875del11ins7, IVS20+60ins12 i IVS20-16G>A każda u jednej chorej; w genie BRCA2 ujawniono mutację 9631delC u 1 chorej; w genie CHEK2 wykryto mutacje – 1100delC u 1 chorej i 430T>C u 9 chorych. Łącznie u chorych znaleziono 24/132 (18,0%) mutacje. Częstość występowania mutacji w rakach synchronicznych była niemal taka sama jak w rakach metachronicznych (17,95% i 18,3%).

Podsumowanie. U chorych na obuustronnego raka piersi obciążenie nosicielstwem dziedzicznych mutacji w genach BRCA1/2 związane jest z wcześniejszym zachorowaniem na pierwszego i drugiego raka piersi niż u osób nie obciążonych obecnością dziedzicznych mutacji w w/w genach (różnica 6,5 roku $p=0,0337$; różnica 5,9 lat $p=0,0539$). Analogicznie, chorzy obciążeni rodzinnym występowaniem nowotworów również wcześniej zachorowują na pierwszego i drugiego raka piersi (różnica 5,3 lat $p=0,0084$; różnica 4 lata $p=0,0542$). U chorych posiadających dziedziczne mutacje w genie CHEK2 wiek zachorowania na pierwszego i drugiego raka piersi nie różni się znacząco od wieku chorych nie posiadających mutacji w genie CHEK2.

**BILATERAL BREAST CANCER OF WOMEN;
THE PRESENCE OF HEREDITARY BRCA1,
BRCA2, CHEK2 GENE MUTATIONS AND
RELATIONS TO THE AGES OF BREAST
CANCER OCCURRENCE.**

*Elżbieta Skasko, Anna Niwińska, Zygmunt Paszko,
Ewa Kwiatkowska, Aneta Bałabas, Anna Kluska,
Magdalena Piątkowska, Dorota Nowakowska,
Tadeusz Pieńkowski.*

*The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Warsaw,
Poland.*

Introduction, material and methods. 132 women with bilateral breast cancer were studied. Using molecular biology techniques the DNA of the peripheral blood

lymphocytes of these patients was tested for the presence of selected mutations in BRCA1, BRCA2 and CHEK2 genes. The cancer family history of patients and the presence of mutations were related to the ages of breast cancer occurrence. 29.5% (39/132) of patients had been diagnosed with synchronous and 70.5% (93/132) with metachronous cancer.

Results. The following mutations were identified: in BRCA1 gene – 5382insC in 8 patients; T300G in 2 patients and also 3875del11ins7, IVS20+60ins12 and IVS20-16G>A each in one patient; in BRCA2 gene a 9631delC mutation was detected in one patient; in gene CHEK2 a 1100delC mutation was detected in one patient and a 430T>C mutation in 9. Altogether, a total of 24 mutations (18.0%) were detected in these 132 patients tested. The incidence of mutations in synchronous cancers was almost the same as in the case of metachronous cancers (17.95% and 18.3%).

Conclusions. In patients with bilateral breast cancer the presence of hereditary BRCA1/2 gene mutations is associated with earlier development of the first and the second breast cancer than in patients without hereditary mutations (difference 6.5 and 5.9 years; $p=0.0337$ or 0.0539 respectively). By analogy, patients with familial breast cancer history were also found to develop the first and second breast cancer earlier (difference 5.3 and 4 years; $p=0.0084$ or 0.0542 respectively). There was no significant difference between the ages of women with and without hereditary CHEK2 gene mutations at which the onset of the first and the second breast cancer occurred.

S05-5

**PATOGENNE MUTACJE W GENIE RET U
CHORYCH NA RDZENIASTEGO RAKA
TARCZYCY W CENTRALNEJ POLSCE**

*Zygmunt Paszko, Maria Sromek, Małgorzata
Czeturtyńska, Dorota Czupczak, Alicja
Wiśniewska, Elżbieta Skasko, Izabela Kozłowicz-
Gudzińska, Andrzej Prokurat, Maria Chrupek.*

Centrum Onkologii w Warszawie

Cel: Przedmiotem doniesienia jest podsumowanie siedmioletnich badań nad częstością i rodzajem patogennej mutacji występujących w genie RET u chorych na rdzeniastego raka tarczycy. Zbadano 274 osoby; 188 osób chorych na RRT, 86 osób było członkami ich rodzin. Materiałem badawczym było DNA izolowane z limfocytów krwi obwodowej. Metodą PCR powielano następujące eksony genu RET: 10, 11, 13, 14, 15 i 16, które następnie poddawano sekwencjonowaniu.

