

ZESZYTY NAUKOWE TOWARZYSTWA DOKTORANTÓW
UNIwersytetu Jagiellońskiego

RADA NAUKOWA

PRZEWODNICZĄCY RADY NAUKOWEJ
PROF. DR HAB. WOJCIECH NOWAK
REKTOR UNIwersYTETU JagIELLOŃskiego

PROF. HUGH J. BYRNE
FOCAS RESEARCH INSTITUTE, DUBLIN INSTITUTE OF TECHNOLOGY

PROF. DR HAB. MARIA FLIS
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. TADEUSZ GADACZ
UNIwersYTET PEDAGOGICZNY W KRAKOWIE

PROF. DR HAB. KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. ANDRZEJ KOTARBA
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. MARTA KUDELSKA
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. TOMASZ MACH
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. ANDRZEJ MANIA
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. KAROL MUSIOŁ
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. JACEK SKŁADZIEN
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. LESZEK SOSNOWSKI
UNIwersYTET JagIELLOŃski

PROF. DR HAB. BOGDAN SZLACHTA
UNIwersYTET JagIELLOŃski

ZESZYTY NAUKOWE TOWARZYSTWA DOKTORANTÓW
UNIwersYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

NAUKI ŚCISŁE

NUMER 8 (1/2014)

KONFERENCJA DOKTORANTÓW
COLLEGIUM MEDICUM UJ
29–30 MAJA 2014 ROKU, KRAKÓW

TOM POD REDAKCJĄ
ANNY BOGDALI I BARTŁOMIEJA JAŁOCHY



KRAKÓW 2014

Zeszyty Naukowe Towarzystwa Doktorantów UJ
ul. Straszewskiego 25/3, 31-113 Kraków

Redaktor naczelny:
Marcin Lubecki

Zastępca redaktora naczelnego:
Rafał Kur

Sekretarz redakcji:
Rafał Opulski

Redaktor prowadząca serii:
Klaudyna Śpiewak

Redaktorzy tomu:
Anna Bogdali, Bartłomiej Jałocha

Komitet naukowy / Recenzenci:
prof. dr hab. Katarzyna Kieć-Kononowicz,
prof. dr hab. Tomasz Mach,
prof. dr hab. Maria Chomyszyn-Gajewska,
prof. dr hab. Renata Jachowicz,
prof. dr hab. Marcin Majka,
dr hab. Rafał Olszanecki, prof. UJ,
dr hab. Jan Bilski,
dr hab. Marek Kuźniewski,
dr hab. Elżbieta Pękała,
dr hab. Magdalena Strus,
dr hab. Jerzy Tomik,
dr hab. Piotr Wałęga

Korekta:
Artur Jewuła

Projekt i przygotowanie okładki:
Szymon Drobnik, Rafał Kur

Obsługa strony internetowej:
Damian Marchewka, Rafał Kur

Współpraca wydawnicza:
Wydawnictwo Nowa Strona

Numer czasopisma finansowany ze środków Towarzystwa Doktorantów UJ
oraz Collegium Medicum UJ

© Copyright by Zeszyty Naukowe Towarzystwa Doktorantów UJ
All rights reserved
Wydanie I, Kraków 2014

e-ISSN 2082-3827
p-ISSN 2084-977X

SPIS TREŚCI

Wykłady specjalne

Józef Dula k	9
Komórki macierzyste: możliwości, nadzieje, nieporozumienia	
Krzysztof J ó ź w i a k	11
Rola przypadku w badaniach naukowych	
Agnieszka Ł o b o d a	12
Rola mikroRNA oraz czynnika transkrypcyjnego Nrf2 i zależnej od niego oksygenazy hemowej-1 w chorobach nerek	
Joanna M a j e r c z a k	14
Wskaźniki wydolności fizycznej człowieka i ich zmiana w wyniku regularnej aktywności fizycznej	
Henryk S k a r ż y ń s k i	16
Znaczenie drogi słuchowej w rozwoju współczesnego społeczeństwa	
S e s j a k o n k u r s o w a	19
Aktualne kierunki chemii medycznej w badaniach polskich doktorantów	
A b s t r a k t y	33
A b s t r a k t y – s u p l e m e n t	231

Suplement

Dominika Szot	251
Pozyskiwanie barwników betalainowych z biomasy dla celów przemysłu spożywczego	
Dominika Szot, Karolina Starzak, Anna Skopińska, Sławomir Wybraniec	265
Reduction of Selected Betacyanins	

WYKŁADY SPECJALNE

JÓZEF DULAK

KOMÓRKI MACIERZYTE: MOŻLIWOŚCI, NADZIEJE, NIEPOROZUMIENIA

AFILIACJA: Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Komórki macierzyste mają zdolność różnicowania się w komórki wyspecjalizowane do pełnienia określonych funkcji oraz odtwarzania samych siebie. Komórki macierzyste pluripotencjalne mogą dać początek wszystkim komórkom organizmu, komórki multipotencjalne różnicują do komórek jednej tkanki, na przykład macierzyste komórki hematopoetyczne szpiku do komórek krwi, zaś komórki unipotencjalne, inaczej progenitorowe, jak na przykład komórki satelitarne mięśni szkieletowych, tworzą tylko jeden typ komórek. Komórkami pluripotencjalnymi są zarodkowe komórki macierzyste (ESC – ang. *embryonic stem cells*) oraz komórki indukowane, znane jako iPSCs (ang. *induced pluripotent stem cells*). iPSC uzyskiwane są poprzez reprogramowanie komórek zróżnicowanych, najczęściej fibroblastów, osiągane zazwyczaj poprzez wprowadzenie dodatkowych kopii odpowiednich genów. Badania będące podstawą tej metody zostały w roku 2012 zwieńczone nagrodą Nobla dla sir Johna Gurdon a i Shin'ya Yamanakiego.

Dowodem na możliwości regeneracyjne komórek macierzystych są przede wszystkim przeszczepy komórek szpiku kostnego w leczeniu białaczek, niedoborów odporności czy niedokrwistości. Duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem komórek pluripotencjalnych. Zastosowanie tych komórek rodzi jednak szereg problemów zarówno etycznych, jak i praktycznych. Także próby szybkiej komercjalizacji niepotwierdzonych metod rodzą uzasadnione wątpliwości.

W dyskusji nad zastosowaniami komórek macierzystych stwierdza się, iż konieczny jest umiar w promowaniu możliwości niepotwierdzonych często badań. Konieczne jest lepsze poznanie biologii komórek macierzystych, co pozwoli wykorzystać je nie tylko w medycynie regeneracyjnej, ale także do badania mechanizmów chorób i opracowania nowych leków.

BIBLIOGRAFIA:

1. „Postępy Biochemii”, zeszyt specjalny nr 2/2013, red. M. A. Ciemerych-Litwienienko, [online], <http://www.postepybiochemii.pl> [dostęp: 5 maja 2014].
2. Szade K., Bukowska-Strakova K., Nowak W. N., Szade A., Kachamakova-Trojanowska N., Zukowska M., Józkowicz A., Dulak J., *Murine bone marrow Lin⁻Sca-1⁺CD45⁻ very small embryonic-like (VSEL) cells are heterogeneous population lacking Oct-4A expression*, „Public Library of Science One”, 2013, May 17, 8 (5), e63329, doi: 10.1371/journal.pone.0063329.

NOTA O AUTORZE:

prof. dr hab. Józef Dulak – kierownik Zakładu Biotechnologii Medycznej UJ, od 2013 roku prezes Europejskiego Towarzystwa Biologii Naczyniowej (EVBO). Badania prowadzone przez prof. Józefa Dulaka i jego zespół dotyczą komórek macierzystych, biologii i medycyny naczyniowej, terapii genowej i komórkowej i ich znaczenia i zastosowania w chorobach układu krążenia, nowotworowych, nerek, cukrzycy i dystrofii mięśniowej. Członek korespondent Polskiej Akademii Umiejętności, członek Komitetu Biotechnologii oraz Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN, doktor honoris causa Uniwersytetu w Orleanie.

KRZYSZTOF JÓŹWIAK

ROLA PRZYPADKU W BADANIACH NAUKOWYCH

AFILIACJA: Krzysztof Józwiak, Samodzielna Pracownia Chemii i Neuroinżynierii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Prowadzenie badań naukowych w każdej dziedzinie wymaga odpowiednich predyspozycji oraz wielkiego nakładu pracy. Każdy z nas prowadzi badania naukowe w sposób jak najbardziej racjonalny i systematyczny, tak aby zwiększyć szanse osiągnięcia zamierzonego celu. Jednak historia nauki zna wiele odkryć naukowych i wynalazków, które powstały w sposób przypadkowy lub wręcz wbrew intencjom autora. W prezentacji zostanie przedstawionych kilka przykładów ogólnie znanych osiągnięć naukowych z zakresu biomedycyny, w których uzyskaniu bardzo dużą rolę odegrał przypadek. I tylko skrupulatności i otwartości umysłu naukowców wykonujących prace badawcze zawdzięczamy to, że zwrócili oni odpowiednią uwagę na zaskakującą zdawałoby się obserwację. W ten sposób odkryto między innymi właściwości bakteriobójcze penicyliny, właściwości cytostatyczne związków z grupy iperytów czy przypadkowo poznano potencjał terapeutyczny specyfiku znanego obecnie jako Viagra.

NOTA O AUTORZE:

prof. dr hab. Krzysztof Józwiak – kierownik Samodzielnej Pracowni Chemii i Neuroinżynierii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Autor badań z zakresu farmakologii molekularnej i chemii leków. Zainteresowania naukowe autora koncentrują się również wokół zagadnień dotyczących podstaw molekularnych mechanizmów komunikacji międzyneuronalnej, chorób neurologicznych oraz neurodegeneracyjnych. Laureat nagrody UCB-Ehrlich Award for Excellence in Medicinal Chemistry, przyznawanej przez Europejską Federację Towarzystw Chemii Leków (2012).

AGNIESZKA ŁOBODA

ROLA mikroRNA ORAZ CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO Nrf2 I ZALEŻNEJ OD NIEGO OKSYGENAZY HEMOWEJ-1 W CHOROBAH NEREK

AFILIACJA: Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Kidney fibrosis is a key determinant of the progression of renal diseases and its development involves many molecular mediators including microRNAs (miRNAs). Alteration in miRNAs expression may contribute to the formation of excess fibrous connective tissue and decrease in glomerular filtration and tubular function. Recent studies showed that induction of heme oxygenase-1 (HO-1), enzyme with anti-oxidant and anti-inflammatory functions might be protective in acute and chronic renal insults. Therefore, we analyzed the direct consequence of both HO-1 overexpression as well as lack of HO-1 for the fibrosis development. Our *in vitro* and *in vivo* experiments, in a model of ochratoxin A (OTA)–induced fibrosis indicate that disturbances in not only HO-1, but also in the activity and expression of NF-E2-related factor-2 (Nrf2), the transcription factor regulating the anti-oxidant and inflammatory response contributes to fibrosis development. Moreover, our data demonstrate that nephrotoxic effects of OTA can be overcome by HO-1 induction. Significantly, we also found that alterations in the level of microRNAs processing enzymes, microRNA content and in the expression of specific microRNAs are important mechanisms responsible for kidney fibrosis. Our and others data indicate also that anti-miR compounds that inhibit specific miRNAs, have the potential to become a new class of drugs. Understanding the regulation of miRNAs expression during renal fibrosis may not only deepen our knowledge of the pathogenesis of this frequent phenomenon, but also may be a new target for therapeutic interventions.

Supported by Ministry of Science and Higher Education, Iuventus Plus project (no. IP2011 031071).

BIBLIOGRAFIA:

1. Boesch-Saadatmandi C., Łoboda A., Józkowicz A., Huebbe P., Blank R., Wolffram S., Dulak J., Rimbach G., *Effect of ochratoxin A on redox-regulated transcription factors, antioxidant enzymes and glutathione-S-transferase in cultured kidney tubulus cells*, „Food. Chem. Toxicol.”, 2008, 46, 2665–2671.
2. Stachurska A., Cieśla M., Kozakowska M., Wolffram S., Boesch-Saadatmandi C., Rimbach G., Józkowicz A., Dulak J., Łoboda A., *Cross-talk between microRNAs, nuclear factor E2-related factor 2, and heme oxygenase-1 in ochratoxin A-induced toxic effects in renal proximal tubular epithelial cells*, „Mol. Nutr. Food. Res.”, 2013, 57, 504–515.
3. Cieśla M., Skrzypek K., Kozakowska M., Łoboda A., Józkowicz A., Dulak J., *MicroRNAs as biomarkers of disease onset*, „Anal. Bioanal. Chem.”, 2011, 401, 2051–2061.

NOTA O AUTORCE:

dr Agnieszka Łoboda – adiunkt w Zakładzie Biotechnologii Medycznej UJ. Zainteresowania naukowe: mechanizmy tworzenia naczyń krwionośnych oraz regulacji produkcji czynników angiogennych i przeciwutleniających. Laureatka konkursu Dla Kobiet i Nauki we współpracy między L’Oreal Polska i PK ds. UNESCO (2013).

JOANNA MAJERCZAK

WSKAŹNIKI WYDOLNOŚCI FIZYCZNEJ CZŁOWIEKA I ICH ZMIANA W WYNIKU REGULARNEJ AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ

AFILIACJA: Zakład Fizjologii Mięśni, Katedra Fizjologii i Biochemii, Wydział Rehabilitacji Ruchowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie

Regularna aktywność fizyczna prowadzi do wzrostu wydolności fizycznej organizmu. Trening fizyczny jest również istotnym elementem profilaktyki i leczenia chorób cywilizacyjnych, m.in. chorób układu krążenia, cukrzycy typu II, otyłości. Regularna aktywność fizyczna zwiększa tolerancję wysiłku, prowadzi do wzrostu insulinowrażliwości, poprawy stosunku HDL/LDL, obniżenia ciśnienia krwi, ma również działanie antydepresyjne. W następstwie regularnej aktywności fizycznej obserwuje się m.in. skrócenie stałej czasowej głównej komponenty kinetyki konsumpcji tlenu (τ_p), wzrost wielkości mocy przy progu mleczanowym (LT), obniżenie kosztu energetycznego wysiłku, wzrost wielkości mocy przy VO_{2max} oraz wzrost maksymalnego minutowego poboru tlenu (VO_{2max}). Ponadto trening fizyczny prowadzi do zmian zawartości białek mięśniowych, m.in. łańcuchów ciężkich miozyny (MyHC), ATP-zależnych pomp wapniowych w siateczce sarkoplazmatycznej (SERCA) oraz białek mitochondrialnych. W prezentacji przedstawione zostaną wyniki badań dotyczące wpływu treningu wytrzymałościowego o umiarkowanej intensywności na wskaźniki wydolności fizycznej oraz na zawartość białek mięśniowych w mięśniach szkieletowych kończyn dolnych człowieka.

BIBLIOGRAFIA:

1. Pedersen B. K., Saltin B., *Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease*, „Scand. J. Med. Sci. Sports.”, 2006, 16 (Suppl. 1), 3–63.
2. Żołądź J. A., Pilc A., *The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies*, „J. Physiol. Pharmacol.”, 2010, 61, 533–541. Review.
3. Holloszy J. O., Coyle E. F., *Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences*, „J. Appl. Physiol.”, 1984, 56, 831–838.
4. Womack C. J., Davis S. E., Blumer J. L., Barrett E., Weltman A. L., Gaesser G. A., *Slow component of O_2 uptake during heavy exercise: adaptation to endurance training*, „J. Appl. Physiol.”, 1995, 79, 838–845.

5. Casaburi R., Storer T. W., Ben-Dov I., Wasserman K., *Effect of endurance training on possible determinants of VO_2 during heavy exercise*, „J. Appl. Physiol.”, 1987, 62, 199–207.
6. Żołądź J. A., Grassi B., Majerczak J., Szkutnik Z., Korostyński M., Karasiński J., Kilariski W., Korzeniewski B., *Training-induced acceleration of VO_2 on-kinetics precedes muscle mitochondrial biogenesis in humans*, „Experimental Physiology”, 2013, 98, 883–898.
7. Majerczak J., Korostyński M., Nieckarz Z., Szkutnik Z., Duda K., Żołądź J. A., *Endurance training decreases the non-linearity in the VO_2 -power output relationship in humans*, „Experimental Physiology”, 2012, 97, 386–399.
8. Trappe S., Harber M., Creer A., Gallagher P., Slivka D., Minchev K., Whitsett D., *Single muscle fibre adaptations with marathon training*, „J. Appl. Physiol.”, 2006, 101, 721–727.
9. Green H. J., Ballantyne C. S., MacDougall J. D., Tarnopolsky M. A., Schertzer J. D., *Adaptations in human muscle sarcoplasmic reticulum to prolonged submaximal training*, „J. Appl. Physiol.”, 2003, 94, 2034–2042.
10. Majerczak J., Karasiński J., Żołądź J. A., *Training induced decrease in oxygen cost of cycling is accompanied by down-regulation of SERCA expression in human vastus lateralis muscle*, „Journal of Physiology and Pharmacology”, 2008, 59, 589–602.
11. Majerczak J., Rychlik B., Grzelak A., Grzmil P., Karasiński J., Pierzchalski P., Pułaski L., Bartosz G., Żołądź J. A., *Effect of 5-week moderate intensity endurance training on the oxidative stress, muscle specific uncoupling protein (UPC3) and superoxide dismutase (SOD2) contents in vastus lateralis of young healthy men*, „Journal of Physiology and Pharmacology”, 2010, 61, 743–751.

NOTA O AUTORCE:

dr hab. Joanna Majerczak, prof. AWF w Krakowie – specjalistka z zakresu biochemii i fizjologii wysiłku fizycznego. Laureatka nagrody indywidualnej za osiągnięcia naukowe II stopnia przyznawanej przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (2012).

HENRYK SKARŻYŃSKI

ZNACZENIE DROGI SŁUCHOWEJ W ROZWOJU WSPÓŁCZESNEGO SPOŁECZEŃSTWA

AFILIACJA: Światowe Centrum Słuchu, Instytut Fizjologii i Patologii Słuchu, Warszawa/
Kajetany

„Non expedit omnia videre, omnia audire” – powiedział Seneka, ale tę wypowiedź traktować należy chyba w nieco innym kontekście. Dobrze jest zarówno wszystko słyszeć, jak i wszystko widzieć. Droga słuchowa jest głównym kanałem komunikacji człowieka od 25. tygodnia życia płodowego. Dzięki dostarczanym tą drogą informacjom z zewnątrz łona matki w znaczącym stopniu rozwija się inteligencja płodu, a następnie noworodka i niemowlęcia. Słuch po urodzeniu dziecka determinuje rozwój jego mowy i języka. Następnie ma wielki wpływ na jakość naszej edukacji, codziennej komunikacji międzyludzkiej, jakość życia i pracy. We współczesnym społeczeństwie światowym ponad 1 mld ludzi ma istotne zaburzenia słuchu, które mają wpływ na ich funkcjonowanie społeczne. Jednocześnie należy podkreślić, że starzejące się społeczeństwa to coraz więcej osób z różnymi poważnymi wadami słuchu. Oznacza to, że rozwój wielu nowych technologii w medycynie jest i będzie związany z aktualnym stanem i strukturą naszego społeczeństwa. Dobry stan słuchu – podstawa naszego codziennego komunikowania się między sobą – wyznacza naszą pozycję społeczną. Na początku XX wieku o wysokiej pozycji i możliwościach człowieka decydowały jego umiejętności manualne. Pod koniec tego samego wieku w ponad 90% nasza współczesna pozycja jest uzależniona od umiejętności komunikowania się. Oznacza to bardzo sprawny odbiór wielu informacji, ich szybką analizę, właściwą reakcję oraz cały szereg zdarzeń, które zachodzą w naszym otoczeniu. Rozwój nowych technologii, zwłaszcza takich jak funkcjonalny rezonans magnetyczny (fMRI), pozwala obecnie na prześledzenie głównych szlaków słuchowych od komórek zmysłowych w uchu wewnętrznym aż do ośrodków kojarzeniowych w polu słuchowym kory mózgu oraz w połączeniach między półkulami. Wraz z wiekiem zasadnicze uszkodzenia dotyczą coraz mniej sprawnego odbioru dźwięków o wysokich częstotliwościach. Oznacza to w praktyce taki stan słuchu, który określany jest częściową głuchotą. Najnowsze technologiczne osiągnięcia w medycynie pozwalają na doprowadzenie do częściowo głuchego ucha wewnętrznego informacji przetworzonej za pośrednictwem mikroimpulsów elektrycznych oraz dzięki integracji akustyczno-elektrycznej uzyskanie rozumienia mowy nawet w 100% w każdym wieku

pacjenta. W przypadku wcześniej wykrytych głębokich wad słuchu zastąpienie niemożliwej do odbioru naturalnej stymulacji akustycznej bodźcem elektrycznym za pośrednictwem wszczepionego implantu ślimakowego pozwala na pełny rozwój słuchu, mowy i języka człowieka. Aktualne możliwości medycyny w tym zakresie pozwalają na efektywną pomoc prawie każdemu człowiekowi z wadą słuchu.

NOTA O AUTORZE:

prof. dr hab. Henryk Skarżyński – światowej sławy otochirurg i specjalista otolaryngologii, foniatrii i audiologii. Twórca i dyrektor Instytutu Fizjologii i Patologii Słuchu oraz Światowego Centrum Słuchu w Kajetanach. Od 2011 roku Konsultant Krajowy ds. Otolaryngologii. Twórca metody PDCI (*partial deafness cochlear implantation*), przy pomocy której w 2002 roku po raz pierwszy na świecie dokonał wszczepienia implantu ślimakowego w częściowej głuchocie (procedura ta obecnie stosowana jest w 9 światowych ośrodkach). Członek najważniejszych krajowych i zagranicznych towarzystw naukowych (m.in. Przewodniczący Komitetu Nauk Klinicznych PAN, członek amerykańskiego towarzystwa otologów American Otological Society), autor i współautor ponad 2500 krajowych i zagranicznych doniesień naukowych.

