

Material and methods: patients were recruited to the following groups: 1. asthmatic patients – no 85; divided into the following subgroups: group DS – patients treated with oral steroids – 38, 27 women and 11 men, (47.8±10.7 years, 74±13.8 kg), group WS – patients treated with inhaled steroids – 34, 29 women and 5 men, (45.4±11.0 years, 73.7±13.9 kg), group NS – patients treated with other drugs than glucocorticoids – 13, 9 women and 4 men, (38.8±15.1 years, 66.7±17.9 kg), 2. control group – 31 healthy volunteers, 17 women and 14 men (39.8±9.8 years, 75.1±16.1 kg). Serum levels of PTH, VD3, osteocalcin, ICTP, Ca and phosphates were measured. VDR gene genotypes were determined using PCR-RFLP method. BMD was measured using DXA method.

Results: Genotype ff was found in 3.9%, FF in 41.2%, and fF in 54.9%. Allelic frequency for allele F was 68.6%, and f – 31.4%. There was no significant differences regarding BMD, biochemical and hormonal parameters between any of genotypes.

Conclusions: the data suggest that the VDR genotypes do not seem to be useful for identifying patients at greater risk of glucocorticoid-induced osteoporosis, however it awaits to be confirmed by a population-based study.

Wyniki: Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic ani w LPO, ani w TRAP u pacjentów z niedoczynnością tarczycy w porównaniu z pacjentami w stanie klinicznej i hormonalnej eutyreozy. Nie wykazano także różnic w aktywnościach osoczowych enzymów: peroksydazy glutationu, dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy oraz w stężeniach kwasu moczowego i witaminy E. U pacjentów z niedoczynnością tarczycy stwierdzono znacznie niższą aktywność peroksydazy glutationu w erytrocytach. Chociaż badane parametry peroksydacji lipidów i puli antyoksydacyjnej u pacjentów z niedoczynnością tarczycy mieściły się w zakresie normy, stwierdzono silną dodatnią korelację między TSH a peroksydacją lipidów oraz ujemną korelację pomiędzy całkowitą pulą antyoksydacyjną a mianem przeciwciał anti-TPO.

Wniosek: Uzyskane wyniki sugerują udział procesów oksydacyjnych w patogenezie niedoczynności tarczycy.

EVALUATION OF OXIDATIVE PROCESSES IN PATIENTS WITH HYPOTHYROIDISM

Sewerynek Ewa^{1,2}, Oszczygieł Katarzyna^{1,2}, Skowrońska-Józwiak Elżbieta², Słowińska-Klencka Dorota², Gromadzińska Jolanta³, Wąsowicz Wojciech³, Lewiński Andrzej²

¹ Department of Bone Metabolism;

² Chair and Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, Medical University in Łódź;

³ Department of Toxicology and Carcinogenesis, Institute of Occupational Medicine in Łódź

Free radicals, which play a significant role in thyroid hormone metabolism, when produced in excess, may lead to thyroid injury.

Goal of the study was an evaluation of oxidative processes in patients with diagnosed hypothyroidism in the course of autoimmune thyroiditis.

Material and Methods: fifty-seven (57) patients were qualified into the study: 23 in clinical and hormonal euthyroidism (Group I - control) and 34 with hypothyroidism in the course of autoimmune thyroiditis (Group II). Lipid peroxidation (LPO), the total antioxidative status (TRAP), antioxidative enzyme activities and concentrations of endogenous antioxidants were measured in blood serum.

Results: No statistically significant differences were found, either in LPO or in TRAP, in the patients with hypothyroidism in comparison with the patients in clinical and hormonal euthyroidism. Neither were there any differences in plasma activities of the enzymes: glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase, and in the concentrations of uric acid and vitamin E. In the patients with hypothyroidism, significantly lower activities of glutathione peroxidase were observed in erythrocytes. Although the studied parameters of lipids and of the antioxidative status in the patients with hypothyroidism were within normal values, a strong positive correlation was found between TSH and lipid peroxidation, while a negative correlation was found between the total antioxidative status and the titre of the anti-TPO antibodies.

Conclusion: The presented results may suggest a participation of oxidative processes in the pathogenesis of hypothyroidism.

S-15 Endokrynologia doświadczalna

Przewodniczący sesji:

Bogusława Baranowska, Henryk Stępień

Doniesienia ustne

S15-1

OCENA PROCESÓW OKSYDACYJNYCH U PACJENTÓW Z NIEDOCZYNNIĄ TARCZYCY

Sewerynek Ewa^{1,2}, Oszczygieł Katarzyna^{1,2}, Skowrońska-Józwiak Elżbieta², Słowińska-Klencka Dorota², Gromadzińska Jolanta³, Wąsowicz Wojciech³, Lewiński Andrzej²

¹ Zakład Metabolizmu Kostnego;

² Katedra i Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi;

³ Zakład Toksykologii i Karcynogenezy, Instytut Medycyny Pracy w Łodzi

Wolne rodniki, które odgrywają istotną rolę w metabolizmie hormonów tarczycy, produkowane są w nadmiarze, mogą stać się przyczyną uszkodzenia gruczołu tarczowego.

Celem badań była ocena procesów oksydacyjnych u pacjentów z rozpoznaniem autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy przebiegającym z niedoczynnością gruczołu.

