

mijając przeciwciała pierwotne. W 20 przypadkach, w których nie stwierdzono nieprawidłowych komórek nabłonka płaskiego odczyn z p16INK4a był ujemny. Dodatkowo odczyn immunocytochemiczny wykazano natomiast 21 z 24 przypadków ze zmianami śródnabłonkowymi (SIL) nabłonka płaskiego ($p < 0,001$): w 7 z 10 przypadków, w których stwierdzono zmiany o charakterze LSIL oraz we wszystkich 14 przypadkach HSIL.

Wniosek: Białko p16INK4a może być markerem śródnabłonkowych zmian nabłonka płaskiego (SIL) szyjki macicy.

239.

OCENA EFEKTU PRZECIWNOWOTWOROWEGO GENETYCZNIE MODYFIKOWANEJ SZCZEPIONKI KOMÓRKOWEJ W MYSIM MODELU RAKA NERKI

Wysocki PJ, Kowalczyk DW, Grabarczyk P, Mackiewicz-Wysocka M, Dams-Kozłowska H, ¹Rose-John S, Mackiewicz A.

Zakład Immunologii Nowotworów AMiKM, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu; ¹Dept. of Biochemistry, University of Kiel, Germany

Cel: Genetycznie modyfikowane szczepionki komórkowe (GMTV) mają za zadanie indukcję efektywnej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Postanowiliśmy ocenić efekt protekcyjny dwóch różnych GMTV w mysim modelu raka jasnokomórkowego nerki, oraz rolę komórek dendrytycznych w fazie indukcji przeciwnowotworowej odpowiedzi komórkowej.

Metody: Przy wykorzystaniu wektorów retrowirusowych DCCMV-IRES-Neo-H-6 oraz DCCMV-IRES-Neo-IL-6 wprowadzono do komórek mysiego raka jasnokomórkowego (RenCa) skonstruowano dwa rodzaje GMTV: (i) Komórki RenCa wykazujące ekspresję genu Interleukiny-6, (ii) komórki RenCa wykazujące ekspresję genu Hyper-Interleukiny-6 (sztuczna cytokina będąca białkiem fuzyjnym składającym się z IL-6 powiązanej sztucznym linkerem z agonistycznym rozpuszczalnym receptorem) W celu oceny efektu protekcyjnego GMTV, myszy Balb/c w wieku

8-12 tygodni (8 osobników w jednej grupie eksperymentalnej) immunizowano podając podskórną w lewe udo, 1×10^6 naświetlonych (80Gy) komórek (RenCa w/t, RenCa-IL-6, RenCa-H6). Po 14 dniach myszom podawano podskórną w prawe udo wyjściowe komórki RenCa w/t w ilości 5×10^5 . Następnie oceniano dynamikę pojawiania się guzów oraz kinetykę ich wzrostu. W celu oceny mechanizmów indukcji odpowiedzi immunologicznej postanowiono ocenić in situ wpływ poszczególnych rodzajów GMTV na komórki dendrytyczne. Myszy Balb/c otrzymywały w okolicy śródbrzusza, podskórną 2×10^6 napromienionych (80Gy) komórek RenCa w/t, RenCa-IL-6, RenCa H-6 zawieszonych w Matrigelu™. Po 7 dniach przy pomocy cytometru przepływowego analizowano komórki naciekające Matrigel.

Wyniki i podsumowanie: Immunizacja myszy komórkami RenCa-H6 okazała się najbardziej efektywna w porównaniu do komórek RenCa w/t i RenCa-IL-6. Jakkolwiek nie przeciwdziałała wzrostowi guzów. Aktywowane komórki DC naciekały najsilniej komórki RenCa-H6. Efekt protekcyjny wyraźnie korelował z ilością aktywowanych komórek DC naciekających miejsce podania GMTV. Intensywna infiltracja miejsca podania GMTV przez komórki DC o wysokim poziomie aktywacji wskazuje na silną rolę Hyper-Interleukiny-6 w procesie indukcji funkcjonalnej przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej.

240.

MYSI MODEL MAŁOPŁYTKOWOŚCI INDUKOWANEJ CHEMIOTERAPIĄ

Wysocki P.J., Karczewska-Dzionk A., Mackiewicz A.