AKTUALNE KIERUNKI CHEMII MEDYCZNEJ
W BADANIACH POLSKICH DOKTORANTÓW

SESJA KONKURSOWA
POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMII MEDYCZNEJ

1ST YOUNG MEDICINAL CHEMIST SYMPOSIUM
ELIMINACJE KRAJOWE

ANNA GOMÓŁKA, MAREK KRÓL, FRANCISZEK HEROLD, JADWIGA TURŁO

SYNTEZA NOWYCH LIGANDÓW O PODWÓJNEJ WIĄZALNOŚCI DO RECEPTORÓW 5-HT_{1A} I BIAŁKA TRANSPORTERA SEROTONINY W GRUPIE POCHODNYCH PIRYDO[1,2-C]PIRYMIDYNY

AFILIACJA: Katedra i Zakład Technologii Leków i Biotechnologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Cel i założenia pracy: Celem pracy jest synteza, analiza strukturalna oraz określenie właściwości farmakologicznych szeregu nieopisanych pochodnych pirydo[1,2-c]pirymidyny. Uzyskane wyniki umożliwią analizę SAR w badanej grupie pochodnych oraz ocenę wpływu dokonanych modyfikacji struktury wiodącej na aktywność biologiczną. Struktura syntetyzowanych związków została zaplanowana na drodze modyfikacji struktury wiodącej, w oparciu o dostępne modele farmakoforowe oraz analogie strukturalne z substancjami o potwierdzonej wysokiej wiązalności do receptorów 5-HT_{1A} i białka transportera serotoniny (SERT). Badania nad związkami o podwójnej aktywności (5-HT_{1A}/SERT) stanowią jeden z kierunków poszukiwań nowych leków przeciwdepresyjnych o skróconym okresie latencji.

Metodologia: Zaplanowane związki zostały otrzymane na drodze wieloetapowej syntezy chemicznej. Próbkki analityczne poddano badaniom strukturalnym metodami spektroskopii IR, ¹H i ¹³C NMR oraz analizy elementarnej lub spektrometrii HRMS. Dla uzyskanych związków określone zostało powinowactwo do receptorów 5-HT_{1A} oraz białka SERT. Dla wybranych ligandów badania radioreceptorowe *in vitro* zostały poszerzone o powinowactwo do receptorów 5-HT_{2A}, D₂, 5-HT₆ i 5-HT₇. Pochodne pirydo[1,2-c]pirymidyny o najwyższym powinowactwie do receptorów 5-HT_{1A} zostały poddane badaniom aktywności wewnętrznej w stosunku do pre- i postsynaptycznych receptorów 5-HT_{1A}.

Wyniki i wnioski: W czasie badań uzyskano szereg nowych pochodnych pirydo[1,2-c]pirymidyny o wysokiej i średniej wiązalności do receptorów 5-HT_{1A} i białka SERT. Wykazano znaczny wpływ na wiązalność do obu celów molekularnych oraz aktywność wewnętrzną w stosunku do receptorów 5-HT_{1A} elementów struktury takich jak stopień nienasycenia układu pirydo[1,2-c]pirymidyny, obecność, położenie i rodzaj podstawników w części terminalnej, jak również położenie atomów azotu oraz typ układu heterocyklicznego w części farmakoforowej. Uzyskane wyniki badań posłużyły do optymalizacji struktury wiodącej.

NATALIA GUZIOR*, MAREK BAJDA*, BORIS BRUS**, ANJA PIŠLAR***,
JANKO KOS****/*****, STANISLAV GOBEC**, BARBARA MALAWSKA*

WIELOFUNKCYJNE, HETERODIMERYCZNE POCHODNE IZOINDOLINO-1,3-DIONU JAKO INHIBITORY CHOLINOESTERAZ I AGREGACJI β -AMYLOIDU O WŁAŚCIWOŚCIACH NEUROPROTEKCYJNYCH

AFILIACJA: * Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Lublański, Lublana, Słowenia; *** Zakład Biologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Lublański, Lublana, Słowenia; **** Zakład Biotechnologii, Instytut Jožefa Stefana, Lublana, Słowenia

Strategia projektowania ligandów wielofunkcyjnych jest atrakcyjnym podejściem w poszukiwaniu nowych, skutecznych leków, mogących znaleźć zastosowanie w leczeniu zaburzeń o złożonym patomechanizmie, takich jak choroba Alzheimera. W ostatnich latach odkryto wiele nowych związków działających jednocześnie na kilka celów biologicznych. Wśród nich są inhibitory cholinesteraz oraz agregacji beta amyloidu i/lub inhibitory wykazujące dodatkowe właściwości, np. działanie neuroprotekcyjne, chelatujące i przeciwutleniające [1, 2]. Prezentowane badania opisują syntezę i badania farmakologiczne (hamowanie acetylo- i butyrylocholinoesterazy, hamowanie agregacji beta amyloidu i efekt neuroprotekcyjny) nowej serii pochodnych izoindolino-1,3-dionu. Docelowe związki zaprojektowane zostały jako inhibitory acetylocholinoesterazy o podwójnym miejscu wiązania. Za oddziaływanie z miejscem katalitycznym enzymu odpowiada ugrupowanie aryloalkiloaminy, które jest połączone za pośrednictwem łańcucha alkilowego z heterocyklicznym fragmentem zdolnym do wiązania się z miejscem peryferyjnym AChE. Większość zsyntetyzowanych związków okazała się silnymi i selektywnymi inhibitorami acetylocholinoesterazy (eeAChE IC₅₀=0,034–8,183 μ M). Ponadto, związek 13b, oprócz hamowania enzymu (eeAChE IC₅₀=0,219 μ M), posiada dodatkowe właściwości, takie jak zdolność hamowania agregacji beta amyloidu (65,96% przy 10 μ M) i efekt neuroprotekcyjny przeciwko neurotoksyczności wywołanej beta amyloidem. Wśród otrzymanych cząsteczek związek 13b wyróżnia się jako obiecujący ligand wielofunkcyjny w poszukiwaniu nowych możliwości terapeutycznych chorób neurodegeneracyjnych związanych z wiekiem.

Bibliografia:

1. Bajda M., Guzior N., Ignasik M., Malawska B., *Multi-target-directed ligands in Alzheimer's disease treatment*, „Curr. Med. Chem.”, 2011, 18 (32), 4949–4975.
2. Peters J.-U., *Polypharmacology in Drug Discovery*, Wiley 2012.

DOMINIKA HAGEL*, AGATA PANETH*, TOMASZ PLECH*,
JOANNA STEFAŃSKA**, PAWEŁ STĄCZEK***, ALEKSANDRA STRZELCZYK***

AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA I INHIBICYJNA POCHODNYCH 1,4-DIBENZOILOLIOSEMIKARBAZYDU WOBEC BAKTERYJNYCH TOPOIZOMERAZ

AFILIACJA: * Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie;
** Katedra Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Warszawie; *** Zakład Genetyki Drobnoustrojów, Uniwersytet Łódzki

W obliczu narastającej oporności bakterii na powszechnie stosowane antybiotyki i chemioterapeutyki priorytetowym celem stało się poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych przez ośrodki badawcze w Polsce i na świecie. Wykorzystuje się do tego wiedzę na temat mechanizmów oporności drobnoustrojów, poszukując środków leczniczych działających na znane cele molekularne. Atrakcyjnym celem dla projektowania nowych leków są bakteryjne topoizomerazy – enzymy utrzymujące DNA w superhelikalnej formie. Dotychczas znane inhibitory topoizomerazy działały hamująco na replikację i/lub uniemożliwiały rozdzielenie siostrzanych nici DNA, co pozwoliło założyć, że zablokowanie enzymu prowadzi do śmierci drobnoustroju. Problem narastającej oporności na stosowane leki wymusza poszukiwanie nowych grup związków, dla których topoizomerazy stanowiłyby cel molekularny. Jedną z grup, w których poszukuje się nowych substancji o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, są pochodne tiosemikarbazyny. Z dotychczasowych badań wynika, że obiecującą aktywność przeciwbakteryjną wykazują ich 1,4-dibenzoilowe pochodne.

Celem naszej pracy była synteza 1,4-dibenzoilopodstawionych pochodnych tiosemikarbazyny oraz ocena ich aktywności przeciwbakteryjnej i enzymatycznej. Ocenę aktywności przeciwbakteryjnej wobec szczepów Gram(+) i Gram(-) przeprowadzono metodą dyfuzji w agarze, określając ich wartości minimalnych stężeń hamujących (ang. *minimal inhibitory concentration*, MIC). Wyznaczone wartości MIC zawierały się w zakresie niskich stężeń, od 32 do 2 µg/mL. Związki te w najbliższej przyszłości zostaną poddane testom enzymatycznym w celu zweryfikowania, czy u podstaw aktywności przeciwbakteryjnej testowanych pochodnych tiosemikarbazyny leży inhibicja bakteryjnych topoizomerazy.

TOMASZ KOCZOROWSKI*, WOJCIECH SZCZOLKO*,
KVETOSLAVA BURDA**, TOMASZ GOŚLIŃSKI*

SYNTEZA I CHARAKTERYSTYKA FIZYKOCHEMICZNA FUNKCJONALNYCH PORFIRYNOIDÓW O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU W BIOMIMETYCE CYTOCHROMÓW

AFILIACJA: * Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu; ** Katedra Fizyki i Informatyki Stosowanej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

Założenia: Obecne w wątrobie cytochromy P450 katalizują przemiany ksenobiotyków, w tym ponad 90% leków¹. Hem, zaliczany do porfirynoidów, stanowi w cytochromach grupę prostetyczną. Liczne badania pozwoliły na uzyskanie funkcjonalnych porfirynoidów z grupy metaloporfiryn wykazujących użyteczność w biomimetycznych systemach cytochromowych². Odtworzenie reakcji enzymatycznych naśladujących cytochromy w wątrobie w warunkach laboratoryjnych umożliwia badanie metabolizmu ksenobiotyków. Otrzymanie funkcjonalnych związków porfirynoidowych prowadzi do uzyskania użytecznego narzędzia w toksykologii i chemii leków.

Cel pracy: Opracowanie syntezy i zbadanie właściwości fizykochemicznych porfirynoidów, koordynujących w rdzeniu kation żelaza(II). Proponowane związki, będące substytutami hemu, zostaną ocenione pod kątem potencjalnego zastosowania w biomimetyce cytochromów.

Metodologia: Warsztat pracy obejmuje (1) syntezę pochodnych maleonitryli oraz ich wykorzystanie w otrzymywaniu porfirynoidów z grupy azaporfiryn, (2) identyfikację i określenie właściwości fizykochemicznych – HPLC, UV-Vis, IR, Raman, NMR, MS, (3) ocenę fizyko- i fotochemiczną (wyznaczenie wydajności kwantowych fluorescencji i generowania tlenu singletowego), (4) charakterystykę elektrochemiczną (woltamperometria cykliczna i impulsowa) oraz (5) analizę walencyjną i spinową koordynowanego kationu żelaza za pomocą spektroskopii Mössbauera.

Wyniki: Na drodze syntezy chemicznej otrzymano i scharakteryzowano fizykochemicznie serię stabilnych kompleksów porfirazynowych z kationem żelaza (II). Walencyjność i stan spinowy Fe^{2+} oceniono spektroskopią Mössbauera. Uzyskane porfirynoidy są poddawane ocenie zdolności do katalizowania przemian ksenobiotyków.

Wnioski: Opracowanie biomimetycznych analogów metaloporfiryn hemowych o zwiększonej stabilności fizykochemicznej przyczyni się do (1) poszerzenia zakresu badań nad nowymi lekami, prowadząc do zwiększenia ich skuteczności i bezpieczeństwa, oraz (2) uzyskania kluczowych elementów złożonych systemów bionanotechnologicznych, mogących znaleźć zastosowanie w transplantomologii.

Badania zostały sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki nr N N404 069440.

Bibliografia:

1. Yarman A., Wollenberger U., Scheller F. W., *Sensors based on cytochrome P450 and CYP mimicking systems*, „Electrochim. Acta”, 2013, 110, 63–72.
2. Mansuy D., *A brief history of the contribution of metalloporphyrin models to cytochrome P450 chemistry and oxidation catalysis*, „C. R. Chimie”, 2007, 10, 392–413.

GABRIELA MAZUR, ŁUKASZ ORZEŁ, MAGDALENA PROCNER,
JUSTYNA POLACZEK, GRAŻYNA STOCHEL

KOBALAMINA JAKO TRANSBLONOWY NOŚNIK LEKÓW – SYNTEZA NOWYCH KOMPLEKSÓW PLATYNY(II)/ PALLADU(II) DO ZASTOSOWAŃ BIOMEDYCZNYCH

AFILIACJA: Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

W ostatnim czasie szczególnie duży nacisk kładzie się na opracowywanie innowacyjnych technik wydajnego i niskoinwazyjnego wprowadzania do komórek związków diagnostycznych i terapeutycznych. Odpowiedni nośnik dla tego typu związków powinien: rozpuszczać się w płynach ustrojowych, być rozpoznawany przez receptory kanałów błonowych oraz wykazywać zwiększone powinowactwo do komórek w ich stanach patologicznych (choroby nowotworowe, infekcje bakteryjne). Powyższe warunki spełnia między innymi kobalamina (witamina B₁₂, Cbl).

W związku z powyższym podjęto próbę otrzymania dwucentrowych kompleksów kobalamina – jon metalu cytotoksycznego (np. Pt(II), Pd(II)), gdzie kobalamina ma pełnić funkcję nośnika dla związku o potencjalnym działaniu chemoterapeutycznym. Pierwszy etap prowadzonych syntez stanowi otrzymanie kompleksów platyny/palladu typu: $[MCl_xH_2O_{4-x}]$ (gdzie M=Pt, Pd) oraz $[M^II LCl/H_2O]^{0/+1}$ (gdzie L = terpyrydyna, dietylenotriamina). Kolejny etap stanowi modyfikacja akwakobalaminy w pozycji aksjalnej β organicznymi ligandami di-N-donorowymi (L = etylenodiamina, imidazol, tiomocznik, tiocyjanian, 4,4-dipirydył, pirazyna, pirydyna)¹. Wyżej wymienione ligandy dzięki obecności dodatkowego atomu N-donorowego mają możliwość tworzenia połączeń mostkowych typu: Co(III)-L-Pt(II) lub Co-L-Pd(II). Ostatni etap stanowi próba przyłączenia do otrzymanych kompleksów Pt(II) i Pd(II) kobalaminy zmodyfikowanej uprzednio odpowiednim ligandem mostkującym bądź cyjanokobalaminy (posiadającej w pozycji β -aksjalnej ligand N-donorowy w postaci grupy cyjankowej)². Przebieg reakcji kontrolowano za pomocą różnorodnych technik spektrometrycznych (UV-Vis, IR, MS, NMR). Przeprowadzono również modelowanie ww. układów techniką DFT.

Bibliografia:

1. Hannibal L., Bunge S., van Eldik R., Jacobsen D., Kratky C., Gruber K., Brasch N., „Inorg. Chem.”, 2007, 46, 3613–3618.
2. Mundwiler S., Spingler B., Kurz P., Kunze S., Alberto R., „Chem. Eur. J.”, 2005, 11, 4089–4095.

EWA OTRĘBSKA-MACHAJ, JADWIGA HANDZLIK, SANDRINE ALIBERT-FRANCO,
JACQUELINE CHEVALIER, JEAN-MARIE PAGES, KATARZYNA KIEC-KONONOWICZ

ARYLIDENOWE POCHODNE HYDANTOINY JAKO ORYGINALNE INHIBITORY BAKTERYJNYCH POMP WYRZUTU LEKÓW

AFILIACJA: Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Aix-Marseille Université/IRBA, UMR-MD-1, Transporteurs Membranaires, Chimiorésistance et Drug-Design, Marseille, France

Na przełomie lat 40. i 50. XX w. po raz pierwszy wprowadzono do terapii antybiotyki. Pomimo pokładanej w nich nadziei choroby zakaźne stanowią ciągle jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. Powodem jest stale rosnąca liczba drobnoustrojów wykazujących oporność na coraz to większą liczbę antybiotyków. Głównym mechanizmem odpowiedzialnym za rozwój oporności w szczepach wielolekoopornych (MDR) jest aktywny wyrzut leków z komórki bakteryjnej, odbywający się przy udziale białkowych pomp wyrzutu. Zablockowanie systemów wyrzutu przez inhibitory (EPIs) jest obiecującą strategią walki z MDR.

Bazując na wynikach przeprowadzonych wcześniej badań mikrobiologicznych, zaplanowano i otrzymano nową serię piperazynowych 5-arylidenowych pochodnych hydantoiny. Modyfikacje strukturalne objęły rodzaj linkera łączącego pierścień hydantoiny z pierścieniem piperazynowym, jak również rodzaj podstawnika aromatycznego w położeniu 5 hydantoiny. Synteza nowej serii związków objęła kondensację Knoevenagela, reakcję Mitsunobu, stapianie z aminą i N-deprotekcję. Otrzymane związki zostały poddane testom mikrobiologicznym na dwóch szczepach *Enterobacter aerogenes* o różnej ekspresji pompy AcrAB-TolC (EA294 – brak pompy, EA289 – nadekspresja pompy). W testach zbadano aktywność antybakteryjną związków przez wyznaczenie ich minimalnych stężeń hamujących (MIC) oraz ich zdolność do obniżania wartości MIC antybiotyków i chemioterapeutyków, z którymi zostały podane (kwasu nalidyksowego, chloramfenikolu, sparfloksacyny i erytromycyny). Ponadto zbadano zdolność związków do hamowania wyrzutu fluorescencyjnego barwnika z komórki bakteryjnej w teście *real-time efflux*. Przeprowadzone modyfikacje wpłynęły na poprawę aktywności biologicznej związków. Wyniki wskazują na wpływ amfifilowego charakteru na właściwości EPI, który może być uzyskany przez obecność podstawnika naftylometrylidenowego lub chlorobenzylidenowego w położeniu 5 oraz hydrofilowego zasadowego zakończenia podstawienia w położeniu 3 pierścienia hydantoiny.

KAROLINA PAJAK*, ANITA PŁAZIŃSKA*, LUCITA JIMENEZ**, NAHID WALEH**,
LAWRENCE TOLL***, ANTHONY YIU HO WOO****, RUI-PING XIAO****,
IRWING W. WAINER*****, KRZYSZTOF JÓŹWIAK*

MOLEKULARNE PODSTAWY SELEKTYWNOŚCI POCHODNYCH FENOTEROLU WZGLĘDEM RECEPTORA β2-ADRENERGICZNEGO

AFILIACJA: * Samodzielna Pracownia Chemii i Neuroinżynierii Medycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie; ** SRI International, Menlo Park, CA, USA; *** Torrey Pines Institute for Molecular Studies, Port St. Lucie, FL, USA; **** Peking University, Beijing, China; ***** National Institute on Aging, National Institutes of Health, Baltimore, MD, USA

Pojęcie selektywności funkcjonalnej dotyczy zjawiska, w którym różne ligandy, oddziałując na ten sam receptor, mogą prowadzić do aktywacji różnych szlaków przekazywania sygnałów w komórce. Badania w ramach projektu z zakresu chemii medycznej wskazały na selektywność funkcjonalną pochodnych fenoterolu względem receptora β2-adrenergicznego (β2-AR). Izomery (R,R) fenoterolu, 4-metoksyfenoterolu i 4-metoksyfenoterolu aktywują receptor do formy selektywnej względem białka Gs, podczas gdy inne analogi (jak 1-naftylofenoterol czy 4-metoksy-1-naftylofenoterol) aktywują receptor do formy wiążącej zarówno białko Gs, jak i białko Gi. Badania modelowania molekularnego wskazały na potencjalne znaczenie dla selektywności funkcjonalnej względem białka Gs interakcji liganda poprzez wiązanie wodorowe z Tyr-308 β2 adrenoreceptora. Ta hipoteza została potwierdzona w badaniach powinowactwa pochodnych fenoterolu do mutantu Y308A β2-AR przeprowadzonych techniką wypierania radioliganda (ang. *Radioligand Binding Assay*). Otrzymane stałe K_i kompleksu ligand-receptor dla mutantu w przypadku fenoterolu, 4-metoksyfenoterolu oraz 4-aminofenoterolu są istotnie wyższe od stałych K_i otrzymanych dla dzikiego typu receptora i osiągają wartości bardzo zbliżone do wartości oznaczonych wcześniej dla podtypu β1 receptora adrenergicznego. W przypadku pochodnych fenoterolu stabilizujących receptor w formie wiążącej zarówno białko Gs, jak i białko Gi nie zaobserwowano istotnych różnic w powinowactwie do receptora pomiędzy typem dzikim a mutantem Y308A β2-AR. Pochodne fenoterolu są potencjalnymi lekami w terapii zastoinowej niewydolności krążenia, a także nowotworów mózgu. Wyniki przedstawionej pracy wskazują, że modyfikacja chemiczna cząsteczki może być użyta do kontrolowania interakcji z Tyr-308 β2-AR, co wydaje się niezwykle interesującą strategią w projektowaniu nowych cząsteczek leków selektywnie aktywujących pożądane szlaki przekazywania sygnałów w komórce.

SABINA SMUSZ*/**, JAGNA WITEK*, ANNA MATYS***,
JADWIGA HANDZLIK***, ANDRZEJ J. BOJARSKI*,
KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ***

WYJAŚNIENIE MECHANIZMU ZNOSZENIA LEKOOPORNOŚCI PRZEZ POCHODNE 5-ARYLIDENOIMIDAZOLONU ZA POMOCĄ METOD MODELOWANIA MOLEKULARNEGO

AFILIACJA: * Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk w Krakowie; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; *** Zakład Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Pomimo ciągłego rozwoju przemysłu farmaceutycznego i wprowadzania na rynek leków nowej generacji wciąż lawinowo narasta problem oporności na stosowane medykamenty. Jest on szczególnie groźny w przypadku szczepów gronkowca złocistego, tzw. MRSA, wykazujących oporność na wszystkie antybiotyki z grupy beta-laktamów.