Materiał i Metody: Do badania zakwalifikowano 57 pacjentów: 23 w stanie klinicznej i hormonalnej eutyreozy (Grupa I – kontrolna) oraz 34 z autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy w stanie niedoczynności (Grupa II). W surowicy krwi oceniano peroksydację lipidów (LPO), całkowitą pulę antyoksydacyjną (TRAP), aktywność enzymów antyoksydacyjnych i stężenia endogennych antyoksydantów.

S15-2 PROTEKCYJNY WPŁYW ZWIĄZKÓW INDOLOWYCH NA PEROKSYDACJĘ LIPIDÓW INDUKOWANĄ LIPOPOLISACHARYDEM W WARUNKACH IN VITRO

Sewerynek Ewa^{1,2}, Stuss Michał¹, Oszczygieł Katarzyna², Kułak Jolanta², Lewiński Andrzej²

¹ Zakład Metabolizmu Kostnego

² Katedra i Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Melatonina (MEL), hormon szyszynki, jest związkiem o udowodnionych właściwościach antyoksydacyjnych. Może ona działać bezpośrednio, neutralizując rodnik hydroksylowy, anionorodnik ponadtlenkowy, tlenek azotu, nadtlenoazotyn oraz tlen singletowy, lub pośrednio - stymulując aktywność wielu enzymów antyoksydacyjnych. Wykazano że poza MEL właściwości antyoksydacyjne mogą wykazywać także inne związki indolowe, w tym jej prekursor - N-acetyloserotonina (NAC-5HT).

Celem pracy było porównanie potencjału antyoksydacyjnego trzech związków o budowie indolowej: MEL, NAC-5HT oraz 6-metoksytryptaminy (6-MTX) w modelu stresu oksydacyjnego indukowanego lipopolisacharydem in vitro.

Materiał i Metody: W badaniach wykorzystano homogenaty wątroby, nerek i mózgu szczurów szczepu Wistar. Do stymulacji peroksydacji lipidów użyto bakteryjnego lipopolisacharydu (LPS) uzyskanego z Gram (-) bakterii *Escherichia coli* w stężeniu 0,4 mg/ml. MEL, NAC-5HT i 6-MTX zastosowano w stężeniach: 0,01; 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 mM. Peroksydację lipidów oceniano poprzez pomiar stężeń dialdehydu malonowego (MDA) oraz 4-hydroksynonenalu (4-HDA) przy użyciu zestawu Bioxytech LPO-586 kit.

Wyniki i Wniosek: Wszystkie badane związki indolowe zmniejszyły indukowaną lipopolisacharydem peroksydację lipidów w homogenatach badanych narządów w sposób zależny od zastosowanego stężenia. W porównaniu z MEL oba badane związki - NAC-5HT i 6-MTX charakteryzowały się większym potencjałem antyoksydacyjnym.

PROTECTIVE EFFECT OF INDOLE COMPOUNDS ON LIPOPOLYSACCHARIDE- INDUCED LIPID PEROXIDATION IN IN VITRO CONDITIONS

Sewerynek Ewa^{1,2}, Stuss Michał¹, Oszczygieł Katarzyna², Kułak Jolanta², Lewiński Andrzej²

¹ Department of Bone Metabolism

² Chair and Clinic of Endocrinology and Metabolic Diseases, Medical University in Łódź

Melatonin (MEL), a pineal hormone, is a compound of proven antioxidative features. It may act directly, neutralising hydroxyl radical, superoxide anion radical, nitric oxide, peroxy-nitrite, and singlet oxygen, or indirectly stimulating the activities of many antioxidative enzymes. It has been demonstrated that, beside MEL, antioxidative properties may also be indicated by other indole compounds, including its precursor - N-acetylserotonin (NAC-5HT).

Goal of the study was a comparison of the antioxidative potentials of three compounds with indole structure: MEL, NAC-5HT and of 6-metoxytryptamine (6-MTX) in a model of oxidative stress induced by lipopolysaccharide in vitro.

Material and Methods: Liver, kidney and brain homogenates of Wistar rats were used in the study. A bacterial lipopolysaccharide (LPS), obtained from *Escherichia coli* (Gram (-) bacteria) in concentration of 0.4 mg/ml was used for the stimulation of lipid peroxidation. Melatonin, NAC-5HT and 6-MTX were used in the following concentrations: 0.01; 0.1; 0.5; 1.0; 2.5; 5.0 mM. Lipid peroxidation was evaluated by measurements of malondialdehyde + 4-hydroxynonenal levels by means of a Bioxytech LPO-586 kit.

Results and Conclusion: All the studied indole compounds decreased the lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation in homogenates of three examined organs in a concentration-dependent manner. In comparison with MEL, both studied compounds: NAC-5HT and 6-MTX, were characterized by a higher antioxidative potential.

S15-3 WYNIKI BADAŃ KLINICZNYCH I MOLEKULARNYCH W GRUPIE 15 PACJENTÓW Z ZESPOŁEM NOONAN

Jakub Kłapecki, Mikołaj Łaniewski-Wołk, Ewa Obersztyn, Agnieszka Szpecht-Potocka, Jerzy Bal, Tadeusz Mazurczak

Zakład Genetyki Medycznej, Instytut Matki i Dziecka, Warszawa, Polska

Cel pracy: Zespół Noonan (NS, OMIM 163950) jest chorobą genetycznie uwarunkowaną o autosomalnym dominującym toku dziedziczenia. Przyczyną zespołu są mutacje w genie PTPN11 (chromosom 12q24.1).

Celem pracy jest ocena częstości występowania mutacji u pacjentów z klinicznym rozpoznaniem NS oraz podjęcie próby korelacji genotypowo-fenotypowej w zweryfikowanych molekularnie przypadkach choroby.