Zakład Immunologii Nowotworów Akademii Medycznej, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

Wstęp: Supresja układu krwiotwórczego jest jednym z najpoważniejszych efektów ubocznych różnych strategii chemioterapii. W wielu przypadkach nasilenie działań niepożądanych uniemożliwia osiągnięcie odpowiedniego stężenia leku, a w konsekwencji, skuteczną i całkowitą eliminację

komórek nowotworowych. Aktualnie w celu przeciwdziałania niedokrwistości z dobrym skutkiem stosuje się erytropoetynę, a w przeciwdziałaniu neutropenii rekombinowane białka G-CSF i GM-CSF. Nadal jednak bardzo problematyczne jest zapobieganie małopłytkowości indukowanej chemioterapią. Od wielu lat na świecie prowadzi się badania nad preparatami mogącymi skutecznie zapobiegać temu zjawisku (IL-11, MGDF). Jednak większość tych badań znajduje się jeszcze w stadium eksperymentalnym opartym o tzw. zwierzęce modele przedkliniczne. W naszym ośrodku w najbliższym czasie planujemy przeprowadzenie analiz efektywności tzw. sztucznych cytokin (Hyper-IL6, Hyper-H11) jako profilaktyki małopłytkowości jatrogennej.

Cel: Opracowanie i ocena mysiego modelu małopłytkowości indukowanej chemioterapią.

Materiały i metody: Myszy szczepu Balb/c, samice w wieku 8-12 tygodni. W dniu 0 myszy otrzymywały w iniekcji dootrzewnowej 125 mg/ kg m.c. karboplatyny w 0,25ml PBS. Codziennie pomiędzy 1 a 21 dniem, od 4 zwierząt przy użyciu kapilary z EDTA pobierano krew z zatoki oczodołowej. Parametry morfologiczne oceniano przy użyciu aparatu laboratoryjnego Abbott Cell-dyn 3700.

Wyniki: Dootrzewnowe podanie Karboplatyny nie miało charakteryzowało się obniżeniem przeżywalności zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną. Od 6 dnia po podaniu leku obserwowano gwałtowny spadek ilości płytek krwi. Najniższe wartości obserwowano około 11 dnia. Począwszy od 13 dnia liczba płytek krwi stopniowo się zwiększała, powracając do wartości prawidłowych 19 dnia.

Wnioski: Karboplatyna 125mg/kg mc indukuje przejściową małopłytkowość (pomiędzy 7 a 18 dniem) z ilością płytek we krwi obwodowej zredukowaną o 80%. Proces małopłytkowości indukowanej karboplatyną jest wygodnym i powtarzalnym modelem zwierzęcym, który umożliwia łatwą ocenę skuteczności różnych strategii terapeutycznych

241.

WPŁYW NAPROMIENIANIA NA FENOTYP KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH

Wysocki P.J., Karczewska-Dzionk A., Mackiewicz-Wysocka M., Mackiewicz A.

¹Zakład Immunologii Nowotworów, Akademia Medyczna, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu, ²Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Wstęp: Komórki dendrytyczne (DC) są najbardziej wydajnymi komórkami prezentującymi antygen (APC). DC zlokalizowane w tkankach obwodowych są niedojrzałe a ich rolą jest gromadzenie antygenów. Proces dojrzewania DC może być indukowany przez wiele różnych czynników działających jako tzw. „sygnał niebezpieczeństwa”. Takimi czynnikami są m.in. lipopolisacharyd (LPS), ciała apoptotyczne, białka szoku termicznego (HSP), aktywowane limfocyty pomocnicze (Th) wykazujące ekspresję na swojej powierzchni cząsteczek CD40L oraz cytokiny. Na powierzchni dojrzałych DC występuje duża ilość tzw. cząsteczek kostymulujących, które umożliwiają DC aktywację efektorowych limfocytów cytotoksycznych.

Cel: Ocena wpływu napromieniania na ekspresję cząsteczek kostymulujących na powierzchni DC in vitro.

Materiały i metody: Ustalona linia komórkowa JawsII (DC wyprowadzona z monocytów). Komórki JawsII zawieszono w medium hodowlanym napromieniano dawką 80Gy w ciągu 50 minut. Po 24 godzinach inkubacji przy wykorzystaniu komercyjnie dostępnych przeciwciał monoklonalnych (anty-CD11c, -CD40, -CD54, -CD80, -CD86, -MHCI, -MHCI) znakowano kontrolne oraz napromienione komórki JawsII. Analizę ekspresji cząsteczek kostymulujących wykonano przy użyciu cytometru przepływowego Coulter EPICS XL oraz oprogramowania WinMDI.

Wyniki: Napromienione komórki DC wykazują istotnie wyższą ekspresję cząsteczek kostymulujących w porównaniu do linii kontrolnej. Napromienione komórki JawsII charakteryzują się również wyższym stopniem dojrzałości (wzrost eks-