W przedstawionej pracy starano się wyjaśnić mechanizm znoszenia lekooporności MRSA przez pochodne 5-arylidenimidazolonu za pomocą metod modelowania molekularnego. Rozpatrywano dwie możliwości – wiązanie się do miejsca aktywnego zmodyfikowanego białka PBP (PBP2a) lub hamowanie jego ekspresji poprzez blokowanie czynnika transkrypcyjnego Mecr1. W celu wyjaśnienia, z którym białkiem oddziałują badane związki, zastosowano dokowanie, natomiast bardziej szczegółowych informacji co do samego mechanizmu działania dostarczyły symulacje dynamiki molekularnej. W celu potwierdzenia wiarygodności uzyskiwanych rezultatów wszystkie eksperymenty przeprowadzono również dla antybiotyku zastosowanego w badaniach biologicznych – oksacyliny. Wszystkie procedury modelowania molekularnego przeprowadzono przy wykorzystaniu oprogramowania firmy Schrodinger (Glide, Desmond).

Wyniki dokowania wykazały, że badane związki prawdopodobnie oddziałują poprzez białko Mecr1, nie wiążąc się jednak z jego miejscem aktywnym, lecz pozostając u jego wejścia. Jest to korzystne z punktu widzenia znoszenia lekooporności, gdyż wiązanie z miejscem aktywnym indukuje syntezę zmodyfikowanego białka PBP2a, niewykazującego powinowactwa do antybiotyków beta-laktamowych. Kompleksy ligand-białko uzyskane w procedurze dokowania zostały następnie wykorzystane do uzyskania poz startowych do symulacji dynamiki molekularnej. Na podstawie uzyskanych wyników wysnuto hipotezę, że zsyntezowane pochodne 5-arylidenimidazolonu, mające zdolność do znoszenia

lekooporności MRSA, blokują na zasadzie zawady sterycznej dostęp do miejsca aktywnego MecR1, uniemożliwiając tym samym jego aktywację i syntezę zmodyfikowanego białka PBP2a. Otrzymane rezultaty z pewnością okażą się pomocne podczas projektowania kolejnych związków o tego rodzaju aktywności.

ANETA STACHOWICZ*, KATARZYNA GŁOMBIK**, MACIEJ SUSKI*,
AGNIESZKA BASTA-KAIM**, RAFAŁ OLSZANECKI*, RYSZARD KOR BUT*

EFEKT AKTYWACJI MITOCHONDRIALNEJ DEHYDROGENAZY ALDEHYDOWEJ (ALDH2) PRZEZ ALDA-1 U SZCZURÓW PODDANYCH STRESOWI PRENATALNEMU: WYNIKI BEHAVIORALNE, MOLEKULARNE I PROTEOMICZNE

AFILIACJA: * Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk

Wstęp: Badania ostatnich lat wskazują na ważny udział dysfunkcji mitochondriów w rozwoju depresji. Mitochondrialna dehydrogenaza aldehydowa typu 2. (ALDH2) odpowiada za przekształcanie wielu toksycznych aldehydów – końcowych produktów peroksydacji lipidów – w nieszkodliwe kwasy, co sugeruje rolę ochronną tego enzymu w mitochondriach. Celem pracy była ocena wpływu farmakologicznej aktywacji ALDH2 przez Alda-1 na zachowania depresyjne u szczurów poddanych stresowi prenatalnemu (zwierzęcy model depresji).

Metody: Samice szczurów Sprague-Dawley były stresowane od 14. dnia ciąży. Po osiągnięciu wieku 3 miesięcy szczury kontrolne, jak i stresowane prenatalnie zostały poddane testowi wymuszonego pływania (weryfikacja modelu depresji) i nastrzykiwane Alda-1 raz dziennie przez 14 dni. Następnie na zwierzętach wykonano test wymuszonego pływania i podniesionego labiryntu krzyżowego. Do badań molekularnych real-time PCR i elektroforezy 2D połączonej ze spektrometrią mas wyizolowano korę przedczołową i hipokamp.

Wyniki: Długotrwała aktywacja ALDH2 przez Alda-1 spowodowała wydłużenie czasu wspinania, natomiast nie wpłynęła na czas pływania i bezruchu w teście wymuszonego pływania u szczurów stresowanych prenatalnie, traktowanych Alda-1. Podawanie Alda-1 wydłużyło również czas przebywania szczurów stresowanych prenatalnie w otwartym ramieniu podniesionego labiryntu krzyżowego. Co więcej, pod wpływem Alda-1 zwiększyła się ekspresja anty-apoptotycznego genu Bcl-2 i genu PGC-1 α (odpowiedzialnego za biogenezę mitochondriów) w korze przedczołowej.

Wnioski: Podsumowując, aktywacja ALDH2 przez Alda-1 spowodowała działanie przeciwd depresyjne i przeciwłękowe u szczurów stresowanych prenatalnie, co może być związane ze zmianą ekspresji genów i białek mitochondrialnych. Funkcjonalne znaczenie uzyskanych danych wymaga dalszych badań.

ABSTRAKTY

TOMASZ ADAMUS*, BOGNA BADYRA*, MACIEJ SUŁKOWSKI*,
PAWEŁ KONIECZNY*, MARCIN MAJKA

TERAPIA GENOWA OPARTA NA GENIE SAMOBÓJCZYM JAKO STRATEGIA ELIMINACJI MIĘSAKA PRAŻKOWANOKOMÓRKOWEGO

AFILIACJA: Zakład Transplantologii, Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii,
Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

* Równy wkład naukowy

Terapia genowa oparta na genie samobójczym polega na selektywnej eliminacji komórek posiadających ekspresję genu samobójczego, którego produkt przekształca nieaktywny pro-lek w toksyczny metabolit.

Głównym celem badania było określenie skuteczności terapii samobójczej w komórkach mięsaka prążkowanokomórkowego. Linia komórkowa RH30 została zmodyfikowana przy użyciu wektorów lentiwirusowych, tak by posiadała ekspresję kinazy tymidynowej wirusa Herpes Simplex (HSV-TK). Wrażliwość transdukowanych komórek na pro-lek gancyklowir (GCV) została określona zarówno *in vitro* (test proliferacji), jak i *in vivo* (ksenotransplantacja komórek do modelu mysiego). Zbadano również transport toksycznych metabolitów GCV przez złącza szczelinowe, aby potwierdzić efekt sąsiedztwa w linii komórek RH30. Transdukowane komórki posiadające ekspresję kinazy HSV-TK okazały się wysoce wrażliwe na gancyklowir. Tygodniowa inkubacja z gancyklowirem w stężeniu 1 µg/ml spowodowała całkowitą eliminację komórek w warunkach *in vitro*. Komórki posiadające ekspresję kinazy tymidynowej HSV-TK były także wydajnie eliminowane *in vivo*. Guzy formowane przez genetycznie zmodyfikowane komórki po podskórnym wszczepieniu myszom z upośledzonym układem odporności zostały niemal całkowicie usunięte w ciągu czternastodniowego cyklu podawania dootrzewnowo gancyklowiru w dawce 50 mg/kg. Nie zaobserwowano przy tym toksyczności narządowej. Ponadto, komórki zmodyfikowane genetycznie przekazywały przez złącza szczelinowe toksyczny metabolit niezmodyfikowanym komórkom sąsiadującym, powodując ich śmierć, nawet gdy przewaga komórek typu dzikiego wynosiła 5:1.

Strategia wykorzystująca gen samobójczy HSV-TK oraz pro-lek GCV prowadzi do skutecznej eliminacji komórek nowotworowych zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Jej potencjalne zastosowanie w systemie terapii genowej *in situ* lub *ex vivo* stwarza obiecującą perspektywę dla przyszłych zastosowań klinicznych w terapiach spersonalizowanych.

KAROLINA BABIUCH, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA

DIAGNOSTYKA AUTOFLUORESCENCYJNA ZMIAN POTENCJALNIE ZŁOŚLIWYCH I RAKA BŁONY ŚLUZOWEJ JAMY USTNEJ

AFILIACJA: Katedra i Zakład Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Rak jamy ustnej jest poważnym i rosnącym problemem współczesnego świata. Raki błony śluzowej jamy ustnej są czasem poprzedzone obecnością zmian potencjalnie złośliwych. O ryzyku zezłośliwienia tych zmian decyduje przede wszystkim stwierdzenie dysplazji nabłonka w badaniu mikroskopowym. Wczesne wykrycie zmian dysplastycznych i raków jest kluczowe dla ich skutecznego leczenia. Dostępne techniki wspomagające wizualizację stanu błony śluzowej jamy ustnej, takie jak bezpośrednie obrazowanie autofluorescencji tkankowej, mają ułatwić wczesną identyfikację zmian wysokiego ryzyka transformacji nowotworowej.

Cel pracy: Celem badania była ocena bezpośredniego obrazowania autofluorescencji jako metody wspomagającej diagnostykę zmian potencjalnie złośliwych, szczególnie zmian dysplastycznych oraz raka błony śluzowej jamy ustnej.

Metodologia: Do badania włączono 90 pacjentów (50 osób leczonych w przeszłości z powodu raka jamy ustnej oraz 40 osób z podejrzeniem zmian potencjalnie złośliwych lub raka błony śluzowej jamy ustnej). U wszystkich pacjentów przeprowadzono badanie stanu błony śluzowej jamy ustnej w świetle białym oraz badanie z wykorzystaniem systemu bezpośredniego obrazowania autofluorescencji (VELscope). Ze zmian, które nie poddawały się leczeniu w ciągu 14 dni, pobrano wycinki w celu postawienia ostatecznego rozpoznania histopatologicznego.

Wyniki: Podczas badania w świetle białym zidentyfikowano pięćdziesiąt osiem zmian. System VELscope umożliwił identyfikację dwóch dodatkowych zmian. Czulość systemu bezpośredniego obrazowania autofluorescencji w wykrywaniu zmian wysokiego ryzyka wyniosła 94%, a jego swoistość 12%.

Wnioski: Ze względu na wysoką czulość bezpośrednie obrazowanie autofluorescencji może być pomocne w identyfikacji zmian wysokiego ryzyka, jednak ze względu na niską swoistość w odróżnianiu dysplazji i raka od zmian łagodnych nie może być rekomendowane jako rozstrzygające narzędzie diagnostyczne.

OLGA BACZYK-ŁOPUCH

WPŁYW TYPU ZAMKÓW ORTODONTYCZNYCH NA STOPIEŃ ADHEZJI BAKTERII Z RODZAJU *STREPTOCOCCUS* – BADANIA PORÓWNAWCZE

AFILIACJA: Katedra Ortodoncji, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Wraz z rozwojem technik leczenia wad zgryzu wzrosła liczba pacjentów leczonych ortodontycznie z zastosowaniem aparatów stałych cienkołukowych. Najczęstszym powikłaniem terapii jest demineralizacja szkliwa, będąca początkowym etapem rozwoju choroby próchnicowej. Z zapoczątkowaniem procesu próchnicowego związane są bakterie *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sorbinus*, dominujące w płycie bakteryjnej (biofilmie), stanowiącej miękką złą przylegający do tkanek zęba oraz elementów aparatu ortodontycznego.

Cel pracy: Ocena ilościowa adhezji bakterii *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sorbinus* do zamków ortodontycznych metalowych i estetycznych. Porównanie stopnia adhezji w odniesieniu do typu materiału zamków i czasu inkubacji w zawiesinie zawierającej mieszaninę badanych szczepów bakterii.

Materiał i metody: Badaniem objęto zamki metalowe Cannon Ultra II oraz zamki estetyczne kompozytowe Cannon Ultra II Aesthetic (Orthodontic Design & Production, Inc.). W celu zbadania adhezji zastosowano wzorcowe szczepy bakterii gatunku *Streptococcus mutans* oraz *Streptococcus sorbinus*. Zamki inkubowano w zawiesinie zawierającej mieszaninę szczepów bakteryjnych, w czasie 90 i 240 minut. Po czasie inkubacji każdy zamek przeniesiono do roztworu trypsyny i EDTA celem odłączenia zaadherowanych bakterii. Uzyskany płyn rozcieńczono w PBS metodą seryjnych rozcieńczeń, przeniesiono na podłoże wzrostowe i inkubowano w temperaturze 37°C. Po upływie czasu inkubacji oceniono liczbę kolonii *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sorbinus*, w jednostkach CFU/ml.

Wyniki: Czas inkubacji jest czynnikiem różnicującym na poziom adhezji *Streptococcus mutans* do zamków ortodontycznych. Materiał zamków ortodontycznych jest czynnikiem działającym różnicująco na poziom adhezji *Streptococcus sorbinus* do powierzchni zamków.

Wnioski: Dłuższy czas inkubacji zamków w zawiesinie bakteryjnej powoduje wzrost adhezji bakterii *Streptococcus mutans* do powierzchni zamków. Wyższy poziom adhezji *Streptococcus sorbinus* otrzymamy, stosując zamki kompozytowe.

AGNIESZKA BARAN

POZAFARMAKOLOGICZNE METODY WSPOMAGANIA PAMIĘCI OSÓB W STARSZYM WIEKU. WNIOSKI Z BADAŃ EFEKTYWNOŚCI TRENINGÓW PAMIĘCI DLA SENIORÓW

AFILIACJA: Zakład Psychologii Lekarskiej, Katedra Psychiatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Starzenie się społeczeństwa oraz wrastająca liczba osób starszych przejawiających zaburzenia funkcji kognitywnych stawia przed systemami opieki zdrowotnej i pomocy społecznej wyzwanie związane z koniecznością organizowania długoterminowych form leczenia, wsparcia i opieki dla coraz większej grupy seniorów. Wymaga to dużych nakładów sił i środków, wiąże się z ponoszeniem nie tylko znaczących kosztów ekonomicznych, ale i społecznych. Z tego względu istotne staje się poszukiwanie metod mogących zapobiegać spadkowi zdolności poznawczych w starszym wieku lub go opóźnić, tak by seniorzy jak najdłużej pozostawali sprawni, aktywni i samodzielni. Podejmowane w tym zakresie badania koncentrują się na trzech głównych rodzajach oddziaływań: farmakologicznych, psychologicznych oraz związanych z promowaniem zdrowego stylu życia. W swojej prezentacji pragnę przyjrzeć się niefarmakologicznym metodom wspomagania poznawczego funkcjonowania zdrowo starzejących się seniorów, w szczególności skupiając się na doniesieniach naukowych z ostatnich lat, oceniających efektywność psychologicznych metod usprawniania pamięci seniorów. Odniosę się także do informacji na temat czynników protekcyjnych procesów kognitywnych u osób starszych, których wzmacnianie może mieć również znaczenie dla prewencji zaburzeń kognitywnych u osób starszych.

Wnioski z prowadzonych do tej pory badań potwierdzają znaczenie niefarmakologicznych oddziaływań dla funkcjonowania poznawczego seniorów, wskazując równocześnie na warunki, jakie winny być spełnione, by tego typu metody pomocy osobom starszym były efektywne.

KATARZYNA BASISTA-SOŁTYS, BARBARA FILIPEK

OCENA POTENCJAŁU ALERGIZUJĄCEGO PROPOLISU W TEŚCIE MAKSYMALIZACJI NA ŚWINKACH MORSKICH ORAZ JEGO PORÓWNANIE Z POTENCJAŁEM ALERGIZUJĄCYM BALSAMU PERUWIAŃSKIEGO

AFILIACJA: Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Propolis jest używany w Polsce jako substancja czynna niektórych leków stosowanych zewnętrznie do gojenia ran, oparzeń, odmrożeń, w suplementach diety oraz w kosmetykach. Według literatury przedmiotu propolis jest nietoksyczną i bezpieczną substancją, choć istnieje możliwość występowania alergii kontaktowej po propolisie.

Cel: Celem badania była ocena właściwości alergizujących propolisu i orzeczenie, czy jest on silnym, umiarkowanym bądź słabym alergenem lub też czy nie posiada właściwości uczulających. Dodatkowo potencjał alergizujący propolisu porównano z balsamem peruwiańskim, jako że istnieją dane, iż balsam peruwiański uczula od 2 do 3 razy częściej niż propolis.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono na świnkach morskich z racji podobnej wrażliwości na alergeny jak w przypadku organizmu ludzkiego. Testowi maksymalizacji poddano propolis oraz balsam peruwiański z powodu możliwości wystąpienia reakcji krzyżowej pomiędzy tymi dwiema substancjami. Test przeprowadzono zgodnie z wytyczną OECD Guideline for testing of chemicals – Skin sensitisation. Otrzymano zgodę na przeprowadzenie badania wydaną przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach (Uchwała nr 142/2012 z dnia 17 października 2012 roku).

Wyniki: Skóra świnek morskich w grupie propolisu nie wykazała żadnych widocznych zmian w stosunku do grupy kontrolnej w czasie pierwszej (48h) i drugiej obserwacji (72h). Skóra świnek morskich z grupy balsamu peruwiańskiego wykazała niewielkie zaczerwienienie tylko w jednym przypadku przy pierwszej obserwacji (8,33% zwierząt), a u pozostałych zwierząt nie zaobserwowano żadnych widocznych zmian w stosunku do grupy kontrolnej. Po drugiej obserwacji również stwierdzono brak widocznych różnic u wszystkich zwierząt.

Wnioski: W teście maksymalizacji świnek morskich nie wykazano właściwości uczulających propolisu oraz wykazano słabe właściwości uczulające balsamu peruwiańskiego.

ADAM BEDNARSKI, KATARZYNA STOLARZ-SKRZYPEK,
GRZEGORZ KIELBASA, MAŁGORZATA KLOCH-BADELEK,
DANUTA CZARNECKA

ZMIENNOŚĆ CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W ZALEŻNOŚCI OD 24-GODZINNEGO WYDALANIA SODU Z MOCZEM W POPULACJI POLSKIEJ O WYSOKIM SPOŻYCIU SOLI KUCHENNEJ

AFILIACJA: I Klinika Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Zmienność ciśnienia tętniczego (BPV) jest nowym i perspektywicznym markerem ryzyka sercowo-naczyniowego. Niektóre badania sugerują, iż zwiększenie spożycia soli wpływa na brak fizjologicznego nocnego spadku ciśnienia tętniczego oraz na zwiększenie krótkoterminowej BPV. Celem niniejszej pracy jest zbadanie związku między spożyciem sodu w diecie a zmiennością ciśnienia tętniczego w populacji charakteryzującej się wysokim spożyciem soli kuchennej.

Metodologia: Badaniem objęto 159 uczestników wybranych z populacji ogólnej. Każdemu uczestnikowi wykonano całodobowy nieinwazyjny pomiar ciśnienia (ABPM). Na podstawie danych z ABPM obliczono odpowiednio dla ciśnienia skurczowego i rozkurczowego: odchylenia standardowe z 24h, z okresu dnia i nocy. Jako wskaźników krótkoterminowej BPV użyto porannego przedobudzeniowego wzrostu ciśnienia oraz wskaźnika „sleep-through”. Do oceny długoterminowej BPV użyto różnicy ciśnienia dzień-noc. Spożycie sodu oszacowano na podstawie 24-godzinne go wydalania sodu z moczem. Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą oprogramowania SAS 9.3.

Wyniki: Badaniem objęto 75 mężczyzn i 84 kobiety, u 95 osób występowało nadciśnienie tętnicze (59,8%), średnia wieku wynosiła $47,8 \pm 14,8$ lat, średnie dobowe wydalanie sodu z moczem wynosiło 158 ± 67 mmol/l. W analizach standaryzowanych względem wieku, płci, leczenia hipotensyjnego, BMI i stylu życia nie wykazano liniowej zależności między spożyciem sodu i wyliczonymi wskaźnikami BPV. Zaobserwowano pozytywną korelację między spożyciem sodu 24-godzinnym ($[\beta \pm SE]: 0,027 \pm 0,013, p=0,033$) i nocnym ($0,032 \pm 0,015, p=0,029$) średnim ciśnieniem skurczowym.

Wnioski: W badanej grupie potwierdzono zależność pomiędzy spożyciem sodu a wartościami 24-godzinnego i nocnego ciśnienia tętniczego. Jednak w naszej populacji nie wykazano, iż spożycie sodu wpływa na zmienność ciśnienia tętniczego.

KONRAD BENEDYK, TOMASZ MIKOŁAJCZYK, TOMASZ GUZIK

BADANIE WPŁYWU AVE 0991 NA ŚRÓDBŁONEK NACZYŃ ORAZ AKTYWACJĘ I MIGRACJĘ LIMFOCYTÓW T W NADCIŚNIENIU TĘTNICZYM Z UŻYCIEM MODELU ZWIERZĘCEGO

AFILIACJA: Laboratorium Medycyny Translacyjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Znaczenie systemu RAA w patogenezie nadciśnienia jest powszechnie znane, a potwierdzone eksperymentalnie badania obserwacyjne wskazują na ważną rolę układu immunologicznego w patofizjologii tego schorzenia. Angiotensyna-(1-7) jest endogennym składnikiem układu RAA, wykazującym w układzie krążenia działanie antagonistyczne do angiotensyny II, co czyni ją potencjalnym celem w leczeniu nadciśnienia. AVE 0991 jest podstawioną pochodną imidazolu, który naśladując w organizmie efekt ang-(1-7), doskonale sprawdza się jako agonista dla jej receptorów, a tym samym staje się dobrym kandydatem do badania jej funkcji. Postanowiono więc zbadać rolę AVE w przebiegu nadciśnienia.

Metody: Myszy C57BL6/J karmiono przez 2 tygodnie paszą z AVE, po czym wywoływano u nich nadciśnienie i po kolejnych dwóch tygodniach karmienia AVE sprawdzano różnice w aktywności limfocytów T oraz oceniano poziom opóźnienia podstawowych funkcji układu krążenia.