Materiał i metody: Do badań molekularnych wyselekcjonowano grupę 15 pacjentów z rozpoznaniem klinicznym NS. Zastosowano następujące kryteria włączenia: charakterystyczne cechy dysmorfii, niskorosłość, wrodzona wada serca, deformacje klatki piersiowej, płetwistość szyi oraz wnetrostwo. Analiza cech klinicznych uwzględniała: dane dotyczące rozwoju pre- i postnatalnego, stwierdzone cechy dysmorficzne, oraz wady wrodzone z uwzględnieniem wyników analizy rodowodowej probanda. W celu określenia typu mutacji wykonywano sekwencjonowanie eksonów 2-15 genu PTPN11.

Wyniki: Wśród najczęściej występujących objawów NS stwierdzono: typowe dla zespołu cechy dysmorfii twarzy, w tym hiperteloryzm (100%), nisko osadzone małżowiny uszne (79%), krótką, szeroką szyję (93%), a także wady serca (93%), niskorosłość (79%) oraz deformacje klatki piersiowej (57%). Obecność mutacji w genie PTPN11 stwierdzono u 4 spośród 15 badanych chorych. W jednym przypadku mutacja została odziedziczona po matce, która wykazywała dyskretne cechy NS. Jedną z rozpoznanych mutacji c.846C>G w eksonie 7 nie była dotychczas opisywana, pozostałe dwie - c.188A>G (ekson 3) i c.1510A>G ekson 13 (przypadek rodzinny) były już opisywane.

U wszystkich chorych, nosicieli mutacji w genie PTPN11 stwierdzano typowe dla NS objawy takie jak: niskorosłość, wada wrodzona serca, szeroko rozstawione sutki, pletwistość szyi oraz pogrubiały obrąbek ucha. Zwężenie zastawki tętnicy płucnej, opisywanej jako typową dla NS wadę serca, stwierdzono tylko w jednym przypadku.

Wnioski: Wyniki badań umożliwiły molekularne potwierdzenie klinicznego rozpoznania NS u 4 spośród 15 pacjentów. Zmienność obrazu klinicznego oraz ograniczona wykrywalność mutacji w genie PTPN11 u pacjentów (w zakresie od 33-60%) nadal pozostawia otwartym problem ostatecznego, molekularno-klinicznego zdefiniowania choroby jako jednostki nozologicznej i wymaga dalszych badań.

CLINICAL AND MOLECULAR STUDIES IN 15 PATIENTS WITH NOONAN SYNDROME

Jakub Kłapecki, Mikołaj Łaniewski-WoŃk, Ewa Obersztyn, Agnieszka Szpecht-Potocka, Jerzy Bal, Tadeusz Mazurczak

Department of Medical Genetics, National Research Institute of Mother and Child, Warsaw, Poland

Aim of the study: Noonan syndrome (NS, OMIM 163950) is an autosomal dominant genetic disorder. Mutations in PTPN11 gene (chromosome 12p24.1) are responsible for NS. The aim of study was to establish the mutation detection rate and to describe the genotype-phenotype correlation of patients with clinical diagnosis of Noonan syndrome.

Material and Methods: The group of 15 patients was selected from those referred to Genetic Department with clinical diagnosis of NS. We used the following inclusion criteria for molecular testing: specific dysmorphic features, short stature, congenital heart defects, pectus deformities or pterygium colli and cryptorchidism in males. Detailed clinical evaluation, including family history, dysmorphic features, pre- and postnatal development and congenital malformations, was performed. To determine the character of mutation in PTPN11 gene, we analyzed exons 2-15 using direct sequencing.

Results: The most frequent symptoms in analyzed group of patients were: typical for NS dysmorphic features (hypertelorism (100%), low-set ears (79%), short, wide neck (93%)), congenital heart defects (93%), short stature (79%) and pectus malformations (57%). Mutation in PTPN11 gene was identified in 4 of 15 investigated patients. One mutation c.846C>G in exon 7 is novel; two others were previously reported – c.188A>G (exon 3) and c.1510A>G in exon 13 (mutation inherited from the mother showing discrete symptoms of NS). All patients with PTPN11 mutation demonstrated typical symptoms of NS, such as: short stature, congenital heart defects, widely spaced nipples, pterygium colli and thick ear helix. Pulmonary stenosis (typical for NS) was found only in one patient.

Conclusions: The results of our study enabled us to confirm clinical diagnosis of NS in 4 of 15 patients. A various clinical picture and reported mutation detection rate (ranging from 33 to 60%) in NS patients still leaves the strict molecular-clinical definition of a patient with NS open for debate and needs further investigation.

S15-4 WPLYW ANGIOTENSYNY II NA PROLIFERACJĘ KOMÓREK LINII GH3

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

Katedra Endokrynologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Wprowadzenie: Procesy proliferacji komórkowej w przednim płacie przysadki są regulowane przez różne czynniki wzrostowe aktywujące odpowiednie mechanizmy przekaźnictwa wewnątrzkomórkowego. Należą do nich m.in. kinazy aktywowane mitogenami (kinazy MAP). Angiotensyna II (ang II) reguluje procesy wzrostu i proliferacji komórkowej w różnych tkankach. Sugeruje się również udział przysadkowego układu renina-angiotensyna w indukowanej estrogenami hiperplazji przedniego płata przysadki. Jednak bezpośredni wpływ ang II na proliferację komórek prolaktynowych oraz mechanizm jej działania pozostają nieznane.