Wyniki: Patogenne mutacje wykryte w genie RET. (patrz Tab.1 na nast. stronie)

Podsumowanie. Wśród 89 chorych na RRT było 27 rodzin, z których 39 chorych (43,8%) miało patogenne mutacje w genie RET. Ponadto mutacje wykryto u 22 krewnych chorych, którzy jeszcze nie mieli klinicznych objawów choroby. Przedstawione dane charakteryzują częstość i rodzaj patogennej mutacji w genie RET występujących u chorych i członków ich rodzin w Centralnej Polsce.

Tabela 1

Rozpoznanie	Lokalizacja		Zmiana w sekwencji		Liczba osób z mutacją		
	Exon	Kodon	DNA	Białko	Rodziny	Chorzy	Zdrowi
MTC	10	609	TGC→TTC	Cys→Phe	3	3	6
MTC			TGC→CGC	CYS→Arg			
MTC			TGC→TAC	Cys→Tyr			
MTC		618	TGC→GGC	Cys→Gly	2	2	2
MTC			TGC→TTC	Cys Phe			
MTC, MEN2A		620	TGC→GGC	Cys→Arg	4	8	3
MTC			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC	TGC→GGC		Cys→Arg				
MTC	11	634	TGC→CGC	Cys→Arg	8	16	0
MTC, MEN2A			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC, MEN2A			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC, PHEO			TGC→AGC	Cys→Ser			
MTC			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTEN2A			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC, MEN2A	13	791	TAT→TTT	Tyr→Phe	4	3	14
MTC, MEN2A			TAT→TTT	Tyr→Phe			
Rak nerki [*]			TAT→TTT	Tyr→Phe			
MTC			TAT→TTT	Tyr→Phe			
MTC	14	804	GTG→TTG	Val→Leu	1	1	0
MTC		844	CGG→CAG	Arg→Gln			
MTC	15	891	TCG→GCG	Ser→Ala	1	2	0
MTC		912	CGG→CCG	Arg→Pro			
MTC, MEN2B	16	918	ATG→ACG	Met→Thr	2	2	0
MTC, PHEO, MEN2B			ATG→ACG	Met→Thr			
Razem					27	39	22

*córka MTC

PATHOGENIC MUTATIONS IN GENE RET IN PATIENTS WITH MEDULLARY THYROID CARCINOMA FOUND IN CENTRAL POLAND

Zygmunt Paszko, Maria Sromek, Małgorzata Czetwertyńska, Dorota Czapczak, Alicja Wiśniewska, Elżbieta Skasko, Izabela Kozłowicz-Gudzińska, Andrzej Prokurat, Maria Chrupek.

The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Warsaw, Poland

Aim: The aim of this paper is to summarise the seven's years of investigations on the frequency and kind of mutations occurred in gene RET in patients with medullary thyroid cancer. Within 274 subjects studied, there were 188 patients with RRT and 86 their healthy relatives. DNA was isolated from peripheral blood lymphocytes. The following exons of the gene RET were amplified by the PCR method: 10, 11, 13, 14, 15 and 16 and then they were subjected to direct sequencing.

Results: Pathogenic mutations found in gene RET. (Table 1)

Conclusions: Within 89 patients with RRT there were 27 families. In 39 (43.8%) patients and 22 healthy relatives pathogenic mutations in gene RET have been identified. Our results represent the frequency and type of pathogenic

mutations in gene RET occurred in RRT patients in Central Poland.

Table 1

Diagnosis	Localisation		Changes in sequences		Number of subjects		
	Exon	Codon	DNA	Protein	Family	Patients	Healthy
MTC	10	609	TGC→TTC	Cys→Phe	3	3	6
MTC			TGC→CGC	CYS→Arg			
MTC			TGC→TAC	Cys→Tyr			
MTC		618	TGC→GGC	Cys→Gly	2	2	2
MTC			TGC→TTC	Cys Phe			
MTC, MEN2A		620	TGC→GGC	Cys→Arg	4	8	3
MTC			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC	TGC→GGC		Cys→Arg				
MTC, MEN2A	11	634	TGC→CGC	Cys→Arg	8	16	0
MTC, MEN2A			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC, PHEO			TGC→AGC	Cys→Ser			
MTC			TGC→CGC	Cys→Arg			
MTC, MEN2A	13	791	TAT→TTT	Tyr→Phe	4	3	14
MTC, MEN2A			TAT→TTT	Tyr→Phe			
Rak nerki [*]			TAT→TTT	Tyr→Phe			
MTC			TAT→TTT	Tyr→Phe			
MTC	14	804	GTG→TTG	Val→Leu	1	1	0
MTC		844	CGG→CAG	Arg→Gln			
MTC	15	891	TCG→GCG	Ser→Ala	1	2	0
MTC		912	CGG→CCG	Arg→Pro			
MTC, MEN2B	16	918	ATG→ACG	Met→Thr	2	2	0
MTC, PHEO, MEN2B			ATG→ACG	Met→Thr			
Total					27	39	22