Wyniki: W modelu nadciśnieniowym u myszy karmionych AVE zaobserwowano sukcesywne obniżenie ciśnienia skurczowego w porównaniu do kontroli ($162 \pm 4,8\%$ v. $143 \pm 6,4\%$ mmHg, wartości mierzone metodą tail-cuff). U myszy karmionych AVE zaobserwowano również poprawę o ok. 15% relaksacji naczyń (mierzone z użyciem organ bath system), a także obniżenie poziomu produkcji anionorodnika ponadtlenkowego (O₂-) w śródbłonku naczyń o 30% (luminometria). Metodami cytometrii przepływowej nie udało się jednoznacznie wykazać wpływu AVE na poziom aktywacji poszczególnych subpopulacji limfocytów T (testowano min. markery CD69+, CD25+, CD44+ oraz CCR5+ komórek T izolowanych z wybranych tkanek) w modelu nadciśnieniowym.

Wnioski: AVE wpływa na obniżenie wartości ciśnienia tętniczego, poprawę funkcji naczyń i obniżenie poziomu stresu oksydacyjnego w śródbłonku naczyń wywołanego nadciśnieniem tętniczym. Brak wyraźnej korelacji w poziomie aktywacji limfocytów T pomiędzy nadciśnieniowymi zwierzętami karmionymi i niekarmionymi AVE.

JOANNA MARTA BIEGAŃSKA*, BARTOSZ MACIEJ JANIK**

CZY ZABURZENIA SELEKTYWNOŚCI UWAGI MOGĄ ZWIĘKSZAĆ PODATNOŚĆ NA UROJENIA? DONIESIENIA Z BADAŃ PILOTAŻOWYCH

AFILIACJA: * Zakład Psychologii Lekarskiej, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Filozofii Prawa i Etyki Prawniczej, Uniwersytet Jagielloński

Modele uwzględniające etiologię urojeń, np. model Langdon i Colthearta, przypisują istotną rolę czynnikom neuropsychologicznym. Selektywność uwagi (zdolność dokonywania selekcji bodźców odbieranych z otoczenia oraz ogniskowania uwagi na wybranym jego aspekcie), determinująca przebieg procesu rozumowania, może stanowić istotną determinantę podatności urojeniowej.

Celem przedstawionego w posterze badania było sprawdzenie możliwości warunkowania natężenia i/oraz częstości występowania przekonań o charakterze urojeniowym przez zmiany w zakresie przejawianej selektywności uwagi.

20 zdrowych uczestników badań wypełniało komputerową wersję Kwestionariusza Podatności na Urojenia PDI autorstwa Peters i współpracowników (1999). Czas na odpowiedź był limitowany. 10 osób wypełniało wersję kwestionariusza wolną od jakichkolwiek dystraktorów, 10 natomiast wersję z dystraktorami, które stanowiły zmieniające się kolor i kształt figur stanowiących tło. Obie grupy osób badanych były dobrane pod względem wyznaczników demograficznych.

Wyniki zostaną omówione w kontekście opisanych w literaturze modeli neuropsychiatrycznych, w których zaburzenia selektywności uwagi mogą być rozważane jako czynnik inicjujący powstawanie przekonań urojeniowych. Wstępne wyniki sugerują wzmocnienie podatności urojeniowej przez deficyty bądź sytuacyjne obniżenie zasobów selektywności uwagi.

Bibliografia:

1. Arguedas D, Green M. J., Langdon R., Coltheart M. (2006), *Selective attention to threatening faces in delusion-prone individuals*, „Cogn. Neuropsychiatry”, 11: 557–575.
2. Langdon R., Coltheart M. (2000), *The cognitive neuropsychology of delusions*, „Mind & Language”, 15 (1), 184–218.

3. Lim M. H., Gleeson J. F., Jackson H. J. (2011), *Selective attention to threat bias in delusion-prone individuals*, „The Journal of Nervous and Mental Disease”, 199 (10), 765–772.
4. Peters E. R., Joseph S. A., Garety P. A. (1999), *Measurement of delusional ideation in the normal population: Introducing the PDI (Peters et al. Delusions Inventory)*, „Schizophrenia Bulletin”, 25, 553–576.

EWA BŁASZCZYK, PAWEŁ JAGIELSKI, MAŁGORZATA SCHLEGEL-ZAWADZKA

ZACHOWANIA ŻYWIENIOWE MŁODZIEŻY ZWIĄZANE Z KONSUMPCJĄ NAPOJÓW ENERGETYZUJĄCYCH I ICH WPŁYW NA RYZYKO ROZWOJU NADWAGI I OTYŁOŚCI WŚRÓD MŁODZIEŻY PONADGIMNAZJALNEJ. BADANIA WSTĘPNE

AFILIACJA: Zakład Żywienia Człowieka, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Nadwaga i otyłość jest jednym z problemów zdrowotnych. Szczególnie niepokojący jest nadmiar masy ciała obserwowany w młodszych grupach wiekowych.

Celem badań była ocena wpływu napojów energetyzujących na rozwój nadwagi i otyłości wśród młodzieży ponadgimnazjalnej pochodzącej ze środowiska wiejskiego.

Pierwszą część badań przeprowadzono wśród uczniów szkół ponadgimnazjalnych z terenów wiejskich na początku 2014 roku. W badaniu wzięło udział 198 osób w wieku od 16 do 18 lat. Od wszystkich uczestników uzyskano pisemną zgodę na udział w badaniu. Wszyscy uczestnicy badania zostali poddani badaniom ankietowym przy pomocy anonimowego kwestionariusza częstotliwości spożycia wybranych produktów i napojów, w tym napojów energetyzujących, jak również wykonano u nich pomiary antropometryczne – masy ciała, wzrostu, składu ciała oraz pomiary obwodu talii i bioder. Analizy zebranych danych wykonano w programie statystycznym SAS 5.1 (Licencja UJ). W badaniu wzięło udział 105 chłopców (53,03%) oraz 93 dziewczęta (46,97%) w wieku $17,04 \pm 0,57$ lat. Pod względem konsumpcji napojów bezalkoholowych zaznaczyły się istotne statystycznie różnice pod względem częstotliwości picia napojów: izotonicznego ($p=0,0001$) oraz słodkiego gazowanego ($p=0,0383$). Chłopcy istotnie częściej niż dziewczęta pili napoje energetyzujące ($p=0,0092$). Interpretacja wskaźnika BMI pokazała odpowiednio u 74,29% chłopców oraz 64,52% dziewcząt prawidłową masę ciała. Dla 20,95% chłopców i 25,81% dziewcząt wskaźnik wskazał na występowanie nadwagi i otyłości.

Pierwsze, wstępne wyniki badań przeprowadzonych wśród populacji młodych osób zamieszkujących tereny wiejskiej potwierdziły, iż płeć jest istotnym czynnikiem decydującym o spożyciu napojów energetyzujących. Na tym etapie badań nie wykazano różnic między częstotliwością spożycia napojów energetyzujących a stanem odżywienia badanych.

PRZEMYSŁAW BOROWY, EDWARD CZERWIŃSKI

OCENA SKUTECZNOŚCI SUPLEMENTACJI CHOLEKALCYFEROLU W DAWCE 5000 UI/DOBĘ U CHORYCH Z OSTEOPOROZĄ I OBNIŻONYM POZIOMEM 25(OH)D₃

AFILIACJA: Zakład Chorób Kości i Stawów, Instytut Fizjoterapii, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Niedobór witaminy D u osób dorosłych obejmuje od 30 do 80% populacji Europy. W większości przypadków przebiega bezobjawowo. Najczęściej jest rozpoznawany w trakcie diagnostyki różnicowej osteoporozy. Istniejące zalecenia proponują ogólne schematy postępowania w leczeniu niedoboru D₃, uzależnione od przyczyny, nie precyzując jednak dawek, czasu ani drogi podania leków. Brak też precyzyjnych obserwacji co do możliwych działań niepożądanych i ryzyka przedawkowania poszczególnych preparatów i wysokich dawek witaminy D. Celem naszego badania była ocena skuteczności i bezpieczeństwa 14-dniowej, doustnej dawki 5000 UI cholekalcyferolu stosowanego jeden raz dziennie w leczeniu pomenopauzalnych pacjentek z osteoporozą. Do badania zaproszono 63 pacjentki w wieku 55–79 lat. Ostatecznie badaniem objęto 48 pacjentek spełniających kryteria włączenia, u których stwierdzono poziom 25(OH)D₃ poniżej 16 ng/ml (44 nmol/l). W trakcie 15-dniowego leczenia uzyskaliśmy wzrost poziomu 25(OH)D₃ u wszystkich chorych do wartości zalecanych (od 56 nmol/dl do 88,6 nmol/dl). Procentowy wzrost poziomu witaminy 25(OH)D₃ wynosił od 46,5% do 146,5%. Nie obserwowano działań niepożądanych leku ani zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej. Wszystkie pacjentki kontynuowały udział w badaniu. Wydaje się, że dawka 5000 UI cholekalcyferolu na dobę jest bezpieczna, dobrze tolerowana i skuteczna w leczeniu niedoborów D₃. Proponowane leczenie może być zastosowane u chorych ze świeżo rozpoznaną osteoporozą, przed rozpoczęciem leczenia antyresorpcyjnego, ponieważ pozwala szybko uzupełnić niedobory D₃.

ŻANETA BRONIEWSKA

WPLYW POCHODNYCH BENZOFENONU NA ŻYWOTNOŚĆ KOMÓREK LUDZKIEJ NEUROBLASTOMY (SY-SY5Y)

AFILIACJA: Zakład Biochemii Toksykologicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Pochodne benzofenonu należą do grupy związków chemicznych szeroko stosowanych w preparatach kosmetycznych jako filtry UV oraz jako dodatek do opakowań produktów spożywczych. Ich działanie na receptory estrogenowe jest stosunkowo dobrze poznane, natomiast wpływ pochodnych benzofenonu na żywotność komórek centralnego systemu nerwowego nie był dotychczas badany.

Celem projektu było określenie potencjalnego, cytotoksycznego działania wybranych pochodnych benzofenonu na komórki nerwowe w warunkach *in vitro*. Badano wpływ benzofenonu-3, benzofenonu-2 oraz 4-metylobenzofenonu na żywotność komórek ludzkiej neuroblastomy (SH-SY5Y). Badane związki były dodawane do medium hodowlanego w stężeniach od 10^{-8} do 10^{-4} M na 24 oraz 72 godz. Działanie cytotoksyczne było określane poprzez pomiar poziomu dehydrogenazy mleczanowej (LDH) uwolnionej z uszkodzonych komórek do medium oraz testem redukcji MTT, określającym aktywność enzymów mitochondrialnych żywych komórek.

Stwierdzono, że benzofenon-2 oraz benzofenon-3 obecne w pożywce hodowlanej przez 24 godz. w stężeniu 10^{-4} M wykazują działanie cytotoksyczne. Działanie uszkodzające komórki nerwowe zostało potwierdzone poprzez pomiar stężenia dehydrogenazy mleczanowej oraz testem redukcji MTT. W przeciwieństwie do tych związków 4-metylobenzofenon nie wykazał znamionnego wpływu na żywotność komórek. Benzofenon-3 oraz benzofenonu-2 w stężeniach 10^{-5} i 10^{-4} M (obecne w pożywce hodowlanej przez 72 godz.) wywołały uszkodzenie komórek, nasilając uwalnianie LDH, i zmniejszały ich żywotność ocenianą testem redukcji MTT. 4-metylobenzofenon wywierał cytotoksyczne działanie wyłącznie w stężeniu 10^{-4} M.

Uzyskane wyniki wskazują, że niektóre pochodne benzofenonu, a zwłaszcza benzofenon-2, mogą być odpowiedzialne za inicjowanie lub nasilanie uszkodzeń komórek nerwowych i ich potencjalne neurotoksyczne działanie powinno zostać określone w badaniach *in vivo*.

MATEUSZ BRÓZDA, AGNIESZKA SARNECKA, MARCIN WALIGÓRA,
MAGDALENA NOWACKA, GRZEGORZ KOPEĆ, PIOTR PODOLEC

SKUTECZNOŚĆ I BEZPIECZEŃSTWO REHABILITACJI KARDIOLOGICZNEJ U PACJENTÓW Z TĘTNICZYM NADCIŚNIENIEM PŁUCNYM

AFILIACJA: Klinika Chorób Serca i Naczyń, Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Wstęp: Wprowadzenie leków swoistych dla tętniczego nadciśnienia płucnego (PAH) poprawiło rokowanie, niemniej jednak bardzo ważnym zagadnieniem pozostaje znaczne ograniczenie codziennej aktywności fizycznej tych chorych, wpływające na jakość życia i samodzielne funkcjonowanie w społeczeństwie. Celem pracy jest ocena skuteczności i bezpieczeństwa kompleksowego programu rehabilitacji kardiologicznej pacjentów z PAH.

Metodologia: Pacjenci z PAH w klasie wydolności II-IV wg WHO na stabilnej terapii farmakologicznej przez okres przynajmniej 3 miesięcy byli kwalifikowani do programu 2-tygodniowej rehabilitacji stacjonarnej połączonej z 10-tygodniową rehabilitacją domową, monitorowaną telemetrycznie. U każdego pacjenta przed włączeniem do badania oraz po 12 tygodniach wykonano test 6-minutowego marszu oraz test spiroergometryczny, oceniono duszność w skali Borga i klasę wydolności wg WHO, a także oznaczono stężenie NT-pro-BNP. Ponadto do oceny jakości życia użyto kwestionariusza SF-36. Leczenie farmakologiczne pozostało niezmienione przez cały okres rehabilitacji.

Wyniki: 10 pacjentów z PAH (7 kobiet; $49,5 \pm 12,8$ lat) ukończyło pełny 12-tygodniowy program rehabilitacji kardiologicznej. Po 12 tygodniach nie odnotowaliśmy istotnej poprawy w dystansie w teście 6-minutowego marszu ($354,4 \pm 93,7$ v. $359 \pm 80,4$; $p=0,838$), stężeniu NT-proBNP ($1370,6 \pm 2898,3$ v. $1732,8 \pm 4019,4$; $p=0,507$) i szczytowym pochłanianiu tlenu ($14,4 \pm 3,0$ v. $15,9 \pm 4,12$; $p=0,142$). Niemniej jednak zaobserwowaliśmy istotny spadek duszności w skali Borga ($4,8 \pm 2,1$ v. $3,1 \pm 2,2$; $p=0,044$), poprawę klasy czynnościowej ($2,9 \pm 0,7$ v. $2,4 \pm 0,7$; $p=0,043$) i poprawę jakości życia. Rehabilitacja była ogólnie dobrze tolerowana, jednakże powikłania w postaci stanów przedomdleniowych i krwotłucia obserwowano u dwóch chorych.

Wnioski: 12-tygodniowy program rehabilitacji zmniejszył duszność, poprawił klasę czynnościową i jakość życia pacjentów z PAH, co nie miało jednak odzwierciedlenia w obiektywnych badaniach wydolności fizycznej. Ścisłe monitorowanie przebiegu rehabilitacji jest warunkiem koniecznym wczesnego wykrycia i zapobiegania możliwym powikłaniom.

BARTOSZ BRZOSOWSKI, TOMASZ MACH

OBRAZ KLINICZNY NIESWOISTYCH ZAPALEŃ JELIT W KONTEKŚCIE STRESU I INNYCH CZYNNIKÓW MOGĄCYCH WYWOŁAĆ ZAOSTRZENIE OBJAWÓW KLINICZNYCH

AFILIACJA: Klinika Gastroenterologii i Hepatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Do nieswoistych chorób zapalnych jelit (NZJ) należą wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG) i choroba Leśniowskiego-Crohna (ChL-C). Choroby te przebiegają przewlekłe z okresami zaostrzeń objawów klinicznych i remisji. Patogeneza NZJ nie jest jasna. Uwzględnia się wzajemne relacje czynników genetycznych, zaburzeń immunologicznych i środowiskowych, w tym stresu i mikroflory jelitowej.

Celem pracy jest zbadanie czynników mogących mieć wpływ na zaostrzenie aktywności klinicznej NZJ, ze szczególnym uwzględnieniem stresu, w tym zachowanie się markerów stanu zapalnego, aktywności mieloperoksydazy i niektórych hormonów, a także wybranych cytokin prozapalnych w surowicy i błonie śluzowej jelita grubego.

Materiał i metody: U chorych na WZJG i ChL-C (wiek 18–65 lat) badania obejmują w okresie zaostrzenia i remisji: wywiad, badanie przedmiotowe, morfologię krwi, OB, stężenie w surowicy CRP, żelaza, albumin, cytokin IL-1beta i TNF-alfa oraz ACTH, CRF, PTH, norepinefyny, greliny, leptyny, oreksyny A, melatoniny, a także aktywność mieloperoksydazy (wskaźnik stresu oksydacyjnego i peroksydacji lipidów). W kolonoskopii (w okresie remisji sigmoidoskopia) badana jest aktywność procesu zapalnego jelita (skala Truelove-Wittsa i Harveya-Bradshawa), a w wycinkach błony śluzowej jelita grubego ocena histopatologiczna zapalenia i ekspresja cytokin IL-1 beta i TNF-alfa. Ponadto przeprowadzane są wybrane testy psychologiczne (KPS i CISS). W grupie kontrolnej badania obejmują ww. badania krwi.

Wnioski: Dotychczasowe wstępne badania potwierdzają związek zaostrzenia objawów klinicznych z obecnością markerów zapalnych NZJ, wskazują na możliwy związek między wystąpieniem i utrzymywaniem się objawów zaostrzenia choroby a radzeniem sobie ze stresem w trudnych sytuacjach.

VITTORIO CANALE*, ANNA PARTYKA**, GRZEGORZ SATAŁA***,
RAFAŁ KURCZAB***, ANNA WASIK**, MACIEJ PAWŁOWSKI*,
ANDRZEJ J. BOJARSKI***, ANNA WESOŁOWSKA**,
PAWEŁ ZAJDEL*

ARYLOSULFONAMIDOWE POCHODNE ARYLOKSY-/ ARYLOTIO-ETYŁO AMIN ALICYKLICZNYCH JAKO NOWA GRUPA ANTAGONISTÓW RECEPTORÓW 5-HT7

AFILIACJA: * Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Farmacji Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk w Krakowie

Coraz większa liczba danych z badań przedklinicznych i klinicznych potwierdza hipotezę, że antagoniści receptorów 5-HT7 mogą stanowić alternatywę dla leków aktualnie stosowanych w terapii zaburzeń depresyjnych i/lub lęku, jak również zaburzeń kognitywnych towarzyszących starzeniu się oraz chorobie Alzheimera. Efektem ostatnich badań prowadzonych w naszym zespole było opracowanie zintegrowanej metody generowania wirtualnych bibliotek kombinatorycznych i wirtualnego skryningu VCL-VS. Metoda ta posłużyła do projektowania i syntezy biblioteki aryloksy- oraz arylotio-etylowych pochodnych amin alicyklicznych z ugrupowaniami aryloamidowymi i arylosulfonamidowymi jako ligandów receptorów 5-HT7¹.

W porównaniu do wcześniej opisywanych długołańcuchowych arylopiperazyn (LCAP) fragment arylopiperazynowy zastąpiliśmy giętkim układem aryloksy-etylo- i arylotioetylo- aminowym z równoczesnym częściowym usztywnieniem we fragmencie odpowiadającym łańcuchowi alkilenowemu. Dalsze modyfikacje polegały na bioizosterycznej zamianie wiązania amidowego ugrupowaniem sulfonamidowym².

W prezentowanych badaniach otrzymaliśmy serię nowych arylosulfonamidowych biomimetyków LCAP. Zasadnicze modyfikacje strukturalne polegały na zastąpieniu centralnego fragmentu piperydynowego układem azabicyklo [3.2.1]-oktanu oraz wprowadzeniu grupy izopropylowej lub podstawnika fenylowego w pozycji orto fragmentu piperazynowego.

Ocena powinowactwa związków do receptorów 5-HT7 i 5-HT1A oraz określenie profilu aktywności wewnętrznej w warunkach *in vitro* pozwoliło na wyse-

lekcjonowanie najbardziej interesujących antagonistów receptorów 5-HT₇ do badań behawioralnych *in vivo* w celu określenia ich potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr DEC-2012/05/B/NZ7/03076.

Bibliografia:

1. Zajdel P. et al., „Eur. J. Med. Chem.”, 2012, 56, 348–360.
2. Grychowska K. et al., „Arch. Pharm. Chem. Life Sci.”, 2013, 346, 180–188.

KATARZYNA CYRANKA, KRZYSZTOF RUTKOWSKI,
MICHAŁ MIELIMĄKA, BOGNA SMIATEK-MAZGAJ

ZMIANY W STRUKTURZE OSOBOWOŚCI U PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI NERWICOWYMI I ZABURZENIAMI OSOBOWOŚCI LECZONYCH PSYCHOTERAPIĄ GRUPOWĄ Z ELEMENTAMI TERAPII INDYWIDUALNEJ

AFILIACJA: Katedra Psychoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Analiza wpływu i skuteczności psychoterapii grupowej na strukturę osobowości pacjentów leczonych z powodu zaburzeń nerwicowych i wybranych zaburzeń osobowości. Ocena użyteczności MMPI2 w diagnostyce i ocenie wyników leczenia zaburzeń nerwicowych i osobowości.

Grupa badana: Zbadano 50 pacjentów Oddziału Dziennego Leczenia Nerwic i Zaburzeń Behawioralnych SU w Krakowie z rozpoznaniem zaburzeń z grupy F.40-F48 (z wyłączeniem F43) i/lub rozpoznaniem zaburzeń z grup F60 i F61. Wiek pacjentów włączonych do badania: ukończony 18. rok życia w chwili zgłoszenia do terapii.

Narzędzia badawcze: 1. Kwestionariusz MMPI – 2 (samoopisowy kwestionariusz osobowości); 2. Ankieta życiorysowa.