Celem naszych badań była ocena proliferacji komórek GH3 (komórki szczurzej linii guza laktosomatotropowego) pod wpływem ang II oraz próba identyfikacji receptora angiotensynowego pośredniczącego w działaniu ang II (AT1 czy AT2) i oceny ewentualnego udziału w tym procesie dwóch kinaz MAP (p44/42 i p38).

Metoda: Po 12-godzinnej preinkubacji komórki poddawano przez 72 godziny działaniu samej ang II (10^{-12} – 10^{-6} M), ang II w połączeniu z antagonistą receptora AT1 (Losartan) lub AT2 (PD123319), ang II w połączeniu z inhibitorem kinazy MAP p44/42 (PD 98059) lub kinazy p38 (SB 203580). Proliferację komórkową oceniano przy użyciu metody kolorymetrycznej opartej o wbudowywanie BrdU do DNA dzielących się komórek, a wyniki wyrażono jako procent względem kontroli.

Wyniki: Ang II zmniejsza wbudowywanie BrdU przez komórki GH3, maksymalnie w stężeniu 10^{-6} M. Na efekt ten nie ma wpływu dodanie Losartanu ani PD 123319. Antyproliferacyjne działanie ang II znoszone jest przez PD 98059 ale nie przez SB 203580.

Wnioski: Ang II wywiera antyproliferacyjne działanie na komórki GH3. Działanie to jest niezależne od receptorów AT1 i AT2 oraz od kinazy MAP p38, wymaga natomiast aktywacji kinazy MAP p44/42.

Praca finansowana z grantu KBN Nr 507-11-254

THE INFLUENCE OF ANGIOTENSIN II ON THE GH3 CELLS PROLIFERATION

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

Chair of Endocrinology, Medical University of Lodz

Introduction: The anterior pituitary cell proliferation is regulated by a variety of growth factors activating different intracellular events including mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways. Angiotensin II (ang II) affects cell growth in a number of tissues. Although pituitary renin-angiotensin system has been suggested to mediate the estrogen's growth-promoting effects on the anterior pituitary, the precise role of ang II in the control

of lactotroph proliferation and its mechanism of action remain obscure.

Aim: We studied the effect of ang II on GH3 cells (rat pituitary lactosomatotroph tumor cells) proliferation. The attempt of identification of the receptor involved in angiotensin effect and the possible role of two MAPK pathways (p44/42 and p38) in angiotensin regulatory action were undertaken.

Methods: After 12 hrs of preincubation GH3 cells underwent to 72-hrs treatment either with ang II alone or with the combination of ang II and specific AT1 or AT2 receptor antagonist (Losartan or PD 123319 respectively) or with the combination of ang II and p44/42 MAPK-kinase or p38 MAPK inhibitor (PD 98059 or SB 203580 respectively). Cell proliferation was evaluated by colorimetric assay based on the BrdU incorporation during DNA synthesis and results expressed as a percent of control.

Results: Ang II decreased BrdU incorporation into DNA of GH3 cells, maximally in the concentration 10^{-6} M. This action was affected neither by Losartan nor by PD 123319. Antiproliferative effect of ang II was abolished by PD 98059 but not by SB 203580.

Conclusion: Ang II exerts inhibitory action on the GH3 cells proliferation independently of both AT1 and AT2 angiotensin receptor and independently of the p38 MAPK pathway. Surprisingly, this effect requires activation of p44/42 MAPK pathway.

The study was supported by the grant of KBN No 507-11-254

S15-5

WPLYW MELATONINY NA UKŁAD IMMUNOLOGICZNY I ENDOKRYNNY W CZASIE OSTREGO ZAPALENIA INDUKOWANEGO PRZEZ LPS (LIPOPOLISACHARYDY) BAKTERII GRAM UJEMNYCH

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

*Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej CMKP Warszawa
Szpitalny Oddział Ratunkowy CSK MSWiA Warszawa

Melatonina jest hormonem wydzielanym przez szyszynkę mającym wpływ nie tylko na dobowy rytm snu i czuwania ale także odrywającym istotną rolę w modulacji układu immunologicznego i endokrynnego.

Cel. Ocena wpływu melatoniny na wydzielanie cytokin prozapalnych (TNF- α i IL-6) i przeciwzapalnych (IL-10) i uwalnianie hormonów przysadkowych, tarczycowych i nadnerczowych w warunkach ostrego zapalenia wywołanego przez LPS bakterii Gram ujemnych.

Materiał. Szczury samce rasy Wistar-Kyoto podzielono na 3 grupy. Poszczególne grupy zwierząt otrzymywały odpowiednio: (0,9% NaCl), LPS, oraz melatoninę i LPS. Po 2 godz. oznaczano w surowicy stężenie TNF- α i IL-6, a po 4 godz. IL-10 (metodą ELISA). Poziomy hormonów przysadkowych, nadnerczowych, tarczycowych oznaczano w surowicy po 2 i 4 godz. (metodą RIA).

Wyniki. Podanie LPS powodowało wzrost wydzielania kortykosteronu po 2 i 4 godzinach ($p < 0,01$, $p < 0,01$ odpow-

wiednio), obniżenie T_3 , T_4 i TSH oraz LH, FSH, PRL. LPS stymulował wydzielanie IL-6 i TNF- α po 2 godz. ($p < 0,001$, $p < 0,001$ odpowiednio) oraz IL-10 po 4 godz. ($p < 0,001$).