*daughter MTC

S05-6 INTERLEUKINA-13 I INTERLEUKINA-16 JAKO WYKŁADNIKI CZYNNOŚCI IMMUNOLOGICZNEJ LIMFOCYTÓW TH2 CD4⁺ I T CD8⁺ W TRAKCIE GLIKOKORTYKOSTEROIDOTERAPII

G. Kulig, K. Pilarska, S. Pynka, B. Krzyżanowska-Świniarska

Klinika Endokrynologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Przemiany Materii PAM w Szczecinie

Wstęp: IL-13 należy to cytokin produkowanych przez aktywowane limfocyty pomocnicze Th2 CD4⁺, źródłem IL-16 są limfocyty T CD8⁺.

Celem pracy jest ocena wpływu glikokortykosteroidoterapii na układ immunologiczny w oparciu o analizę stężeń interleukiny-13 i interleukiny-16 u pacjentów z naciekową oftalmopatią tarczycową (OT).

Materiał i metody: Do grupy badanej (grupa I) należało 34 pacjentów w wieku 24-62 lat z chorobą Graves-Basedowa i OT. Grupę kontrolną (grupa II) tworzyło 27 zdrowych osób w przedziale wiekowym od 26-61 lat. U pacjentów

w grupie I przed rozpoczęciem terapii, a następnie po 3 i 6 cyklu Solu-Medrolu oraz po zakończeniu doustnego leczenia prednizonem stężenia obu cytokin oznaczano metodą ELISA. W grupie kontrolnej badania IL-13 i IL-16 wykonywano jednorazowo.

Wyniki: W grupie I wyjściowe stężenia IL-13 były nieznacznie wyższe w porównaniu do grupy II ($46,22 \pm 11,66$ vs $34,14 \pm 12,17$ pg/ml; $p > 0,05$). Cykliczne, dożylnie leczenie metyldprednizolonem nie wpłynęło w sposób znaczący na zmiany średniego stężenia IL-13, które po 6 cyklach było porównywalne z początkowym ($46,22 \pm 11,66$ vs $45,66 \pm 11,5$ pg/ml, $p > 0,05$). Terapia prednizonem stosowana przez okres 4 miesiące, spowodowała istotne obniżenie poziomu IL-13 do wartości istotnie niższej niż u osób zdrowych ($16,18 \pm 7,47$ vs $34,14 \pm 12,17$ pg/ml, $p > 0,05$). Początkowe stężenia IL-16 o obu grupach nie różniły się istotnie ($184,4 \pm 14,38$ vs $195,1 \pm 25,44$ pg/ml, $p < 0,05$). Podobnie jak w przypadku IL-13, cykliczne leczenie metyldprednizolonem nie powodowało istotnych zmian stężeń IL-16 ($184,4 \pm 14,38$ vs $162,9 \pm 18,48$ pg/ml, $p > 0,05$), a istotny spadek średnich stężeń IL-16, do wartości niższych niż w grupie II obserwowano po zakończeniu terapii prednizonem ($131,4 \pm 13,71$ vs $195,1 \pm 25,44$ pg/ml, $p < 0,05$)

Wnioski: 1. Pulsacyjne leczenie metyldprednizolonem wydaje się nie zaburzać w sposób istotny czynności układu immunologicznego. 2. Doustne przyjmowanie prednizonu wiąże się z zahamowaniem funkcji zarówno limfocytów Th2 CD4⁺ jak i T CD8⁺

Słowa kluczowe: choroba Gravesa-Basedowa, oftalmopatia tarczycowa, interleukina-13, interleukina-16, glikokortykosteroidy

S-06

Tarczyca 2

Przewodniczący sesji:

Jan Komorowski, Zbigniew Szybiński

Wykład programowy

PRO6

PRZECIWCIAŁA STYMULUJĄCE TARCZYCĘ A FENOTYP CHOROBY GRAVESA-BASEDOWA NA POCZĄTKU CHOROBY

Janusz Nauman¹, Marta Jonas¹, Urszula Makowska², Krzysztof Chojnowski²

¹ Zakład Endokrynologii Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN,

² Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii Akademii Medycznej w Warszawie.