Metody badawcze: Pacjenci uczestniczyli w intensywnej kompleksowej psychoterapii: od 130 do 210 godzin psychoterapii grupowej oraz 10–14 godzin psychoterapii indywidualnej. Terapia prowadzona była w nurcie integrującym elementy teorii psychodynamicznych oraz poznawczych. Przeprowadzono pomiary analizowanych zmiennych na początku (nie później niż w pierwszym tygodniu leczenia) oraz na końcu terapii (w ostatnim tygodniu leczenia). Porównano i przeanalizowano otrzymane wartości z zastosowaniem adekwatnie dobranych do zbioru danych metod statystycznych.

Wyniki: Znaczące zmiany wystąpiły w 6 z 11 analizowanych skal kwestionariusza MMPI-2: Hipochondrii, Depresji, Psychastenii, Schizofrenii, Introwersji Społecznej i Siły Ego. Kierunek zmian zwrócony jest w stronę profilu prawidłowego.

Wnioski: Intensywna psychoterapia grupowa z elementami terapii indywidualnej, głównie psychodynamiczna, jest skuteczna w leczeniu zaburzeń nerwicowych i zaburzeń osobowości. Kwestionariusz MMPI-2 jest użytecznym narzędziem do badania zmian zachodzących w strukturze osobowości w wyniku psychoterapii.

KAROLINA DEJKO

MENTALIZACJA JAKO MECHANIZM REGULACJI EMOCJONALNEJ U RODZICÓW DZIECI LECZONYCH PSYCHIATRYCZNIE

AFILIACJA: Katedra Psychiatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenie i cel: Wyniki licznych badań prowadzonych z perspektywy systemowej wskazują, że zaburzenia emocji, zachowania oraz rozwoju u dzieci poznaczają w związku z funkcjonowaniem psychospołecznym ich rodziców. Obserwowane zależności mają charakter cyrkularny – psychopatologia dziecka może być źródłem stresu dla rodziców, a obniżone zdolności regulacji własnych zachowań i emocji u rodziców mogą stanowić niekorzystne środowisko dla rozwoju i funkcjonowania ich dzieci. W prezentowanych badaniach autorka koncentruje się na mentalizacji jako mechanizmie regulacji emocjonalnej rodziców aktywowanym w sytuacji obciążenia spowodowanego chorobą dziecka. Przeprowadzona analiza ma na celu wskazanie zależności między poziomem funkcjonowania dziecka a poziomem zdolności do mentalizowania jego rodziców.

Metodologia: Badanie przeprowadzono w grupie 12 rodziców. Pomiar zdolności do mentalizowania przeprowadzono za pomocą Skali Funkcjonowania Refleksyjnego. Jest to metoda oparta na analizie narracji wywodzącej się z metodologii jakościowej badań naukowych. Poziom stresu i depresyjności oraz sposoby radzenia sobie zbadano metodami kwestionariuszowymi. Poziom funkcjonowania dziecka określono na podstawie wywiadu klinicznego.

Wyniki: Przeprowadzono wstępną analizę, której wyniki wskazują na istnienie zależności między poziomem funkcjonowania dziecka a poziomem zdolności rodziców do mentalizowania. Ponadto, poziom zdolności do mentalizowania jest zależny od poziomu doświadczanego stresu oraz depresyjności.

Wnioski: Przeprowadzone badania mają charakter pilotażowy. Wnioski sformułowane na podstawie otrzymanych wyników mają charakter wstępny oraz wymagają dalszego opracowania. Badanie powinno być przeprowadzone na większej próbie.

ANNA DELA*, BEATA DUSZYŃSKA**, GRZEGORZ SATAŁA**,
JADWIGA HANDZLIK*, ANDRZEJ J. BOJARSKI**,
KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

WPLYW MODYFIKACJI STRUKTURALNYCH W GRUPIE ARYLIDENOWYCH POCHODNYCH FENYLOPIPERAZYNY NA POWINOWACTWO DO RECEPTORÓW 5HT1A I 5HT7 SEROTONINOWYCH

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Chemii Medycznej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk

Na przełomie ostatnich lat receptory serotoniny stały się obiektem badań ze względu na ich potencjalną rolę w zaburzeniach neurologicznych. Receptory 5HT_{1A} oraz 5HT₇ serotoniny to siedmiohelikalne, transmembranowe receptory sprzężone z białkiem G. Receptory 5HT_{1A} to miejsce działania leków przeciwlękowych, przeciwdepresyjnych. Odgrywają one istotną rolę w chorobie Alzheimera. Występują w korze mózgowej, ciele migdałowatym, sprzężone z białkiem G typu Gi/Go. Receptory 5HT₇ odgrywają ważną rolę w procesach termoregulacji i w zapamiętywaniu. Odpowiedzialne za zaburzenia funkcji poznawczych, zmiany nastrojów, mogą być również istotne w leczeniu depresji. Znajdują się w korze mózgowej, naczyniach krwionośnych, przewodzie żółdkowo-jelitowym. Są sprzężone z białkiem G typu Gs [1, 2].

Szereg naukowych doniesień pokazuje, iż wiele związków wykazujących powinowactwo do omawianego typu receptorów zawiera fragment arylopiperazynowy [3].

W badaniach otrzymaliśmy nowe N-3-fenylopiperazynowe pochodne 5-arylidenozydantoiny. Podczas syntezy modyfikowane były podstawniki we fragmencie fenylopiperazynowym i obszarze benzylidenohydantoiny oraz długość łańcucha węglowego. Nowe połączenia uzyskiwano w trójetapowej syntezie: 1) kondensacja Knoevenagla, 2) reakcja Mitsunobu, 3) stapianie w promieniowaniu mikrofalowym. Otrzymane związki przebadano w kierunku powinowactwa do receptorów 5HT_{1A} oraz 5HT₇ serotoniny, stosując w [3H]-OH DPAT, [3H]-LSD oraz [3H]-5-CT jako radioligandy.

Wyniki pokazują wysokie powinowactwo badanych połączeń do omawianych receptorów. Dla 5HT_{1A} K_i mieściło się ono w granicach 10–372 nM, zaś dla

5HT7 Ki było w granicach 29–1517 nM stężeń. Analiza zależności struktura – aktywność wykazała korzystny wpływ podstawników alkoksylowych we fragmencie arylidenowym oraz chlorowca w obszarze fenylopiperazynowym.

Finansowanie w ramach projektu K/ZDS/004689.

Bibliografia:

1. Bojarski A. J., Duszyńska B., Kołaczkowski M., Kowalski P., Kowalska T., „Bioorg. Med. Chem. Lett.”, 2004, 14, 5863.
2. Kurczab R., Nowak M., Chilmonczyk Z., Sylte I., Bojarski A. J., „Bioorg. Med. Chem. Lett.”, 2010, 20, 2465–2468.
3. Kołaczkowski M., Nowak M., Pawłowski M., Bojarski A. J., „J. Med. Chem.”, 2006, 49, 6732–6741.

OLGA DĘBSKA, RADOSŁAW ŚPIEWAK

ORDYNACJA TOKSYNY BOTULINOWEJ I WYPEŁNIACZY TKANKOWYCH PRZEZ NIE-LEKARZY: ANALIZA AKTUALNYCH OBYCZAJÓW

AFILIACJA: Zakład Dermatologii Doświadczalnej i Kosmetologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Celem pracy było poznanie i przedstawienie opinii kosmetologów na temat potencjalnego ordynowania przez nich leków przeciwtrądzikowych klientom gabinetów kosmetycznych.

Materiał i metody: Ankietowe badanie przeprowadzono wśród 160 studentek Uniwersytetu Jagiellońskiego na kierunku kosmetologia. Pytania dotyczyły tego, kto ich zdaniem posiada kwalifikacje do ordynowania leków przeciwtrądzikowych, toksyny botulinowej i wypełniaczy tkankowych. Respondentki wskazywały nazwy konkretnych leków przeciwtrądzikowych, które były przez nie zalecane lub podawane. Przeprowadzono badanie obserwacyjne ofert produktów toksyny botulinowej i wypełniaczy tkankowych dostępnych na platformie Allegro oraz podjęto kontakt e-mailowy z firmami oferującymi szkolenia w zakresie wstrzykiwania toksyny botulinowej oraz wypełniaczy tkankowych.

Wyniki: 21% badanych uważało, że kosmetolog posiada kwalifikacje do ordynowania leków przeciwtrądzikowych, zalecając: Izotec (17%), Differin (15%), Tetracyclinum (9%), Tetralysal (9%), Izotrex (9%), Isotrexin (8%). Wszyscy ankietowani uważają, że lekarze posiadają kwalifikacje do przepisywania leków przeciwtrądzikowych, ponadto 26% studentek było zdania, że kosmetolodzy mogą podawać wypełniacze tkankowe w celu eliminacji zmarszczek. W tej grupie 3% podawało wypełniacze tkankowe: Restylane, Juvederm, Radiesse, Teosyal i Sculptra. Według 21% ankietowanych kosmetolog może wstrzykiwać toksynę botulinową. Jedna z respondentek podczas swojej pracy wstrzyknęła toksynę botulinową. W kwietniu 2013 roku 18 sprzedawców oferowało 3762 opakowania wypełniaczy tkankowych, głównie kwasu hialuronowego oraz jedno opakowanie toksyny botulinowej. W tym czasie zakupiono 9 opakowań usieciowanego kwasu hialuronowego. Spośród pięciu firm organizujących szkolenia w zakresie wstrzykiwania wypełniaczy tkankowych i toksyny botulinowej tylko jedna odpowiedziała, że szkolenia organizowane są wyłącznie dla lekarzy.

Wnioski: Studenci kosmetologii w swojej pracy zawodowej mimo braku uprawnień ordynują leki przeciwtrądzikowe, wstrzykują wypełniacze tkankowe oraz toksynę botulinową. Wszyscy ankietowani wiedzą, że kwalifikacje do ordynowania leków posiadają lekarze, mimo to niektórzy uważają, że magistrzy kosmetologii również posiadają takie kwalifikacje, tym samym ordynując leki wydawane na receptę.

URSZULA DOBOSZEWSKA*, KATARZYNA MŁYNIEC**, GABRIEL NOWAK*

ROLA KINAZY SYNTAZY GLIKOGENU 3 β (GSK3B) W MECHANIZMIE DZIAŁANIA LEKÓW PRZECIWDEPRESYJNYCH

AFILIACJA: * Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Od momentu odkrycia, że stosowany od wielu lat w terapii stabilizator nastroju lit jest inhibitorem kinazy syntazy glikogenu 3 (GSK3), zwrócono uwagę na możliwy związek między GSK3 a chorobami afektywnymi – antagoniści tego enzymu są proponowani w badaniach przedklinicznych jako potencjalne leki przeciwdepresyjne. Celem pracy jest określenie roli izoformy β kinazy GSK3 (GSK3 β), występującej szczególnie w ośrodkowym układzie nerwowym, w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych.

Materiał i metody: W niniejszym badaniu wykorzystano zwierzęcy model depresji chronicznego łagodnego stresu. Procedura chronicznego łagodnego stresu prowadzi m.in. do zmniejszenia wrażliwości na bodźce nagradzające mierzonej spożyciem 1% roztworu sacharozy, co naśladuje objaw anhedonii. 2 tygodnie po zastosowaniu pierwszych bodźców stresowych rozpoczęto podawanie imipraminy (10 mg/kg m-c/dzień). Grupa kontrolna otrzymywała sól fizjologiczną (1 ml/kg m-c/dzień). Spożycie 1% roztworu sacharozy monitorowano przez cały eksperyment. 24 godziny po podaniu ostatnich dawek zwierzęta uśmiercono i pobrano struktury mózgu. W hipokampach i korach przedczołowych oznaczono ekspresję GSK3 β i ufosforylowanej w pozycji Ser-9, czyli nieaktywnej, formy GSK3 β (pGSK3 β (Ser-9)) metodą Western blot.

Wyniki: Chroniczny łagodny stres spowodował istotne obniżenie spożycia 1% roztworu sacharozy. Chroniczne podania imipraminy stopniowo zwiększały spożycie tego roztworu u zwierząt poddanych procedurom stresu. Nie zaobserwowano różnic w poziomie całkowitego GSK3 β między badanymi grupami, zaobserwowano natomiast, iż stres istotnie obniża ekspresję pGSK3 β (Ser-9) w korze przedczołowej i w hipokampie, a podanie imipraminy odwraca zmiany w ekspresji pGSK3 β (Ser-9) wywołane stresem w tych strukturach mózgu.

Wnioski: Uzyskane wyniki sugerują udział kinazy GSK3 w mechanizmie działania przeciwdepresyjnego imipraminy w modelu chronicznego łagodnego stresu i patofizjologii anhedonii.

IWONA DOROŻYŃSKA, KATARZYNA MARCIŃSKA,
MONIKA MAJEWSKA-SZCZEPANIK, MARIAN SZCZEPANIK

WPLYW OTYŁOŚCI NA PRZEBIEG REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW U MYSZY

AFILIACJA: Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Katedra Biologii Medycznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Otyłość i nadwaga stanowią globalny problem zdrowotny. Według WHO w roku 2008 problem nadwagi dotyczył 1,4 miliarda dorosłych i 40 milionów dzieci poniżej piątego roku życia. Długotrwałe skutki zdrowotne nadwagi prowadzą do rozwoju wielu chorób przewlekłych, w tym m.in. cukrzycy typu drugiego, zwyrodnienia stawów. Obecnie uważa się, że w otyłości występuje przewlekły stan zapalny o niskim nasileniu, co wiąże się z występowaniem schorzeń towarzyszących otyłości.

Celem badań było określenie wpływu otyłości na przebieg kolagenowego zapalenia stawów (CIA) u myszy. W celu wywołania otyłości myszy DBA1 karmiono paszą wysokotłuszczową (HFD) przez 4 tygodnie przed wywołaniem CIA. Karmienie paszą HFD kontynuowano przez cały okres obserwacji CIA. Myszy kontrolne otrzymywały dietę kontrolną (ND). CIA wywołano poprzez podskórne podanie bydłęcego kolagenu (COLL II) z kompletnym adiuwantem Freund'a (CFA) w dniu „0” oraz COLL II w IFA w dniu „21”. Następnie zwierzęta były monitorowane ze względu na przebieg choroby wg czterostopniowej skali.

Wstępne badania wykazały, że karmienie myszy dietą HFD przez okres 4 tygodni prowadzi do znamienego przyrostu masy ciała w porównaniu z grupą kontrolną. Ocena makroskopowa przebiegu choroby wykazała, że myszy otrzymujące HFD mają znamienne łagodniejszy przebieg choroby. Badania makroskopowe korelowały z pomiarem aktywności mieloperoksydazy w homogenatach z tkanki stawowej. Badania wykazały, że komórki węzłów chłonnych pachowych i pachwinowych od zwierząt otrzymujących HFD, u których wywołano CIA, produkują znamienne niższy poziom IFN- γ i IL-17A w porównaniu do myszy na ND. Dalsze badania wykazały, że przyjmowanie diety HFD prowadzi do spadku liczby kolonii bakteryjnych (*colony forming unit* (CFU)) wzrastających w warunkach tlenowych i beztlenowych wyizolowanych z treści jelitowej.

MAGDALENA FILIP*, JACEK GŁODZIK**, ANDRZEJ SALAKOWSKI***,
KRZYSZTOF REWIUK***, TOMASZ MIKOŁAJCZYK*,
TOMASZ GRODZICKI***, TOMASZ GUZIK*

**WPLYW REGULARNEGO KONTROLOWANEGO WYSILKU
FIZYCZNEGO NA PARAMETRY ZAPALNE WE KRWI
U PACJENTÓW Z WYSOKIM PRAWDŁOWYM CIŚNIENIEM KRWI.
RANDOMIZOWANE BADANIE NAPRZEMIENNE**

AFILIACJA: * Laboratorium Medycyny Translacyjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Fizjoterapii, Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie; *** Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Celem badania było określenie wpływu 3-miesięcznego treningu na rowerach treningowych u zdrowych pacjentów charakteryzujących się wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym w systemie badania naprzemiennego.

Metody: 16 ochotników z wysokim prawidłowym ciśnieniem (130–139/85–89 mmHg) zostało zrandomizowanych do 3-miesięcznego treningu obejmującego 36 sesji na rowerach treningowych oraz grupy kontrolnej kontynuującej rutynowy styl życia. Po kilkumiesięcznej przerwie od zakończenia badania przeprowadzono u nich badanie o charakterze naprzemiennym. Przed rozpoczęciem interwencji (lub kontroli) oraz po zakończeniu izolowano PBMC z krwi żyłnej i analizowano charakterystykę leukocytów krwi obwodowej za pomocą cytometrii przepływowej. Porównywano zmianę poszczególnych parametrów (Δ) w grupie kontrolnej i badanej.

Wyniki: Zaobserwowano spadek % limfocytów T CD8 ($-2,61 \pm 5,15$ v. $-0,04 \pm 3,03$; $p < 0,05$) oraz tendencję wzrostową % limfocytów T CD4 u pacjentów poddanych regularnemu treningowi. Wśród populacji limfocytów T nastąpił wzrost odsetka komórek pamięci ($5,01 \pm 4,44$ v. $1,18 \pm 4,59$; $p < 0,05$) oraz komórek naiwnych CD8 ($0,30 \pm 5,41$ v. $-1,56 \pm 4,67$; $p < 0,05$). W populacjach limfocytów CD4 oraz podwójnie ujemnych – DN (CD3+CD8-CD4-) – zaobserwowano wzrost ekspresji receptora dla chemokiny RANTES - CCR5 (CD4: $83,31 \pm 166,42$ v. $-28,93 \pm 77,16$; $p < 0,05$; DN: $182,56 \pm 322,74$ v. $-62,63 \pm 132,58$; $p < 0,05$). Wśród komórek DN zaobserwowano spadek odsetka komórek wykazujących ekspresję markera wczesnej aktywacji CD69 ($-1,69 \pm 1,92$ v. $0,91 \pm 2,27$; $p < 0,05$) oraz tendencję spadkową % limfocytów CD69+ wśród populacji CD8. W populacji monocytów nastąpił spadek % komórek CD14dim CD16 ($-1,52 \pm 2,18$ v. $0,30 \pm 2,21$; $p < 0,05$) przy jednoczesnym wzroście ekspresji CD11c

w populacjach: CD14 ($1087 \pm 1255,46$ v. $-12,38 \pm 850,68$; $p < 0,05$), CD14CD16 ($2435,19 \pm 2501,86$ v. $-304,75 \pm 1317,92$; $p < 0,05$) oraz CD14dimCD16 ($2988,06 \pm 3051,48$ v. $-166,19 \pm 1685,97$; $p < 0,05$).

Podsumowanie: Wysilek fizyczny może mieć modulujący wpływ na układ immunologiczny w grupie pacjentów zagrożonych rozwojem nadciśnienia tętniczego.

JOANNA FILIPOWSKA*/**, ŁUKASZ NIEDŹWIEDZKI*,
ANNA M. OSYCZKA**

MECHANIZMY KOŚCIOTWORZENIA W KULTURACH 3D LUDZKICH MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH POCHODZENIA SZPIKOWEGO STYMULOWANYCH rhBMP-2 I PERFUZYJNYM PRZEPŁYWEM PŁYNÓW

AFILIACJA: * Klinika Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu, Instytut Fizjoterapii, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Biologii i Obrazowania Komórki, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

W ostatnich latach wzrasta zapotrzebowanie na optymalizację działania ludzkiego rekombinowanego białka morfogenetycznego kości typu 2 (rhBMP-2) w leczeniu klinicznym ubytków kostnych. Szczególną nadzieję wiąże się ze strategiami inżynierii tkankowej opartymi na dostarczaniu komórek prekursorowych kości na odpowiednich trójwymiarowych rusztowaniach i stymulowanych rhBMP-2, a w najnowszym ujęciu także mechanicznie.

Celem przedstawionego projektu było zbadanie mechanizmów kościotworzenia ludzkich szpikowych mezenchymalnych komórek macierzystych (hMSC) w hodowlach 3D stymulowanych rhBMP-2 i/lub perfuzyjnym przepływem płynów (tj. hodowle statyczne v. dynamiczne).

W prezentowanych badaniach komórki hMSC hodowano w warunkach surowiczych i bezsurowiczych na rusztowaniach poliuretanowych, w obecności lub bez rhBMP-2. Część rusztowań zasiedlonych komórkami poddawano pojedynczej sesji perfuzyjnego przepływu medium hodowlanego (tj. 2,5 ml/min, 2 godz.) w dniu 7. (hodowle dynamiczne), a pozostałe hodowano bez stymulacji mechanicznej (hodowle statyczne). Kościotworzenie komórek hMSC oceniano na podstawie ekspresji mRNA i białek typowych dla poszczególnych etapów różnicowania tkanki kostnej.

Uzyskane dotychczas wyniki wskazują, że różnicowanie hMSC w kierunku osteoblastów pod wpływem rhBMP-2 można poprawić poprzez zastosowanie hodowli bezsurowiczej, jednocześnie stymulując komórki pojedynczą sesją perfuzyjnego przepływu płynów. W porównaniu z hodowlą bez rhBMP-2 i kontrolą statyczną z rhBMP-2 uzyskaliśmy jak dotąd podwyższoną ekspresję czyn-

ników transkrypcyjnych Osterix i Msx-2 istotnych dla postępów kościotworzenia hMSC oraz podwyższony poziom mRNA dla samego BMP-2. W warunkach surowiczych, w obecności stymulacji mechanicznej, rhBMP-2 zdaje się hamować proces kościotworzenia hMSC. Uzyskane wyniki mogą w przyszłości pomóc w wyznaczeniu nowych strategii poprawy skuteczności klinicznej białka rhBMP-2 w leczeniu ubytków kostnych. Obecne prace zmierzają do wyjaśnienia różnic obserwowanych w odpowiedzi hMSC na rhBMP-2 w warunkach surowiczych i bezsurowiczych.