Podanie łącznie LPS i melatoniny w stosunku do grupy otrzymującej tylko LPS spowodowało wzrost poziomu T_4 i T_3 po 2 godz. ($p < 0,05$, $p < 0,05$ odpowiednio) i obniżenie T_4 i T_3 po 4 godz. ($p < 0,05$, $p < 0,05$ odpowiednio) przy niezmiennym wydzielaniu TSH oraz wzrost stężenia IL-10 po 4 godz. ($p < 0,05$)

Wnioski. Melatonina moduluje odpowiedź układu immunologicznego i endokrynnego w warunkach ostrego zapalenia. Brak zmian w zakresie TSH i obserwowane zmiany T_3 i T_4 mogą sugerować bezpośredni wpływ melatoniny na gruczoł tarczycowy.

THE INFLUENCE OF MELATONIN ON IMMUNE AND HORMONAL RESPONSES DURING LPS INDUCED ACUTE INFLAMMATION

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

*Neuroendocrinology Department Medical Centre of Postgraduate Education Warsaw, Poland
Emergency Department Central Clinical Hospital Ministry of Home Affairs & Adm. Warsaw, Poland

Melatonin is a hormone produced by pineal gland which plays an important role not only in control diurnal sleep-wake cycle but also can modulate immune and endocrine systems.

Aim. The aim of this study was to estimate the effects of melatonin administration on proinflammatory and anti-inflammatory cytokines and pituitary, thyroid and adrenal hormones in response to LPS-induced acute inflammation in male Wistar-Kyoto rats.

Methods. Male rats Wistar-Kyoto were divided into 3 groups, which received respectively: (0.9% NaCl), LPS, and melatonin with LPS. The TNF- α and IL-6 serum concentrations were measured after 2 hrs. and IL-10 after 4 hrs. (ELISA tests). The pituitary, thyroid and adrenal hormones serum concentrations were measured after 2 and 4 hrs. (RIA tests).

Results. LPS administration increased corticosterone after 2 and 4 hrs ($p < 0.01$, $p < 0.01$ respectively) and decreased T_3 , T_4 , TSH, LH, FSH and PRL serum concentrations. LPS stimulated secretion of IL-6 and TNF- α after 2 hrs ($p < 0.001$, $p < 0.001$ respectively) and IL-10 after 4 hrs ($p < 0.001$)

Group receiving LPS and melatonin simultaneously compared with group receiving only LPS showed increasing of T_3 and T_4 serum concentrations after 2 hrs ($p < 0.05$, $p < 0.05$ respectively) and decreasing of T_3 and T_4 after 4 hrs ($p < 0.05$, $p < 0.05$ respectively) as well as showed stimulation of IL-10 secretion after 4 hrs ($p < 0.05$). There were no changes in TSH serum concentration.

Conclusions. Melatonin can modulate immune and endocrine responses during acute inflammation. Lack of changes in serum TSH concentration may suggest direct influence of melatonin on thyroid gland during acute inflammation.

S15-6

WPLYW GENISTEINY, RESVERATROLU I 8-PRENYLNARINGENINY NA PRODUKCJĘ INTERFERONU- γ ORAZ INTERLEUKINY-10 PRZEZ AKTYWOWANE IN VITRO SPLENOCYTY MYSIE

Dominik Rachoń^{1,2}, Guillermo Rimoldi², Wolfgang Wuttke²

¹ Zakład Immunologii, Akademia Medyczna w Gdańsku, ul. Dębinki 1, 80 210 Gdańsk

² Zakład Endokrynologii Klinicznej i Doświadczalnej, Uniwersytet w Getyndze, Robert-Koch Strasse 40, 37-075 Getynga, Niemcy

Wstęp: Fitoestrogeny stanowią grupę biologicznie aktywnych związków pochodzenia roślinnego, których przestrzenna struktura chemiczna zbliżona jest do 17 β -estradiolu (E2). Ponieważ receptory estrogenowe obecne są także na komórkach układu immunologicznego, fitoestrogeny mogą mieć także duży wpływ na odporność. Komórki T-pomocnicze (Th) odgrywają dużą rolę w utrzymaniu prawidłowej homeostazy układu odpornościowego. Komórki Th1, poprzez produkowanie określonych cytokin prozapalnych (np. TNF, IL-2, IFN γ , IL-12) pobudzają rozwój nieswoistej i swoistej odpowiedzi komórkowej. Z kolei komórki Th2 poprzez produkcję określonych cytokin o działaniu przeciwzapalnym (np. IL-4, IL-5, IL-10) pobudzają produkcję immunoglobulin i rozwój nabytej odpowiedzi humoralnej. Zaburzenie równowagi Th1/Th2 ma duży wpływ na rozwój i przebieg różnych chorób zakaźnych, alergicznych oraz autoimmunizacyjnych jak również nowotworowych.

Celem naszej pracy była ocena wpływu genisteiny, resweratrolu oraz 8-prenylnaringeniny (8-PN) na równowagę Th1/Th2 poprzez zbadanie ich wpływu na produkcję interferonu- γ (IFN γ) oraz interleukiny-10 (IL-10) – cytokin reprezentujących odpowiednio subpopulacje Th1 i Th2, przez stymulowane splenocyty mysie.

Materiał i metody: Po wyizolowaniu splenocytów ze śledzion sześciu myszy C-57, komórki hodowano na 48-dobkowych płytkach i stymulowano PMA (12-miristate 13-acetate) (5ng/ml) oraz ionomycyną (50ng/ml) w obecności różnych stężeń (10⁻⁸ – 10⁻⁶M) badanych fitoestrogenów lub E2. Po 36 godzinnej inkubacji zbierano nadsącze, w których następnie metodą immunoenzymatyczną (Biosource, Belgium) oznaczano poziomy IFN γ oraz IL-10.