Etiopatogeneza choroby Gravesa-Basedowa (G-B) jest wieloczynnikowa i złożona. Celem niniejszej pracy było ustalenie, czy i w jakim stopniu przeciwciała reagujące z receptorem TSH wpływają na rozwój i nasilenie objawów, a więc na fenotyp tej choroby. Badania przeprowadzono u 144 dotychczas nie leczonych chorych z hipertyreozą, w tym 117 kobiet i 27 mężczyzn w wieku od 17 do 55 lat. Średni wiek w momencie zachorowania wynosił 34,18 lat. U chorych oznaczono poziomy

TBII (test II generacji) i TSI (komórki CHO z transfekowanym receptorem TSH), a uzyskane wyniki odnoszono do płci, wieku, rodzinnego występowania choroby G-B oraz objawów klinicznych choroby GB, w tym do objętości tarczycy i oftalmopatii, oraz do poziomów TSH, FT₄, FT₃ i stosunku FT₃/FT₄. Dodatkowo chorych podzielono na młodszych (53 chorych do 25 r.ż.) i starszych (91 chorych po 25 r.ż.). W całej grupie średni poziom TBII był wysoki i wynosił $14,46 \pm 18,4$ mIU/ml, u młodszych był niższy i wynosił $12,4 \pm 18,16$ mIU/ml, a u starszych nieco wyższy – $15,7 \pm 18,59$ mIU/ml. Występowanie choroby G-B w rodzinie stwierdzano częściej u młodszych niż starszych (40% vs 26%), a współistnienie oftalmopatii częściej u starszych niż młodszych (77% vs 21%). Palili częściej starsi niż młodszy (30,8% vs 7,5%) i u palaczy częściej współistniała oftalmopatia. Dodatkowo poziomy TBII u chorych z oftalmopatią były wyższe niż u pozostałych ($18,47$ vs $11,19$ mIU/ml, $p < 0,05$). U młodszych stężenie TBII wykazywało korelację z objętością tarczycy ($R=0,49$; $p < 0,002$) i ze wskaźnikiem FT₃/FT₄ ($R=0,52$; $p < 0,0004$). Jeszcze silniejszą korelację stwierdzano między objętością tarczycy a wskaźnikiem FT₃/FT₄ ($R=0,61$; $p < 0,0004$).

W konkluzji stężenie TBII znacząco wpływa na fenotyp i przebieg choroby G-B

THYROID STIMULATING IMMUNOGLOBULINES AND GRAVES' DISEASE PHENOTYPE AT THE ONSET OF THE DISEASE.

Janusz Nauman¹, Marta Jonas¹, Urszula Makowska², Krzysztof Chojnowski²

¹ Department of Endocrinology of Institute of Experimental and Clinical Medicine, Polish Academy of Sciences

² Chair and Department of Internal Medicine and Endocrinology, Warsaw Medical University

Introduction. Graves' disease (GD) etiopathogenesis is multi-factorial and complicated. The aim of this study was to assess if antibodies reacting with TSH receptor influence manifestation and the severity of symptoms, as so the phenotype of GD, and their importance in that process.

Material and methods. 144 patients with the first onset of Graves' hyperthyroidism were included into the study (117 female and 27 male) in age 17 to 55. Mean age in the time of disease onset was 34.18 years. TBII (II generation assay) and TSI (CHO cells transfected with TSH receptor) levels were assessed and correlated with age, gender, family history of GD and clinical symptoms, including thyroid volume, ophthalmopathy (GO), TSH, FT₃, FT₄ concentrations and FT₃/FT₄ index. Patients were also divided into younger (up to 25 years of age – 53 patients) and older (over 25 years – 91 patients) groups.

Results. In the whole population mean TBII level was high, reaching 14.46 IU/L ± 18.40 , in the young group was lower, reaching 12.40 IU/L ± 18.16 , and in the old group was slightly higher – 15.70 IU/L ± 18.59 . Family history of GD was found more often in the younger than in the older group (40 % vs. 26%), coexistence of GO was more frequent in the older than in the younger group (77% vs. 21%). Older patients more often were tobacco smokers (30.8% vs 7.5%) and it was correlated with GO. Moreover TBII level in patients with GO was higher (18.47 vs. 11.19