AGATA FRANCZYK, KATARZYNA STOLARZ-SKRZYPEK,
ANNA WESOŁOWSKA, KALINA KAWECKA-JASZCZ,
DANUTA CZARNECKA

CIŚNIENIE TĘTNICZE A OSOCZOWY POZIOM WITAMINY D. INTERAKCJA Z DOBOWYM WYDALANIEM SODU Z MOCZEM

AFILIACJA: Zakład Farmacji Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; I Klinika Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W patogenezie nadciśnienia tętniczego odgrywa rolę układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) oraz podaż sodu w diecie. Ostatnio wykazano udział witaminy D w regulacji układu RAA. Badania sugerują, iż niedobór witaminy D współwystępuje z podwyższonym ciśnieniem tętniczym krwi (CTK). Naszym celem była ocena, czy witamina D, spożycie sodu oraz ich interakcje są związane z CTK.

Badana grupa objęła 154 osoby z populacji ogólnej. Przeprowadzono gabinetowe pomiary CTK w trakcie 2 wizyt oraz całodobowy pomiar CTK (ABPM). Spożycie sodu oceniono na podstawie dobowego wydalania z moczem. Stężenie witaminy D ($25(\text{OH})\text{D}_3$) zostało zmierzone w osoczu. Średnie dobowe wydalanie sodu z moczem wynosiło $159,3 \pm 67,6$ mmol/24 godz., natomiast poziom witaminy D $19,5 \pm 9,8$ ng/ml. W analizie z uwzględnieniem wieku, płci, bmi, stylu życia i leczenia przeciwnadciśnieniowego stężenie witaminy D korelowało ujemnie z CTK skurczowym ($\beta = -0,15$; $p = 0,24$) i rozkurczowym ($\beta = -0,15$; $p = 0,085$), ale zależności te nie osiągnęły istotności statystycznej. Nie wykryto także związku pomiędzy witaminą D a pomiarami CTK w ABPM. W modelach z uwzględnieniem wydalania sodu zaobserwowano ujemną i istotną korelację między witaminą D a gabinetowym CTK skurczowym ($p = 0,02$) i rozkurczowym ($p = 0,04$) oraz między witaminą D a CTK z całej doby skurczowym ($\beta = -0,17$; $p = 0,04$) i rozkurczowym ($\beta = -0,19$; $p = 0,023$). Interakcje pomiędzy stężeniem witaminy D i dobowym wydalaniem sodu nie były istotne statystycznie dla pomiarów CTK gabinetowych, jak i w ABPM ($p \geq 0,4$).

W badanej grupie stężenie witaminy D we krwi było powiązane z wartościami ciśnienia tętniczego tylko w modelach uwzględniających wydalanie sodu z moczem. Obserwacje te sugerują, iż wpływ witaminy D na wartości ciśnienia tętniczego może zależeć od indywidualnego spożycia sodu.

ANNA FURMAN*, KRZYSZTOF BURY*, JAROSŁAW ZALEWSKI*,
GRZEGORZ OPOLSKI**, PIOTR PONIKOWSKI***,
LECH POŁOŃSKI****, EWA JANKOWSKA***,
PIOTR ROZENTRYT****, JAROSŁAW DROŹDŹ*****, JADWIGA NESSLER*

NADWAGA I OTYŁOŚĆ SĄ ZWIĄZANE Z NIŻSZĄ ŚMIERTELNOŚCIĄ W 12-MIESIĘCZNEJ OBSERWACJI U PACJENTÓW HOSPITALIZOWANYCH Z POWODU OSTREJ NIEWYDOLNOŚCI SERCA, WŁĄCZONYCH DO REJESTRU ESC-HF PILOT W POLSCE

AFILIACJA: * Klinika Choroby Wieńcowej i Niewydolności Serca, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Krakowski Szpital Specjalistyczny im Jana Pawła II; ** Klinika i Katedra Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego; *** Katedra i Klinika Chorób Serca, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu; **** III Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii, Śląski Uniwersytet Medyczny; Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrze; ***** Klinika Kardiologii Katedry Kardiologii i Kardiochirurgii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Obecnie niewydolność serca (NS) jest jedną z głównych przyczyn śmiertelności sercowo-naczyniowej, a pacjenci z nadwagą lub otyłością mają większe ryzyko rozwoju chorób serca. Wciąż nie w pełni jasny jest związek między zwiększoną masą ciała a rokowaniem u pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrej NS.

Cel: Celem badania była ocena związku między występowaniem nadwagi i otyłości a rokowaniem u pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrej NS.

Metody: Przeprowadzono analizę danych 575 pacjentów przyjętych do szpitali w Polsce z powodu ostrej NS i włączonych w latach 2009–2011 do wieloośrodkowego, europejskiego rejestru niewydolności serca ESC-HF Pilot. Pacjentów podzielono na 2 grupy na podstawie wartości wskaźnika masy ciała (BMI): grupa A – 415 pacjentów z $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$, oraz grupa B – 160 pacjentów z $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$.

Wyniki: Grupy istotnie różniły się pod względem: śmiertelności w 12-miesięcznej obserwacji (11,3% v.19,3%; $p=0,026$), wymiaru końcowo rozkurczowego lewej komory (LK) serca ($59,3 \pm 11,5$ v. $55,2 \pm 10,3 \text{ mm}$; $p=0,0003$), częstości występowania przerostu LK (37% v. 19%; $p=0,04$) oraz zaburzeń funkcji rozkurczowej LK (34% v. 19%; $p=0,005$). Nie stwierdzono jednak różnic między grupami w zakresie częstości ponownych hospitalizacji (45,4% v. 54,5%; $p=0,17$). Ponadto w obu grupach wskaźnik BMI istotnie korelował ze stężeniem

białka NT-proBNP w surowicy przy przyjęciu ($r=-0,36$; $p<0,005$) oraz z frakcją wyrzutową LK ($r=0,10$; $p<0,005$).

Wnioski: Występowanie nadwagi lub otyłości u pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrej NS wiąże się z mniejszą śmiertelnością w 12-miesięcznej obserwacji, lecz nie ma wpływu na częstość ponownych hospitalizacji. Wskaźnik BMI istotnie negatywnie koreluje ze stężeniem NT-proBNP u pacjentów z ostrą NS, co może powodować trudności diagnostyczne u chorych z nadwagą lub otyłością.

MAGDALENA GAWEL, TADEUSZ LIBROWSKI

OCENA AKTYWNOŚCI PRZECIWZAPALNEJ ORAZ WPLYWU NA BŁONĘ ŚLUZOWĄ ŻOŁĄDKA KOMPLEKSU ZN-NAPROKSEN

AFILIACJA: Zakład Radioligandów, Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), szeroko stosowane w terapii stanów bólowych oraz schorzeń o podłożu zapalnym, nie są pozbawione działań niepożądanych, z których najczęściej rejestrowanymi są nadżerki i owrzodzenia w obrębie przewodu pokarmowego. Ograniczenie częstości ich występowania przy jednoczesnym zwiększeniu siły czy wybiórczości działania pozostaje dla badaczy ciągłym wyzwaniem. Ze względu na udokumentowane szeregiem badań przeciwzapalne, antyoksydacyjne oraz przyspieszające gojenie ran właściwości jonów cynku ich kompleksowanie z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi jest jednym z kierunków prowadzonych obecnie badań.

Celem pracy jest ocena działania przeciwobrzękowego oraz działania drażniącego na błonę śluzową żołądka zsyntetyzowanego kompleksu cynku i naproksenu (Zn-naproksen).

Do badań użyto szczurów, samców szczepu Wistar o masie 180–250 g. Zwierzętom podawano dożołądkowo naproksen lub Zn-naproksen w dawkach 10, 20 oraz 50 mg/kg. Aktywność przeciwobrzękową oznaczono metodą Wintera i Len-ce. Wpływ na błonę śluzową żołądka obserwowano makroskopowo po upływie 24 godzin od przeprowadzonego doświadczenia. Działanie drażniące oceniano wg umownej skali punktowej. Przeprowadzone badania wykazały istotne zmniejszenie przyrostów objętości łap szczurów w grupach przyjmujących naproksen oraz Zn-naproksen w stosunku do grup kontrolnych, natomiast procent hamowania obrzęku dla odpowiadających sobie dawek w każdej godzinie był wyższy dla kompleksu Zn-naproksen. Zaobserwowano również, że najwyższy procent działania po podaniu kompleksu występował po drugiej godzinie od podania karagenu, natomiast w przypadku naproksenu efekt maksymalny osiągnął po upływie trzech godzin. Nie zaobserwowano efektu gastrotoksycznego kompleksu Zn-naproksen w żadnej z zastosowanych dawek.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają stwierdzić, że kompleks cynku i naproksenu jest związkiem o wyższej skuteczności niż sam naproksen.

BEATA GIBAS

ZACHOWANIA SEKSUALNE KOBIEŃ W CIĄŻY

AFILIACJA: Zakład Zdrowia i Środowiska, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Praca skupia się na zachowaniach seksualnych kobiet w ciąży. Seksualność kobiet zmienia się w zależności od trymestru ciąży oraz aktualnych potrzeb seksualnych. Kobiety ciężarne bardzo często określają siebie jako mało atrakcyjne. Zadowolenie z życia seksualnego zależy od częstości i jakości osiąganego orgazmu.

Cel: Celem pracy było zbadanie zachowań seksualnych kobiet w ciąży oraz sprawdzenie popularności stosowanych pozycji seksualnych podczas ciąży.

Materiał i metody: Badania zostały przeprowadzone w okresie od lipca do września 2013 roku w Centrum Położniczym Koala w Krakowie. W ankiecie wzięło udział 70 kobiet w drugim i trzecim trymestrze ciąży.

Wyniki: Prawie każda kobieta (86%) czuła się atrakcyjnie w ciąży. Prawie wszystkie kobiety (90%) współżyły w czasie ciąży. Największa część respondentek (41%) odbywała stosunek seksualny raz w tygodniu, a 24% kilka razy w tygodniu. Spośród wszystkich ankietowanych 41% odczuwało orgazm często, a 29% podczas każdego współżycia. Najbardziej popularnymi pozycjami były na jeźdźca (60%) oraz łyżeczki (52%).

Wnioski: Większość kobiet była zadowolona z aktywności seksualnej w czasie ciąży. Poziom zadowolenia z życia seksualnego jest związany z częstością odbywania stosunków seksualnych.

ANNA GLINKA

OCENA WPLYWU MUTACJI CYP2D6 NA DŁUGOŚĆ ODSTĘPU QTC PO PODANIU RISPERIDONU

AFILIACJA: Zakład Farmacji Społecznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Risperidon – atypowy lek przeciwpsychotyczny, wykorzystywany m.in. w leczeniu schizofrenii, metabolizowany przez izoenzym cytochromu P450 2D6 do 9-hydroksyrisperidonu (Paliperidon). Risperidon blokuje kanały jonowe w błonach kardiomiocytów, co może być związane z obserwowanym klinicznie wydłużeniem odstępu QT.

Cel: Celem była symulacja badania klinicznego oceniającego wpływ liczby aktywnych genów dla CYP2D6 na stężenia risperidonu i paliperidonu oraz długość odstępu QTc.

Metodologia: Symulacje wykonano przy pomocy platformy ekstrapolacji *in vitro* – *in vivo* efektów elektrofizjologicznych – *Cardiac Safety Simulator*. Ustawienia symulacji naśladowały badanie kliniczne: 18 osób – 2 aktywne geny i 8 osób – 1 aktywny gen dla CYP2D6. Stężenia substancji aktywnych, po korekcji o wiązanie z białkami, zostały dobrane indywidualnie, zgodnie z rozkładem w badaniu klinicznym. Testowano 2 zestawy danych *in vitro* opisujących blokowanie prądów jonowych (IC50 dla IKr, IKs, ICaL, INa dla risperidonu i paliperidonu). Za punkt końcowy badania przyjęto wartości mediany długości odstępu QTc, którą porównano z wynikami klinicznymi (test Mooda).

Wyniki: Mediany długości odstępu QTc zarejestrowane w badaniu klinicznym dla grup 18 i 8 osób wynosiły odpowiednio: 395,8 i 408,3 ms, natomiast wyniki symulacji to: 394,8 i 398,4 ms (1. zestaw IC50), 395,1 i 398,6 ms (2. zestaw IC50). Wyniki testu Mooda nie wykazały istotnych statystycznie różnic.

Wnioski: W trakcie symulacji precyzyjnie odtworzono wartości QTc dla nosicieli 2 aktywnych genów. Efekt wpływu mutacji izoenzymu cytochromu P450 2D6, pomimo zastosowania wyższych/nieższych stężeń leku/metabolitu, nie został całkowicie powtórzony. Niższe wartości QTc w stosunku do obserwowanych w badaniu klinicznym mogą być związane z wylosowaniem do badania osób z silnie zwolnionym rytmem serca.

KATARZYNA GŁOMBIK*, EWA TROJAN*, JOANNA ŚLUSARCZYK*,
RAFAŁ OLSZANECKI**, AGNIESZKA BASTA-KAIM*

WPŁYW WIELOKROTNYCH PODAŃ SELEKTYWNEGO INHIBITORA WYCHWYTU ZWROTNEGO SEROTONINY: FLUOKSETYNY NA EKSPRESJĘ BIAŁEK ADAPTOROWYCH RECEPTORA INSULINY: SHC1 I GRB2 W KORZE CZOŁOWEJ SZCZURÓW STRESOWANYCH PRENATALNIE

AFILIACJA: * Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk w Krakowie; ** Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Przemiany metaboliczne glukozy w mózgu dostarczają energii do syntezy i funkcjonowania neuroprzekazników. Upośledzenie tych procesów i zmniejszenie wrażliwości tkanek na insulinę sugeruje się jako możliwe przyczyny prowadzące do powstania objawów depresji. Istnieje bardzo niewiele badań na temat wpływu leków przeciwdepresyjnych na szlak sygnałowy związany z insuliną w mózgu. W świetle tych danych naszym celem stało się poznanie wpływu stresu prenatalnego (zwierzęcy model depresji) i wielokrotnych podań selektywnego inhibitora wychwytu zwrotnego serotoniny: fluoksetyny na ekspresję genów i białek adaptorowych receptora dla insuliny: białka Shc1 i białka Grb2 w korze czołowej. Ciężarne samice szczurów Sprague-Dawley poddawano trzy razy dziennie stresowi (począwszy od 14. dnia ciąży aż do porodu). Dorosłemu 3-miesięcznemu potomstwu – samcom kontrolnym oraz stresowanym prenatalnie – przez 21 dni podawano lek przeciwdepresyjny: fluoksetynę (10 mg/kg do otrzewnowo). Grupy stanowiące kontrolę nastrzykiwano 0,9% NaCl. Szczury uśmiercano 24 godz. po ostatniej iniekcji, a następnie pobierano korę czołową do dalszych oznaczeń biochemicznych metodami *real time* PCR i ELISA. Głównym wnioskiem płynącym z naszych badań jest to, że stres prenatalny obniża zarówno poziom białka Shc1, jak i Grb2 w korze czołowej. Wielokrotne podania fluoksetyny prowadzą do normalizacji stężenia obu badanych białek. Podsumowując, nasze wyniki wskazują na to, że procedura stresu prenatalnego może wpływać na funkcje receptora insulinowego w mózgu dorosłego szczura, poprzez oddziaływanie na wybrane białka adaptorowe. Fluoksetyna moduluje funkcje receptora insuliny w mózgu szczura. Wydaje się to ważne ze względu na coraz częstsze występowanie zaburzeń metabolicznych u pacjentów z depresją, co z kolei wiąże się z koniecznością opracowywania nowych strategii leczenia.

ANNA GŁUSZEWSKA, BARBARA GRYLEWSKA, BARTOSZ ZARZYCKI,
MAŁGORZATA FEDYK-ŁUKASIK, ANNA DZIEŻA, TOMASZ GRODZICKI

CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA PRZEPŁYW SPOCZYNKOWY W MIKROKRAŻENIU SKÓRNYM WŚRÓD OSÓB Z OTYŁOŚCIĄ OLBRZYMIĄ ORAZ NIEALKOHOLOWYM STŁUSZCZENIEM WĄTROBY

AFILIACJA: Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Celem badania było stwierdzenie, czy u osób z otyłością olbrzymią oraz niealkoholowym stłuszczeniem wątroby istnieją różnice w zakresie spoczynkowego przepływu oraz aktywności naczynioruchowej w mikrokrażeniu skórnym.

Schemat badania: Chorzy byli rekrutowani wśród pacjentów z otyłością olbrzymią zakwalifikowanych do operacji bariatrycznej. W badaniu wyliczono BMI, wykonano pomiary ciśnienia tętniczego, poziomu glukozy w surowicy, HbA1c, cholesterolu, hsCRP. Badanie mikrokrażenia wykonano metodą Peri-Flux(LDF). Wykorzystano metodę szybkiej transformacji Fouriera celem określenia intensywności, z jaką dane częstotliwości występują w widmie mocy. Wykonano USG wątroby celem oceny stopnia stłuszczenia.

Dane były analizowane w grupach:

- I – chorzy z otyłością bez stłuszczenia lub z łagodnym stłuszczeniem wątroby;
- II – chorzy z otyłością oraz z umiarkowanym lub ciężkim stłuszczeniem wątroby;
- III – zdrowa grupa kontrolna.

W analizie statystycznej stosowano testy: ANOVA Kruskala-Wallisa oraz korelacje Spearmana.

Wyniki: Przebadano 29 chorych z otyłością (I – 17, II – 12) oraz 11 pacjentów z grupy kontrolnej. Pacjenci z otyłością byli starsi (I – $46,9 \pm 9,9$; II – $47,2 \pm 8,5$; III – $36,2 \pm 5,0$ lat) oraz mieli większe BMI ($44,1 \pm 5,5$ v. $45,9 \pm 6,5$ v. $24,4 \pm 2,7$ kg/m²), wyższy poziom glukozy ($5,3 \pm 0,4$ v. $6,0 \pm 1,5$ v. $4,8 \pm 0,5$ mmol/l), HbA1C ($5,7 \pm 0,4$ v. $6,0 \pm 0,8$ v. $5,3 \pm 0,4$ %) oraz hsCRP ($7,6 \pm 8,9$ v. $7,7 \pm 6,9$ v. $0,9 \pm 0,9$ mg/l) w porównaniu do grupy kontrolnej. Wartości ciśnienia tętniczego, cholesterolu oraz średni przepływ spoczynkowy w mikrokrażeniu były podobne. Uwagę zwracała znacząco mniejsza gęstość mocy widma w sygnale przepływomierza dopplerowskiego u chorych z otyłością. Gęstość

widma mocy zależnej od śródbłonna aktywności naczynioruchowej korelowała negatywnie z BMI ($r=-0,42$) oraz hsCRP ($r=-0,39$). Zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy mocą widma naczyniowej aktywności neurogennej oraz BMI ($r=-0,59$), HBA1C ($r=-0,34$), hsCRP ($r=-0,48$).

Wnioski: Otyłość oraz reakcja zapalna mogą mieć negatywny wpływ na aktywność naczynioruchową mikrokążenia skórniego u pacjentów z otyłością olbrzymią.

KAROLINA GOLIŃSKA-GRZYBAŁA

WPLYW NAPADOWEGO MIGOTANIA PRZEDSIONKÓW NA ŚMIERTELNOŚĆ WEWNĄTRZSZPITALNĄ I ODLEGŁĄ WŚRÓD PACJENTÓW LECZONYCH Z POWODU OSTREGO ZESPOŁU WIEŃCOWEGO

AFILIACJA: Klinika Choroby Wieńcowej i Niewydolności Serca, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II; Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Migotanie przedsionków (AF) jest częstym powikłaniem chorób serca. Niedokrwienie miokardium w przebiegu ostrego zespołu wieńcowego (OZW) sprzyja powstawaniu zaburzeń rytmu serca. Jednakże wpływ napadowego migotania przedsionków na chorobowość i śmiertelność wśród pacjentów leczonych z powodu OZW nadal pozostaje niejasny.

Cel: Określenie wpływu napadowego migotania przedsionków na wewnątrzszpitalną i odległą śmiertelność u pacjentów leczonych z powodu OZW.

Materiały i metody: Przeprowadzono badanie kohortowe, do którego włączono 315 chorych z OZW (180 M; śr. wiek $64,9 \pm 9,8$), hospitalizowanych w Klinice Choroby Wieńcowej i Niewydolności Serca w latach 2008–2010. Wykluczono pacjentów z chorobą nowotworową, istotną wadą zastawkową serca, chorobami tarczycy, utrwalonym AF. Obecność napadowego AF w przebiegu OZW pozwoliła podzielić pacjentów na 2 grupy: I grupa to pacjenci z AF w trakcie OZW, II grupa to pacjenci bez AF w trakcie OZW. Po okresie obserwacji trwającym od 43 do 73 miesięcy przeprowadzono telefoniczną ankietę.

Wyniki: Spośród 315 chorych z OZW napadowe migotanie przedsionków rozpoznano u 43 (13,6%) osób (25 M, śr. wiek $72,5 \pm 9,7$). Śmiertelność wewnątrzszpitalna w pierwszej grupie wynosiła 2,27%, w drugiej grupie 0,87% ($p=0,23$). Obserwacja odległa wykazała różnice między grupami w śmiertelności całkowitej (23,4% v. 8,9%; $p=0,004$), śmiertelności z powodu udaru mózgu (6,4% v. 1,2%; $p=0,018$) oraz śmiertelności z powodu chorób sercowo-naczyniowych (17,0% v. 5,1%; $p=0,003$).

Wnioski: Choć nie wykazano istotnej różnicy w śmiertelności wewnątrzszpitalnej w obu grupach, zaobserwowano wyższą śmiertelność (całkowitą, z powodu udaru mózgu oraz chorób sercowo-naczyniowych) w grupie pacjentów z OZW powikłanym napadowym migotaniem przedsionków.

MICHAŁ GONET, AGNIESZKA DRZAŁ, MARTYNA ELAS

CHARAKTERYSTYKA UNACZYNNIENIA LEWIS LUNG CARCINOMA ZA POMOCĄ TRÓJWYMIAROWEJ ULTRASONOGRAFII DOPPLEROWSKIEJ I TECHNIK IMMUNOHISTOLOGICZNYCH

AFILIACJA: Zakład Biofizyki, Wydział Biofizyki, Biochemii i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Ultrasonografia dopplerowska jest szeroko stosowaną techniką w obrazowaniu przepływów. Celem pracy było wykorzystanie ultrasonografii dopplerowskiej do charakterystyki ewolucji unaczynienia guzów LLC oraz opracowania analizy wyników pozwalającej na uzyskanie informacji o przestrzennym rozmieszczeniu naczyń guza.