Wyniki: Genisteina w stężeniach 10⁻⁶M i 10⁻⁷M oraz resweratrol w stężeniach 10⁻⁶M znacząco zmniejszały stosunek IFN γ /IL-10. Efekt ten był porównywalny do działania E2 w stężeniu 10⁻⁷M. 8-PN nie wykazywała wpływu na stosunek IFN γ /IL-10.

Wnioski: Wyniki naszych badań sugerują, iż podobnie jak E2, fitoestrogeny posiadają także właściwości immunomodulacyjne.

IN VITRO EFFECTS OF GENISTEIN, RESVERATROL AND 8-PRENYLNARINGENIN ON THE PRODUCTION OF INTERFERON- γ AND INTERLEUKIN-10 BY ACTIVATED MURINE SPLENOCYTES

Dominik Rachoń^{1,2}, Guillermo Rimoldi², Wolfgang Wuttke²

¹ Department of Immunology, Medical University of Gdańsk, ul. Dębinki 1, 80-210 Gdańsk, Poland

² Department of Clinical and Experimental Endocrinology, University of Göttingen, Robert-Koch-Strasse 40, 37-075 Göttingen, Germany

Introduction: Phytoestrogens are a group of biologically active plant derived substances with a chemical structure that is similar to that of 17 β -oestradiol (E2). As the presence of oestrogen receptors has been identified in several immune cells, phytoestrogens may also have a great impact on immunity. T-helper (Th) cells are important for the homeostasis of the immune system. Th1 lymphocytes, by producing a certain panel of proinflammatory cytokines (i.e. TNF, IL-2, IFN γ , IL-12) stimulate the innate and acquired cellular response. In contrast, Th2 cells produce anti-inflammatory cytokines (i.e. IL-4, IL-5, IL-10) which enhance the production of immunoglobulins, thus stimulating the development of acquired humoral response. An imbalance in the relative numbers or/and activity of these Th cell subpopulations may affect the state and progression of several diseases, including infectious, allergic and auto-immune disorders, but also cancer.

The aim of our study was to determine the effects of phytoestrogens on the Th1/Th2 balance by studying the in vitro effects of: genistein, resveratrol and 8-prenylnaringenin (8-PN), on the production of interferon- γ (IFN γ) and interleukin-10 (IL-10) – representing Th1 and Th2 type response respectively, by stimulated murine splenocytes.

Materials and methods: After isolation of murine splenocytes from six spleens of C-57 mice, cells were cultured on 48 well plastic plates and stimulated with 12-miristate 13-acetate (PMA) (5ng/ml) and ionomycin (50ng/ml) in the presence of different concentrations (10⁻⁸ – 10⁻⁶M) of the studied substances or E2. After 36h of incubation the supernatants were collected and the levels of IFN γ and IL-10 were measured using immunoenzymatic assay (Biosource, Belgium). The IFN γ /IL-10 ratio was estimated as an index of the Th1/Th2 profile.

Results: Genistein at the concentrations of 10⁻⁶M and 10⁻⁷M and resveratrol at the concentrations of 10⁻⁶M decreased significantly the IFN γ /IL-10 ratio. This decrease was comparable to that of E2 at the concentrations of 10⁻⁷M. 8-PN had no effect on the IFN γ /IL-10 ratio.

Conclusions: Our results clearly show that phytoestrogens may possess several immunomodulatory effects some of which resemble those of E2.

S15-7

WPLYW AGONISTÓW RECEPTORÓW OPIOIDOWYCH I LEKTYNOWYCH NA IN VITRO WYDZIELANIE GRELINY Z GRUCZOLAKA PROSTATY U LUDZI

Krystyna Pierzchała-Koziec¹, Bohdan Pawlicki², Joanna Zubeł¹, Henryk Lach³

¹ Katedra Fizjologii Zwierząt, Akademia Rolnicza, Kraków

² Szpital im.G. Narutowicza, Kraków

³ Zakład Fizjologii Zwierząt, Instytut Biologii, Akademia Pedagogiczna, Kraków

Cel pracy: Określenie wpływu morfiny, agonisty receptorów opioidowych, i iskadoru, lektyny o antynowotworowo-

wym działaniu, na in vitro wydzielanie greliny z gruczolaka prostaty u ludzi.

Materiał i metody: Gruczoł pobrany podczas rutynowego zabiegu podzielono na skrawki, które inkubowano w buforze Krebsa napowietrzanym O₂ i CO₂ przez dwie godziny. Wydzielanie greliny było analizowane w obecności 30mM K⁺, 100nM morfiny, greliny lub iscadoru Q. Koncentracja greliny była mierzona radioimmunologicznie w medium zbieranym przez 20 min oraz w zhomogenizowanej tkance.

Wyniki: Podstawowe wydzielanie greliny z tkanki gruczolaka wynosiło 2172±325 pg/g tkanki/20min i było istotnie zwiększone przez morfinę do 4029±276 pg/g tkanki/20min (86%, P<0,001). Niespodziewanie, iscador Q zwiększył wydzielanie immunoreaktywnej greliny o 625%; wzrost z poziomu podstawowego 2526±189 do 18302±1234 pg/g tkanki/20min (P<0,001). W przeciwieństwie do tego, 100nM egzogennej greliny nie zmieniło stopnia wydzielania immunoreaktywnej greliny (podstawowe-2865±168, po stymulacji-2550±202 pg/g tkanki/20min, P>0.05). Koncentracja immunoreaktywnej greliny w ludzkiej prostaty z gruczolakiem wynosiła 1856±166 ng/g tkanki, zatem stosunek wydzielonej greliny do jej koncentracji wahał się od 0,13% (podstawowe) do 0,22% (po morfinie) i do 1% po dodaniu iscadoru Q.

Wnioski: Morfina i iscador Q zmieniły wydzielanie greliny co może sugerować, iż grelina wpływa na rozwój gruczolaka prostaty u ludzi poprzez receptory błonowe, podobnie jak opioidy i lektyny.

Słowa kluczowe: gruczolak prostaty, grelina, morfina, iscador

Finansowane przez PBZ-KBN-084/PO6/2002/3.10

THE EFFECT OF OPIOID AND LECTIN RECEPTOR AGONISTS ON THE IN VITRO GHRELIN RELEASE FROM THE HUMAN PROSTATE NEOPLASMS

Krystyna Pierzchała-Koziec¹, Bohdan Pawlicki², Joanna Zubel¹, Henryk Lach³

¹ Department of Animal Physiology, Agricultural University, Cracow

² Narutowicz Memorial Hospital, Cracow

³ Department of Animal Physiology, Institute of Biology, Pedagogical University, Cracow

Aim of the study was to observe the effect of morphine, an opioid receptor agonist, and iscador, lectin with anti-tumor abilities, on the in vitro ghrelin release from the human prostate with benign hyperplasia.

Material and Methods: Tissues removed under routine procedure were sliced and superfused with Krebs-bicarbonate/O₂ for 2 hours. Ghrelin release was analyzed in the presence of 30mM K⁺, 100nM of morphine, ghrelin or iscador Q. The ghrelin concentration was measured by RIA in the perfusates collected at 20 min intervals and in the supernatant of tissues.

Results: Basal release of ghrelin from the tumour tissue was 2172±276 pg/g tissue/20min (86%, P<0.01). Unexpectedly, iscador Q stimulated the in vitro secretion of immunoreactive ghrelin by 635%; increase from basal level of

2526±189 to 18302±1234 pg/g tissue/20min (P<0.001). In contrast, 100nM of exogenous ghrelin did not affected the secretion degree of ghrelin (change from 2865±168 to 2550±202 pg/g tissue/20min, P>0.05). The concentration of immunoreactive ghrelin in human prostate with benign neoplasia was 1856±166 ng/g tissue, so the ratio of ghrelin secreted to ghrelin concentration fluctuated from 0.13% (basal) to 0.22% (after morphine) and to 1% after iscador Q treatment.

Conclusions: Morphine and iscador Q changed the ghrelin release what may suggest that ghrelin plays role in the development of the human benign prostate neoplasia probably by the cell membrane receptors similarly to opioids and lectins.

Key words: prostate benign neoplasia, ghrelin, morphine, iscador

Supported by Solicitd Project PBZ-KBN-084/PO6/2002/3.10

S15-8

WPLYW VIP I PACAP 38 NA WYDZIELANIE PROGESTERONU (PROG) I ALDOSTERONU (ALDO) U SZCZURZYC PO OWARIEKTOMII (OVX) ORAZ U SAMCÓW SZCZURÓW PO ODWODNIENIU

Wasilewska-Dziubińska Elżbieta, Wolińska-Witort Ewa, Martyńska Lidia, Chmielowska Magdalena, Bik Wojciech, Tadeusiak Wiesław * i Baranowska Bogusława.

Zakład Neuroendokrynologii Klinicznej CMKP Warszawa
Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii CMKP Warszawa

Naczynioruchowy peptyd jelitowy (VIP) odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy sodowej. Progesteron działa przeciwstawnie do mineralokortykoidów poprzez wpływ na cewki nerkowe prowadząc do zwiększonego wydalania sodu z moczem. W naszych wcześniejszych badaniach wykonanych na OVX samicach i samcach szczurów stwierdziliśmy, wzrost poziomu PROG po dożylnym podaniu VIP a efekt ten nie występował po podaniu PACAP 38 szczurzycom OVX.

Cel. Celem pracy była ocena wpływu VIP i PACAP 38 na wydzielanie PROG i ALDO u owariektomizowanych (OVX) szczurzy i samców szczurów w warunkach odwodnienia.

Materiał. Eksperymenty przeprowadzono na OVX szczurzych i samcach szczurach w warunkach kontrolnych i po 24 godz. odstawienia wody pitnej (odwodnienie hiperosmotyczne). Poszczególne grupy zwierząt otrzymywały dożylnie 0.9% NaCl, VIP, PACAP 38. W surowicy oznaczano stężenie PROG, ALDO sodu, potasu i osmolalność.

Wyniki. W grupach zwierząt odwodnionych w stosunku do grup kontrolnych stwierdzono wzrost osmolalności i stężenie sodu w surowicy przy braku zmian w stężeniach potasu. Stężenie PROG i ALDO było wyższe w grupach szczurzy OVX i szczurów samców po odwodnieniu. U obu płci podanie VIP spowodowało wzrost stężenia ALDO i brak zmian w stężeniu PROG. Podanie PACAP 38 w tym modelu doświadczalnym nie powodowało zmian wydzielania ALDO i PROG.

Wnioski. Wydzielanie PROG i ALDO u odwodnionych i OVX szczurzy i szczurów samców jest zależne od stężenia sodu w surowicy. U odwodnionych zwierząt tylko VIP stymulował wydzielanie ALDO.