Materiały i metody: W doświadczeniu wykorzystano mysz model C57BL/6. Komórki guzów LLC były wszczepiane na dolnej kończynie. Pierwszy pomiar wykonano tydzień po szczepieniu. Obrazowanie wykonywano przez 3 tygodnie, co 7 dni. Pomiary wykonywano na ultrasonografii VEVO 2100 (FUJIFILM VisualSonics, Kanada) z wykorzystaniem głowicy MS-550D. Obrazy anatomiczne wykonywano w trybie B-mode, natomiast do wizualizacji przepływu użyto trybu Power Doppler. Preparaty histologiczne były barwione z wykorzystaniem antyciał 9F1. Analiza wyników odbywała się w sposób półautomatyczny, z wykorzystaniem stworzonego na potrzeby eksperymentu oprogramowania w środowisku Matlab (MathWorks, USA).

Wyniki: Analiza ewolucji i kinetyki unaczynienia podczas wzrostu guza pozwoliła na oszacowanie tempa tworzenia się nowych naczyń oraz uzyskanie stosunku powierzchni naczyń do powierzchni guza. Trójwymiarowa rekonstrukcja guza i naczyń pozwoliła na uzyskanie informacji o przestrzennym rozmieszczeniu powstających naczyń. Stosunek powierzchni naczyń do guza zdaje się korelować z tym samym parametrem uzyskanym technikami barwienia immunohistologicznego.

Dyskusja: Ultrasonografia dopplerowska pozwoliła na obrazowanie tworzenia się nowych naczyń oraz obserwacje wczesnych i późniejszych zmian zachodzących w unaczynieniu guzów LLC podczas rozwoju guza. Zastosowanie tej techniki, wraz z dobrze poznaną ewolucją unaczynienia guzów LLC i wykorzystaniem opracowanej analizy danych, może stanowić dobre narzędzie przy projektowaniu i monitorowaniu terapii antyangiogennych w użytym modelu mysim.

MARIA GORZKOWSKA

SKUTECZNOŚĆ RESUSCYTACJI KRAŻENIOWO- -ODDECHOWEJ W WEWNĄTRZSZPITALNYM NAGŁYM ZATRZYMANIU KRAŻENIA

AFILIACJA: Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Specjalistyczny Szpital im. Edwarda Szczeklika w Tarnowie

Wstęp: Nagłe zatrzymanie krążenia jest główną przyczyną śmierci w Europie. Pomimo rozwoju algorytmu postępowania w przypadku NZK wewnątrzszpitalne zatrzymanie krążenia odznacza się nadal wysokim wskaźnikiem śmiertelności. Resuscytacja krążeniowo-oddechowa w nagłym zatrzymaniu krążenia (NZK) jest jedną z częściej prowadzonych procedur medycznych zarówno poza szpitalem, jak i w szpitalu. Celem pracy było zbadanie przeżywalności pacjentów, u których prowadzono resuscytację krążeniowo-oddechową w wyniku wewnątrzszpitalnego NZK.

Metody: Retrospektywna analiza raportów resuscytacji sporządzonych od stycznia 2012 do marca 2013 roku. Raporty zawierały dane pacjenta, czas i miejsce NZK, czas trwania resuscytacji krążeniowo-oddechowej, godzinę wystąpienia NZK, rozpoznanie pacjenta, mechanizm zatrzymania krążenia. W każdym przypadku resuscytacja była prowadzona zgodnie z wytycznymi ERC.

Wyniki: Poddano analizie 83 raporty. Wykazano, że wśród 72% pacjentów, u których doszło do NZK, najczęstszym mechanizmem były asystolia lub PEA. Wśród pozostałych pacjentów jako mechanizm NZK odnotowano VF lub VT. Powrót spontanicznego krążenia odnotowano wśród 45% analizowanych przypadków, jednak przeżywalność do wypisu ze szpitala wynosiła 13%.

Wnioski: Rodzaj zaburzeń rytmu serca, w mechanizmie którego wystąpiło nagłe zatrzymanie krążenia, miał istotny wpływ na wczesny wynik resuscytacji krążeniowo-oddechowej. Przeżywalność do wypisu ze szpitala pacjenta po nagłym wewnątrzszpitalnym zatrzymaniu krążenia wynosiła 13%.

AGNIESZKA GÓRECKA-MAZUR, KRZYSZTOF A. TOMASZEWSKI,
ANNA KRYGOWSKA-WAJS

**OCENA WŁAŚCIWOŚCI PSYCHOMETRYCZNYCH
DWÓCH KWESTIONARIUSZY OCENY JAKOŚCI ŻYCIA –
PDQ 39 (PARKINSON'S DISEASE QUESTIONNAIRE-39)
I JEGO SKRÓCONEJ WERSJI PDQ 8 (PARKINSON'S
DISEASE QUESTIONNAIRE-8) U CHORYCH
Z CHOROBA PAKINSONA**

AFILIACJA: Klinika Neurochirurgii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Katedra i Zakład Anatomii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Katedra i Klinika Neurologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Kwestionariusze PDQ-39, PDQ-8 są specyficznymi narzędziami stosowanymi do oceny jakości życia w chorobie Parkinsona (chP).

Cel pracy: Celem pracy była walidacja polskiej wersji językowej kwestionariusza PDQ-39 i jego skróconej wersji PDQ-8.

Materiał i metody: Do badania zakwalifikowano chorych z rozpoznaniem idiopatycznej chP zgodnie z kryteriami diagnostycznymi United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank. Pacjenci wypełnili polską wersję kwestionariusza PDQ-39, PDQ-8 oraz kwestionariusz demograficzny. Nasilenie objawów parkinsonizmu oceniono według skali Hoehn & Yahr. Przeprowadzono standardową analizę trafności i rzetelności. Retest wykonano 2 tygodnie po wstępnej ocenie.

Wyniki: Badaniem objęto 119 pacjentów (47 kobiet – 39,5%; 72 mężczyzn – 60,5%). Średni wiek pacjentów wynosił $63,0 \pm 10,5$ lat, średni czas trwania choroby $9,0 \pm 5,4$ lat. Wyniki punktacji zbiorczej dla PDQ-39, PDQ-8 oraz skali Hoehn & Yahra wynosiły odpowiednio $34,5 \pm 20,6$; $34,6 \pm 20,2$ i $2,6 \pm 0,73$. Punktacja poszczególnych podskal PDQ-39 kształtowała się następująco: sprawność ruchowa ($36,5 \pm 27,1$); czynności dnia codziennego ($39,3 \pm 30,0$); stan emocjonalny ($44,5 \pm 28,5$); piętno choroby ($35,2 \pm 29,8$); wsparcie społeczne ($24,0 \pm 27,9$); funkcje poznawcze ($27,3 \pm 21,9$); komunikowanie się ($26,0 \pm 24,6$); dyskomfort somatyczny ($41,5 \pm 23,8$). Stwierdzono silną dodatnią korelację pomiędzy całkowitą punktacją PDQ-39 i PDQ-8 ($R=0,72$; $p<0,0001$). Współczynnik alfa Cronbacha wynosił 0,81–0,94 dla PDQ-39 i 0,79 dla PDQ-8, wykazując dobrą spójność wewnętrzną obu kwestionariuszy. Retest został prze-

prowadzony u 78 pacjentów (39,2%), a korelacja wewnątrzklasowa dla PDQ-8 wyniosła 0,84 (95% CI 0,75–0,90). W przeprowadzonych analizach uzyskano satysfakcjonującą trafność zbieżną i rozbieżną kwestionariuszy.

Wnioski: Polska wersja kwestionariuszy PDQ-39 i PDQ-8 stanowi wiarygodne narzędzie do pomiaru jakości życia u chorych z chP.

MAREK GROSICKI, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

ROLA LUDZKIEGO RECEPTORA H4 HISTAMINOWEGO W PROCESACH ZAPALNYCH – OCENA FUNKCJI RECEPTORA H4 NA LUDZKICH EOZYNOFILACH

AFILIACJA: Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Histamina jest aminą biogenną biorącą udział w procesach zapalnych. Funkcja ta jest ściśle związana z aktywnością receptora H4 histaminowego (Zampeli et al., 2009). Ekspresję receptora H4 zidentyfikowano głównie na komórkach układu immunologicznego, w tym na ludzkich eozynofilach (Ling et al., 2004). Mimo prowadzonych prac badawczych nadal nie poznano w pełni funkcji receptora na ludzkich komórkach (Seifert et al., 2012). Celem niniejszej pracy jest ocena roli receptora H4 histaminowego w procesie aktywacji ludzkich eozynofili. Eozynofile wyizolowano z krwi obwodowej, stosując rozdział komórek krwi w gradiencie Ficoll-Paque, a następnie negatywną separację przy zastosowaniu metod immunomagnetycznych. Żywotność wyizolowanych komórek oceniono na podstawie barwienia błękitem trypanu oraz za pomocą testu MTS. Funkcjonalność eozynofili potwierdzono za pomocą testu wyrzutu wewnątrzkomórkowych jonów wapnia oraz zdolności do degranulacji. W celu oceny procesu adhezji wyizolowane eozynofile inkubowano w obecności histaminy z linią komórkową śródbłónka EA.hy.296. W wyniku przeprowadzonych eksperymentów wyizolowano czystą populację eozynofili z krwi obwodowej. Wyizolowane komórki charakteryzowały się wysoką żywotnością, jak i zdolnością do odpowiedzi funkcjonalnej, w tym do degranulacji oraz do wyrzutu wewnątrzkomórkowych jonów wapnia. Histamina oraz selektywny antagonist receptoru H4 histaminowego JNJ7777120 miały wpływ na proces adhezji eozynofili do komórek EA.hy.296. Uzyskane dane mogą potwierdzić fakt, że receptor H4 histaminowy modyfikuje aktywność ludzkich eozynofili. Zaprezentowany model badania funkcji receptora może w przyszłości pomóc w wyjaśnieniu fizjologicznej roli receptora H4 histaminowego. Dodatkowo wykorzystane w pracy modele analityczne mogą stać się interesującym narzędziem w badaniach nad agonistami i antagonistami receptorów histaminowych.

Praca realizowana ze środków: NCN DEC-2011/02/A/NZ4/00031; COST Action BM1007.

BEATA GRYZŁO

SERYNA JAKO SUBSTRAT W SYNTEZIE INHIBITORÓW WYCHWYTU ZWROTNEGO GABA

AFILIACJA: Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Na podstawie przeprowadzonych badań zależności struktura – aktywność w grupie pochodnych kwasu 4-hydroksy- i 4-aminobutanowego wykazano, że w badanej grupie związków elementami istotnymi dla ich aktywności inhibicyjnej wobec transporterów GAT są:

- duży podstawnik aminoalkiloaromatyczny w położeniu 2 kwasu butanowego;
- III-rzędowa grupa aminowa w położeniu 2 kwasu butanowego;
- różnie podstawione ugrupowanie benzyloamidowe.

Kontynuując ten kierunek badań, postanowiono zbadać, jaki wpływ na właściwości inhibicyjne wobec transporterów GAT ma skrócenie łańcucha prowadzące do uzyskania odpowiednio podstawionych pochodnych seryny. W wyniku tak zaplanowanych prac otrzymano serie pochodnych N-benzyloamidów kwasu 3-hydroksy-2-aminopropanowego zawierające w położeniu 2 aminę III-rzędową z ugrupowaniem alkiloaromatycznym. Synteza zaprojektowanych związków opierała się na trzech podstawowych etapach. W pierwszym etapie uzyskano z seryny kwas 2-bromo-3-hydroksypropanowy, który następnie wykorzystano do otrzymania N-benzyloamidów kwasu 3-hydroksy-2-bromopropanowego. Ponieważ wcześniejsze ustalenia zakładały konieczność wprowadzenia do cząsteczki dużych bogatych elektronowo fragmentów, alkilacje prowadzono 1-(difenylometyleno)piperydyną, 1-(difenylometylo)pierazyną oraz podstawionymi w pozycji 5 N-metylobut-4-enoaminami.

Opracowano metodę pozwalającą na syntezę amidów bez wcześniejszego zabezpieczenia grupy hydroksylowej, zoptymalizowano reakcję alkilacji dla 4 amin i uzyskano 5 serii nowych związków, z których 12 struktur zostało wysłanych na badania powinowactwa do transporterów GAT-1-4.

Ponieważ zastosowane w toku syntezy transformacje pozwalają zachować wyjściową konfigurację enancjomerycznego atomu węgla, dlatego też obrana ścieżka syntezy otwiera możliwość otrzymywania enancjomerów. Synteza konkretnych enancjomerów zostanie wykonana dla struktur aktywnych w celu określenia powinowactwa.

MAŁGORZATA GRZANKA, TOMASZ KLUPA

POSZUKIWANIE MUTACJI I POLIMORFIZMÓW W GENACH DLA CUKRZYCY MONOGENOWEJ WŚRÓD PACJENTÓW Z KLINICZNĄ DIAGNOZĄ CUKRZYCY TYPU 2 I TYPU 1

AFILIACJA: Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Przyczyną rozwoju najczęstszej formy cukrzycy monogenowej MODY (*maturity-onset diabetes of the young*) są mutacje w genie HNF-1 α . U pacjentów z cukrzycą HNF-1 α MODY stwierdzono wysoką wrażliwość na pochodne sulfonylomocznika (SU), co często umożliwia rezygnację z insulinoterapii. Niestety większość pacjentów z cukrzycą monogenową jest błędnie diagnozowana jako pacjenci z cukrzycą typu 1 (T1DM) lub typu 2 (T2DM), co skutkuje ich nieoptymalnym leczeniem.

Cel: Celem badania była identyfikacja pacjentów z cukrzycą monogenową wśród chorych, u których zdiagnozowano wcześniej cukrzycę typu 1 lub typu 2.

Materiał: Do badania włączono pacjentów z T2DM oraz z T1DM, u których przeanalizowano częstość występowania polimorfizmu rs7957197 genu HNF-1 α . Spośród pacjentów z T2DM do badań genetycznych wybrano tych, u których: a) BMI < 30 kg/m²; b) skuteczność leczenia lekami doustnymi > 15 lat. Z grupy pacjentów z T1DM wybrano tych, którzy: a) leczeni byli za pomocą ciągłego podskórnego wlewu insuliny (CSII); b) dzienne zapotrzebowanie na insulinę (TDIR) było mniejsze niż 0,3 j/m/kg po co najmniej 5 latach po rozpoznaniu cukrzycy; c) zapotrzebowanie na insulinę bazalną było mniejsze niż 30% TDIR.

Wyniki: U 552 pacjentów z T2DM i 259 pacjentów z T1DM zgenotypowano region rs7957197 genu HNF-1 α . U 11 pacjentów z T2DM zsekwencjonowano gen HNF1 α . U jednego pacjenta znaleziono delecję stanowiącą wariant sprawczy cukrzycy MODY. Wśród pacjentów z T1DM leczonych za pomocą CSII związana z cukrzycą mutacja w egzonie 4 (P291fsinsC) została znaleziona u jednego pacjenta. U drugiego pacjenta, obecna była mutacja V87G w genie GCK.

Wnioski: Zaprezentowano nowe kliniczne kryteria, które mogą być pomocne we wstępnej selekcji pacjentów do badań molekularnych w poszukiwaniu HNF-1 α MODY.

MONIKA GRZEBYK, MONIKA BRZYCHCZY-WŁOCH,
ANNA PIOTROWSKA, PIOTR B. HECZKO

PORÓWNANIE UDZIAŁU GENÓW ZWIĄZANYCH Z TWORZENIEM BIOFILMU U KLINICZNYCH SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* I *STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS* IZOLOWANYCH OD NOWORODKÓW Z BARDZO MAŁĄ MASĄ URODZENIOWĄ

AFILIACJA: Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Parazytologii, Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: *S. epidermidis* i *S. haemolyticus* stanowią jedną z najistotniejszych przyczyn zakażeń noworodków z bardzo małą masą urodzeniową (VLBW), a za ich główny czynnik wirulencji uważa się tworzenie biofilmu. Proces ten jest intensywnie badany u *S. epidermidis*, niewiele jest natomiast danych dla *S. haemolyticus*.

Cel pracy: Zbadanie i porównanie udziału zaangażowanych w tworzenie biofilmu genów u szczepów *S. epidermidis* i *S. haemolyticus* izolowanych od noworodków z VLBW.

Metodologia: Materiał badawczy stanowiło 60 różnych genetycznie szczepów *S. epidermidis* i 38 *S. haemolyticus* wybranych na podstawie typowania PFGE. Szczepy podzielono na grupy ze względu na typ zakażenia, z jakiego były izolowane. Detekcję genów *icaA*, *icaDB*, *agrA*, *sarA* oraz elementu insercyjnego IS256 zbadano metodą PCR.

Wyniki: Gen *icaA* występował u 27% (n=17) szczepów *S. epidermidis* oraz u 3% (n=1) *S. haemolyticus*; układ genów *icaDB* występował u 35% (n=22) *S. epidermidis* oraz u 24% (n=10) *S. haemolyticus*. Sekwencja IS256 występowała u 65% (n=41) *S. epidermidis* oraz u 100% (n=38) *S. haemolyticus*. Gen *atlE* występował u 98% (n=59) *S. epidermidis* oraz u 100% (n=38) *S. haemolyticus*; Wśród *S. epidermidis* gen *agrA* wykazano u 97% (n=58) natomiast u *S. haemolyticus* u 24% (n=9). Obecność genu *sarA* oznaczono u 98% (n=59) *S. epidermidis* oraz u 97% (n=37) *S. haemolyticus*.

Wnioski: Porównanie w zależności od typu zakażenia w obrębie badanych gatunków nie wykazało istotnych różnic. Wystąpiły natomiast istotne statystycznie różnice pomiędzy udziałem genu *icaA*, transpozonu IS256 oraz genu *agrA* w puli szczepów *S. epidermidis* oraz *S. haemolyticus*.

JOANNA HARZOWSKA-SZCZYGIEL

SAMOOCENA STANU ZDROWIA I ZACHOWAŃ ZDROWOTNYCH MATEK NIEPEŁNOSPRAWNYCH OSÓB

AFILIACJA: Zakład Pielęgniarstwa Klinicznego, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cel ogólny: Poznanie subiektywnej oceny stanu zdrowia i zachowań zdrowotnych matek opiekujących się dorosłymi dziećmi niepełnosprawnymi.

Problemy badawcze: Jaka jest zależność między samooceną stanu zdrowia badanych a rodzajem niepełnosprawności dziecka? Jaka jest zależność między danymi socjodemograficznymi a samooceną stanu zdrowia? Jaka jest zależność między samooceną stanu zdrowia badanych a otrzymywanym wsparciem społecznym? Jaka jest zależność między subiektywną oceną stanu zdrowia a sferami życia badanych? Jaka jest zależność pomiędzy samooceną stanu zdrowia a zachowaniami zdrowotnymi badanych? Jaka jest zależność pomiędzy danymi socjodemograficznymi a zachowaniami zdrowotnymi badanych? Jaka jest zależność między niepełnosprawnością dziecka a zachowaniami zdrowotnymi badanych? Jakie zachowania zdrowotne prezentują badani w zależności od otrzymywanego wsparcia społecznego?

Metodologia: W badaniu wykorzystane zostaną wyniki uzyskane z analizy kwestionariusza oraz 3 standaryzowanych narzędzi badawczych. W badaniu uczestniczy grupa badana i porównawcza.

Wyniki: Kobiety z grupy badanej miały gorszą samoocenę stanu zdrowia, z wyjątkiem zaburzeń snu. Kobiety z grupy badanej i porównawczej różniły się istotnie występowaniem problemów w dziedzinach życia. W każdej z nich kobiety z grupy badanej doświadczały problemów częściej niż kobiety z grupy porównawczej. Kobiety z grupy badanej otrzymywały mniejsze wsparcie. Kobiety z grupy badanej i porównawczej różniły się istotnie zachowaniami zdrowotnymi (z wyjątkiem tych związanych z zachowaniem bezpieczeństwa). Kobiety z grupy badanej przejawiały mniej pozytywnych zachowań.

Wnioski: Wstępne wyniki badań wskazują na istotne różnice między matkami mającymi zdrowe dzieci i matkami opiekującymi się niepełnosprawnymi, ale już dorosłymi dziećmi. Samoocena ich stanu zdrowia, zachowania zdrowotne oraz wsparcie społeczne istotnie się różnią. Wskazuje to na wagę poruszanego problemu.

IRENEUSZ HONKISZ, SABINA SZYMIK-KANTOROWICZ

WSTĘPNA ANALIZA WYNIKÓW FARMAKOLOGICZNEGO LECZENIA NACZYNIĄKÓW WCZESNODZIECIĘCYCH

AFILIACJA: Zakład Biochemii Klinicznej, Klinika Chirurgii Dziecięcej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Naczyniaki wczesnodziecięce są najczęstszymi guzami tkanek miękkich występującymi u dzieci. Do przyjętych metod leczenia naczyniaków wczesnodziecięcych należy stosowanie doustnych preparatów kortykosteroidów. Stosowanie propranololu jest nową opcją terapeutyczną, która wydaje się mieć większą skuteczność terapeutyczną.

Cel pracy: Ocena wczesnej odpowiedzi naczyniaków wczesnodziecięcych na zastosowane leczenie farmakologiczne przy użyciu preparatów propranololu lub kortykosteroidów.