THE EFFECTS OF VIP AND PACAP 38 ON PROGESTERONE (PROG) AND ALDOSTERONE (ALDO) RELEASE IN DEHYDRATED OVARIECTOMIZED (OVX) RATS AND MALE RATS

Wasilewska-Dziubińska Elżbieta, Wolińska-Witort Ewa, Martyńska Lidia, Chmielowska Magdalena, Bik Wojciech, Tadeusiak Wiesław and Baranowska Bogusława.*

*Department of Clinical Neuroendocrinology Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw, Poland
* Department of Anaesthesiology and Critical Care Medicine of Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw, Poland*

Introduction. Neuropeptide VIP appears to participate in sodium homeostasis. It is known that PROG antagonized mineralocorticoid action at the renal tubular level leading to natriuresis. In our earlier experiments performed on OVX rats and male rats we observed that in response to iv administration of VIP serum PROG level was increased but it was unaffected by PACAP 38 in OVX rats.

The aim of this study was to estimate the influence of VIP and PACAP 38 on PROG and ALDO secretion in dehydrated OVX rats and male rats.

Material and Methods. The experiments were performed on euhydrated and water deprived (hyperosmotic hypovolemia) OVX rats and male rats in which 0,9 % NaCl, VIP and PACAP 38 were injected iv. Serum concentrations of PROG, ALDO, sodium, potassium and osmolality were determined.

Results. An increase of serum osmolality and sodium concentration without changes in potassium concentration was observed after 24h water deprivation in comparison with control conditions. Serum PROG and ALDO concentrations were increased in dehydrated OVX rats and male rats. In all water deprived rats after VIP administration the increased of ALDO was observed without change of PROG concentration. In the same experimental conditions PACAP 38 administration did not influenced PROG and ALDO release.

Conclusions. The release of PROG and ALDO in OVX rats and male rats is dependent on serum sodium concentration. In dehydrated rats VIP but not PACAP 38 stimulated ALDO secretion.

S-16

Tarczycza 4

*Przewodniczący sesji:
Maria Górską, Jan Komorowski*

Doniesienia ustne

S16-1

DIAGNOSTYKA MOLEKULARNA PRZERZUTÓW ZRÓŻNICOWANEGO RAKA TARCZYCY DO WĘZŁÓW CHŁONNYCH: EKSPRESJA TYREOGLOBULINY I GALEKTYNY

¹Elżbieta Gubała, ¹Agnieszka Pawlaczek, ¹Małgorzata Kowalska³, Ewa Chmielik, ¹Aleksandra Kukulska, ¹Daria Handkiewicz-Junak, ²Marcin Zeman³, ¹Aleksandra Krawczyk, ¹Joanna Ożóg

¹ Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej

² Klinika Chirurgii Onkologicznej

³ Zakład Patologii Nowotworów Centrum Onkologii, Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział Gliwice

Cel pracy: Wykrywania ekspresji genu dla tyreoglobuliny (Tg) techniką PCR może stanowić badanie uzupełniające klasyczne badanie cytologiczne. Jednak ze względu na nieswoisty charakter tyreoglobuliny dla różnicowania między rakiem tarczycy a chorobami łagodnymi, uzasadnione jest badanie kilku markerów przy podejrzeniu przerzutów do węzłów chłonnych. Dlatego celem pracy była ocena przydatności oznaczania mRNA Tg i mRNA Gal-3 (galektyna 3) dla wczesnego wykrywania przerzutów ZRT do węzłów chłonnych szyi.

Materiał i metodyka: Badaniem objęto 285 chorych na ZRT (412 węzłów chłonnych). Grupę kontrolną stanowiło 70 chorych na inne nowotwory. Reakcję RT-PCR wykonywano z materiału pozostającego w igle po wykonaniu tradycyjnego rozmazu cytologicznego. Kontrolę izolacji RNA i amplifikacji cDNA przeprowadzano stosując startery dla GADPH. Obecność mRNA oceniano dla tyreoglobuliny stosując startery obejmujące eksony 3-5 i 39 cykli reakcji. Równoczesną ekspresję Gal-3 badaliśmy metodą QPCR w 80 przypadkach.

Wyniki: W pierwszym badaniu cytologicznym rozpoznano przerzuty do węzłów chłonnych u 104 chorych na ZRT. W 102 przypadkach wykonane równoległe badanie RT-PCR dla Tg dało wynik dodatni. Badanie to było również dodatnie w 16 innych przypadkach, w których wynik badania cytologicznego był ujemny. Te wyniki traktowano początkowo jako wyniki fałszywie dodatnie. W toku dalszej obserwacji u 6 chorych rozpoznano przerzuty do węzłów chłonnych, przy czym prawdziwie dodatni wynik badania RT-PCR wyprzedzał cytologiczne rozpoznanie przerzutu o 5-20 miesięcy. U pozostałych 10 chorych dotychczasowa obserwacja, trwająca do 24 miesięcy, nie wskazuje na wznowę raka. Nie uzyskaliśmy dodatnich wyników RT-PCR dla Tg w grupie osób chorych na inne nowotwory niż ZRT.

Czułość RT-PCR dla Tg określono wobec badania cytologicznego na 96 % (108/110), swoistość na 95 % (292/302), a wartość przewidywania dodatniego wynosi 38 %. Dotychczasowe wyniki wskazują, że analiza Gal-3 zwiększy siłę predykcyjną badania molekularnego.