Materiał i metody: Analizie poddano dokumentację medyczną dzieci z naczyniakami wczesnodziecięcymi leczonych doustnymi kortykosteroidami w dawce 1,81–2,7 mg/kg/dobę (25 pacjentów) lub propranololem w dawce 1–2,6 mg/kg/dobę (74 pacjentów). U wszystkich dzieci stopień odpowiedzi na leczenie oceniono po miesiącu od rozpoczęcia leczenia. W grupie dzieci leczonych kortykosteroidami u 3 pacjentów (12%) uzyskano bardzo dobrą, u 15 (60%) dobrą, u 3 (12%) średnią odpowiedź, natomiast u 4 nie stwierdzono efektu. W grupie dzieci leczonych propranololem odpowiedź bardzo dobrą uzyskano u 26 (35,1%) pacjentów, dobrą u 44 (59,5%) pacjentów, średnią u 4 (5,4%) pacjentów. W analizie uwzględniono wiek dziecka w czasie rozpoczęcia leczenia, płeć oraz liczbę punktów w skali APGAR. Dla powyższych wartości przeprowadzono test Chi-kwadrat oraz wieloczynnikową analizę wariancji.

Wyniki: Stwierdzono zależność pomiędzy rodzajem zastosowanego leczenia farmakologicznego z użyciem doustnych preparatów propranololu lub kortykosteroidów a uzyskanym efektem terapeutycznym po miesiącu od rozpoczęcia leczenia ($p < 0,05$). Zastosowanie propranololu skutkuje uzyskaniem lepszej odpowiedzi niż użycie kortykosteroidów. Nie stwierdzono różnic pomiędzy uzyskaną odpowiedzią na zastosowane leczenie farmakologiczne a czasem trwania ciąży, masą urodzeniową dzieci, liczbą punktów w skali APGAR oraz wiekiem dziecka w czasie rozpoczęcia leczenia.

Wnioski: Stopień uzyskania wczesnej pozytywnej odpowiedzi terapeutycznej w leczeniu naczyniaków wczesnodziecięcych zależy od rodzaju leczenia farmakologicznego.

PAWEŁ IWASZCZUK*, BOGUSZ KACZMAREK*,
ALEKSANDRA WOJNARSKA*, KATARZYNA KOWALIK*,
WŁADYSŁAW ŁOSIAK**, WOJCIECH SZCZEKLIK*

PRZEDOPERACYJNY STRES, MIERZONY POZIOMEM LĘKU, KORTYZOLU I INTERLEUKINY-6 (IL-6), JEST ZWIĄZANY Z PRZEDŁUŻONĄ HOSPITALIZACJĄ I WYSTĘPOWANIEM ZAKAŻENIA W 30-DNIOWEJ OBSERWACJI

AFILIACJA: * Klinika Chorób Serca i Naczyń, Instytut Kardiologii Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Instytut Psychologii, Wydział Filozoficzny, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Stres to faktyczne lub przewidywane zaburzenie homeostazy lub dobrostanu, które można mierzyć klasycznie poziomem lęku i kortyzolu, a według ostatnich odkryć również niektórych cytokin, takich jak IL-6. Kortyzol powoduje supresję odporności komórkowej, co prowadzi do zwiększonego ryzyka infekcji i przedłużonego gojenia ran. Rola stresu w okresie okołoperacyjnym pozostaje niezbadana.

Cel: Ocena wpływu przedoperacyjnego poziomu lęku, kortyzolu i IL-6 na przebieg operacji i jej powikłania.

Metodologia: Do badania włączono 72 kolejnych pacjentów operowanych z powodu zaawansowanej miażdżycy, którzy wypełnili skale samooceny lęku. Laboratoryjnie oznaczono kortyzol całkowity oraz IL-6 z przedoperacyjnych surowic krwi, pobranych pomiędzy godziną 6.30 a 7.30 rano. Powikłania oceniano do wypisu ze szpitala oraz telefonicznie po 30 dniach.

Wyniki: Kobiety osiągnęły istotnie wyższe wyniki w skalach oceny lęku niż mężczyźni ($p < 0,05$). Poziom lęku był dodatnio skorelowany z czasem hospitalizacji po zabiegu ($R = 0,37$; $p = 0,003$). Kortyzol nie wykazywał różnic między płciowych, ale był powiązany z lękiem tylko u mężczyzn ($r = 0,42$; $p < 0,05$). Analiza krzywych ROC ujawniła, że poziom kortyzolu > 13 ug/dL (zakres porannej normy: 5–25) był związany z występowaniem infekcji w *follow-up* po 30 dniach ($AUC = 0,71$). Częstość zakażeń w tej grupie to 25%, w porównaniu do 0% wśród pacjentów z poziomem < 13 ug/dL ($p < 0,05$). IL-6 była mierzalna u 8 pacjentów.

Wnioski: Zabieg operacyjny to silny stresor, a podwyższony poziom lęku przedzabiegowego wydaje się związany z przedłużoną hospitalizacją, co może wpływać na koszt udzielania świadczeń. Przedoperacyjny poziom porannego kortyzolu >13 ug/dL zwiększa ryzyko infekcji, co jest zgodne z doniesieniami, że stres i kortyzol mogą upośledzać odporność. Te wyniki wymagają potwierdzenia.

ANNA JAGUSIAK, BARBARA PIEKARSKA, TOMASZ PAŃCZYK,
PIOTR LAIDLER

NANORURKI WĘGLOWE I ZWIĄZKI TYPU CZERWIENI KONGO JAKO HYBRYDOWY NOŚNIK LEKÓW

AFILIACJA: Katedra Biochemii Lekarskiej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni, Polska Akademia Nauk

Nanorurki węglowe są szeroko badane jako potencjalne nośniki leków. Ich zaletami są duża pojemność i powierzchnia, którą można modyfikować, przyłączając kowalencyjnie lub niekowalencyjnie różne związki, w tym leki. Wadą jest słaba rozpuszczalność w roztworach wodnych.

Monomery czerwieni Kongo to cząsteczki dwuazowe, poliaromatyczne, zdolne do asocjacji w środowisku wodnym w taśmowe struktury supramolekularne o dużej plastyczności. Wykazano możliwość wiązania niektórych leków drogą interkalacji przez tego typu układy. Przykładem tak związanego leku jest doksorubicyna, która ze względu na jej powszechne stosowanie w terapii antynowotworowej i równocześnie poważne efekty uboczne została wykorzystana jako modelowy lek w prezentowanych badaniach.

Celem badań jest ocena, czy funkcjonalizowane związkami supramolekularnymi typu czerwieni Kongo nanorurki węglowe będą spełniać warunki niezbędne do wykorzystania ich jako nośników umożliwiających celowane dostarczanie leków do komórek.

Biorąc pod uwagę wiązanie leku (doksorubicyny) niezależnie przez oba układy, przeprowadzono badania mające na celu stworzenie hybrydowego nośnika leków. Znalezienie skutecznego terapeutycznie nośnika, który dostarczałby lek bezpośrednio do ogniska nowotworu bez niszczenia zdrowych tkanek, stanowi cel dla wielu zespołów badawczych. Dodatkową zaletą badanego układu jest znaczne zwiększenie pojemności nośnika.

Opracowano metodę skutecznego rozpuszczania nanorurek węglowych z wykorzystaniem związków typu czerwieni Kongo. Wykazano obecność oddziaływania czerwieni Kongo z nanorurkami węglowymi (spektrofotometria, elektroforeza, mikroskopia TEM, AFM, analiza ilościowa), oceniono możliwość wiązania i uwalniania doksorubicyny. Uzyskane wyniki dają podstawę do uznania badanego układu za potencjalny nośnik leków.

Badania wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013 oraz finansowane z programu K/DSC/001370.

ANNA JAKUBOWSKA

SYNTEZA ENANCJOMERÓW RÓWNOWAŻNIKA GLICYNY, POCHODNEJ OKSAZYNONU, Z WYKORZYSTANIEM REAGENTÓW ZACZEPIONYCH NA MATRYCACH POLIMEROWYCH

AFILIACJA: Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Katedra Chemii Farmaceutycznej,
Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Asymetryczna synteza nienaturalnych aminokwasów wciąż stanowi wyzwanie dla współczesnej syntezy organicznej. Wprowadzenie takich aminokwasów w strukturę związków o charakterze peptydowym, które wykazują aktywność biologiczną, może przyczynić się do poprawy ich właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych. Jednym z kierunków tych badań jest wykorzystanie w syntezie reagentów zaczepionych na matrycach polimerowych.

Celem przedstawionych badań było opracowanie dogodnej metody cyklizacji kwasu 2-(2-aminoacetoksy)-2,3,3-trimetylobutanowego, będącego produktem pośrednim do uzyskania równoważnika glicyny pochodnej oksazynonu, który wykorzystywany jest następnie do syntezy nienaturalnych aminokwasów. W badaniach tych zastosowano odczynnik Mukaiyamy (trifluorometanosulfonian 2-chloropirydyny) zaczepiony na dwóch różnych matrycach polimerowych, żywicy Wanga oraz na glikolu polietylenowym o różnej masie cząsteczkowej. Ponadto postanowiono również zbadać, jaki wpływ na wydajność przeprowadzonych cyklizacji będzie miała zamiana atomu chloru na atom bromu w pierścieniu pirydyny.

W wyniku tak zaplanowanych prac udało się uzyskać osiem pochodnych odczynnika Mukaiyamy zaczepionych na matrycach polimerowych. Następnie wszystkie otrzymane odczynniki zostały wykorzystane w reakcji cyklizacji enancjomerów kwasu 2-(2-aminoacetoksy)-2,3,3-trimetylobutanowego. W zależności od zastosowanej pochodnej odczynnika Mukaiyamy i warunków reakcji uzyskane wydajności mieściły się w zakresie od 15 do 65%. Najbardziej efektywne okazało się użycie w syntezie 2-bromopochodnej odczynnika Mukaiyamy zaczepionego na żywicy Wanga (65%). Wydajności dla pochodnych zaczepionych do glikolu polietylenowego nie były zadowalające i wynosiły maksymalnie około 35%. Należy również podkreślić, że żadna z użytych pochodnych odczynnika Mukaiyamy nie wpłynęła na czystość optyczną uzyskanego produktu reakcji, a tym samym otrzymanego równoważnika glicyny.

Praca była finansowana przez Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w ramach dotacji celowej dla młodych naukowców nr K/DSC/000772 oraz z dotacji na utrzymanie potencjału badawczego K/ZDS/004653.

MARTA JANOWSKA

ZNACZENIE WYBRANYCH POLIMORFIZMÓW W REGIONIE PROMOTORA GENU DLA CZYNNIKA MARTWICY GUZA ALFA W ROZWOJU I PRZEBIEGU TRĄDZIKU

AFILIACJA: Katedra Dermatologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Trądzik pospolity jest najczęstszą dermatozą u osób w wieku pomiędzy 11. a 30. rokiem życia. W patogenезie trądziku kluczową rolę odgrywają: nadmierna produkcja łoju przez gruczoły łojowe, kolonizacja mieszków łojowych przez *Propionibacterium acnes*, zaburzenia procesu keratynizacji oraz rozwój reakcji zapalnej. Podkreśla się również znaczący udział predyspozycji genetycznych. Z dotychczasowych doniesień Szabo i wsp. wynika, że polimorfizm w rejonie promotora genu dla TNF alfa pozycji -308 G/A oraz -857 C/T może być związany z rozwojem trądziku.

Cel pracy: Przeprowadzane badanie ma na celu określenie związku polimorfizmu w rejonie promotora genu dla TNF alfa w pozycjach -308 G/A i -857 C/T z przebiegiem klinicznym trądziku.

Metodologia: Badaniem objęta jest grupa pacjentów z rozpoznanym trądzikiem pospolitym w wieku 18–30 lat. Grupę kontrolną do badań genetycznych stanowią osoby bez zmian trądzikowych.

Wyniki i wnioski: Związek badanych polimorfizmów genu z występowaniem trądziku oraz stopniem nasilenia wydaje się szczególnie przydatny, gdyż może ułatwić podjęcie decyzji o wcześniejszym włączeniu bardziej agresywnego leczenia trądziku, szczególnie w jego ciężkich formach, prowadzących do głębokiego bliznowacenia.

DOROTA JARCZEWSKA

ZASIĘG GEOGRAFICZNY I DOSTĘPNOŚĆ PRZESTRZENNA JEDNOSTEK PODSTAWOWEJ OPIEKI ZDROWOTNEJ W KRAKOWIE

AFILIACJA: Zakład Medycyny Rodzinnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Celem badania było wykazanie zróżnicowania dostępności przestrzennej do lekarzy pierwszego kontaktu na przykładzie Krakowa z wykorzystaniem informacji geograficznej (GIS, program ArcGis), a także znalezienie potencjalnych miejsc lokalizacji dla przyszłych ośrodków podstawowej opieki zdrowotnej.

Wstęp: Podstawowa opieka zdrowotna odgrywa istotną rolę w poprawie i utrzymaniu zdrowia populacji. Dostępność do lekarzy POZ nie została dotychczas zbadana w Krakowie. Postawiono więc hipotezę, że istnieją w tym mieście znaczne różnice w dostępności do podstawowej opieki zdrowotnej.

Metodologia: Badanie przeprowadzono na podstawie danych dotyczących ludności PESEL (podpiętych do bazy danych adresowych) i danych dotyczących rozmieszczenia POZ w Krakowie otrzymanych z Narodowego Funduszu Zdrowia z wykorzystaniem specjalistycznych systemów informacji geograficznej (GIS). Dla każdego mieszkańca Krakowa obliczono najkrótszą drogę do najbliższego POZ, a następnie dane te zgeneralizowano i w celu wizualizacji – przeprowadzono interpolację. Odległość obliczono, wykorzystując GIS Analyst Network ESRI ArcGIS 10.0. Wyniki przedstawiono w postaci tabel i map.

Wyniki: W wyniku przeprowadzonych badań potwierdzono, że średnia odległość do POZ dla większości mieszkańców Krakowa to mniej niż kilometr, a zatem dostęp jest dobry. Dowiedziono, że istnieją pewne lokalne różnice w dostępności przestrzennej, a badanie można stosować w celu optymalizacji lokalizacji ośrodków POZ.

Wnioski: Zastosowana w badaniu metoda może być wykorzystywana do optymalizacji lokalizacji POZ.

ANDRZEJ JARYNOWSKI, ANDRZEJ BUDA, SANDRA NAJMRODZKA

ZASTOSOWANIE TECHNIK WIZUALIZACJI NIELINIOWYCH ZALEŻNOŚCI NA PRZYKŁADZIE OCENY JAKOŚCI ŻYCIA OSÓB ZE ZDIAGNOZOWANĄ DYSFUNKCJĄ TARCZYCY

AFILIACJA: Zakład Teorii Układów Złożonych, Instytut Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński; Grupa Modelowania Epidemiologicznego, Karolinska Institutet w Sztokholmie; Instytut Fizyki Jądrowej, Polska Akademia Nauk w Krakowie; Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Założenia: W związku ze wzrostem zapotrzebowania na cyfrową analizę danych epidemiologicznych przedstawiamy przykład wykorzystania technik MST (ang. Minimal Spanning Tree) oraz SNA (ang. Social Network Analysis) w medycynie, w kontekście związków o skomplikowanej naturze przyczynowo-skutkowej.

Cel pracy: Zgodnie z tradycją, w medycynie zależności te opisywane i sprawdzane są na ogół poprzez testowanie hipotez statystycznych. Ta metoda nie zawsze się jednak sprawdza, zwłaszcza gdy mamy do czynienia ze słabszymi korelacjami i nie jesteśmy w stanie stwierdzić, które cechy w sposób istotny wpływają na inne, które wpływają bezpośrednio, a które za pośrednictwem innych cech. Takie właśnie słabsze korelacje występują choćby w badaniach samooceny jakości życia osób ze zdiagnozowaną dysfunkcją tarczycy.

Metodologia: Do prezentacji przewagi technik nieliniowych wykorzystaliśmy przykład badania oceny jakości życia przeprowadzony w Poznaniu wśród 86 pacjentów za pomocą kwestionariusza (WHOQOL-BREF) składającego z 26 pytań w zakresie czterech dziedzin: somatycznej (fizycznej), psychologicznej, socjalnej oraz środowiskowej i dodatkowych pytań dotyczących samooceny stanu zdrowia i subiektywnej percepcji jakości życia. Wyniki zostały unormowane tak, aby móc policzyć współczynniki korelacji między badanymi cechami.

Wyniki i wnioski: Okazało się, że szukając związku badanych cech z jakością życia od strony tradycyjnej w medycynie metody testowania hipotez, otrzymujemy ledwie kilka istotnych statystycznie korelacji. To jest trójkąt: płeć, waga i wzrost oraz stan zdrowia połączony z jakością życia. Takie przedstawienie cech wpływających na jakość życia jest mało zadowalające poznawczo, a wizualizacja MST oraz SNA daje czytelne rozpoznanie, które cechy wpływają na jakość życia bezpośrednio, a które pośrednio – co z pewnością jest nową jakością dla badań epidemiologicznych.

KATARZYNA ANNA JASIŃSKA*, AGNIESZKA CIERNIAK**,
ANNA BORKOWSKA*, JOLANTA JURA**, PAWEŁ OLKO***,
BOŻENA ROMANOWSKA-DIXON****, MARTYNA ELAS*,
KRYSTYNA URBAŃSKA*

USZKODZENIA DNA I STRES OKSYDATYWNY PO NISKICH DAWKACH PROMIENIOWANIA X ORAZ PROMIENIOWANIA PROTONOWEGO

AFILIACJA: * Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; *** Instytut Fizyki Jądrowej, Polska Akademia Nauk w Krakowie; **** Klinika Okulistyki i Onkologii Okulistycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Promieniowanie jonizujące indukuje uszkodzenia DNA przez bezpośrednią jonizację oraz przez generowanie wolnych rodników atakujących DNA. Ostatnie badania wskazują, że współczynnik względnej skuteczności biologicznej dla promieniowania protonowego może być większy niż powszechnie akceptowalny 1.1. Promieniowanie protonowe indukuje także nieco odmienne uszkodzenia DNA niż fotony. Celem badań było porównanie uszkodzeń DNA oraz stresu oksydacyjnego po niskich dawkach promieniowania X oraz protonowego.

Metody: Linie komórkowe ludzkiego czerniaka (BLM) oraz mysiego gruczolakoraka piersi (E0771) napromieniano dawkami 1–5 Gy promieniowania X (300 kV Phillips, 1 Gy/min) lub wiązką protonów (58 MeV) z cyklotronu AIC-144. Po napromienianiu badano przeżywalność linii komórkowych z wykorzystaniem testu MTT, uszkodzenia DNA za pomocą metody kometowej i testu mikrojader, a także uszkodzenia oksydacyjne z wykorzystaniem metody TBARs.

Wyniki: Komórki wykazywały nieznacznie zmniejszoną proliferację po dawkach 1–3 Gy oraz silnie zahamowaną po 5 Gy. Za pomocą metody kometowej pokazano wzrost uszkodzeń DNA w czasie. Z wykorzystaniem metody TBARs wykazano obecność uszkodzeń oksydacyjnych po 5 Gy.

Wnioski: Linia komórkowa E0771 jest bardziej wrażliwa na promieniowanie niż linia BLM. Promieniowanie X oraz promieniowanie protonowe powodują uszkodzenia DNA w zależności od dawki.

ANNA JASIÓWKA

DEKLARACJE POSTAW MIESZKAŃCÓW MAŁOPOLSKI WOBEC DAWSTWA KOMÓREK, TKANEK I NARZĄDÓW

AFILIACJA: Zakład Socjologii Medycyny, Katedra Epidemiologii i Medycyny Zapobiegawczej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Zabiegi transplantacyjne są postępowaniem ratującym życie i zdrowie chorych ze schyłkową niewydolnością narządów, u których inne formy leczenia są już niewystarczające. Jednym z największych problemów w transplantologii jest niewystarczająca liczba dawców. Spośród ogółu przeprowadzanych transplantacji narządów w Polsce 97% to zabiegi, w których organy pobierane są od zmarłych dawców. Przeszczepy rodzinne stanowią zaledwie 3%.

Celem pracy było zbadanie deklaracji postaw mieszkańców Małopolski wobec dawstwa komórek, tkanek i narządów.

Analizowane dane pochodzą z projektu zrealizowanego w Urzędzie Statystycznym w Krakowie w styczniu 2011 r. W badaniu wzięły udział 774 dorosłe osoby mieszkające na terenie Małopolski. Do analizy statystycznej użyto testu niezależności χ^2 Pearsona. Za poziom istotności przyjęto $p \leq 0,05$.

Niespełna 54% badanych wyraziłoby zgodę na przeszczepienie za życia własnych komórek, tkanek i narządów osobom będącym w potrzebie. Brak zgody deklarowało 14,9% badanych, a 31,3% było niezdecydowanych. Natomiast 67,7% respondentów deklarowało zgodę na pobranie po śmierci swoich komórek, tkanek i narządów. Brak zgody wyraziło 11% badanych, a 21,3% było niezdecydowanych. Wyrażenie zgody bądź sprzeciwu w obydwu przypadkach, tj. dawstwa za życia i po śmierci, było zależne od ogólnego stosunku badanych do przeszczepów wykonywanych za życia i po śmierci oraz odbycia w przeszłości rozmowy z bliskimi na temat dawstwa komórek, tkanek i narządów.

Wyniki badania wskazują, że mieszkańcy Małopolski są bardziej gotowi do dawstwa po śmierci niż za życia. Uzyskane rezultaty powinny zachęcić do podjęcia działań, które pomogłyby zrozumieć, jak ważne są przeszczepy rodzinne i jak wielkie mają one znaczenie w skróceniu czasu oczekiwania na przeszczepienie narządu.

KATARZYNA JASNOS, MARCIN MAGIEROWSKI,
SŁAWOMIR KWIECIEŃ, TOMASZ BRZOZOWSKI

GASTROPROTEKCYJNE WŁAŚCIWOŚCI TLENKU WĘGLA WZGLĘDEM USZKODZEŃ BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA INDUKOWANYCH ETANOLEM

AFILIACJA: Katedra Fizjologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Tlenek węgla (CO) powstaje w organizmie człowieka jako produkt oksydacyjnej degradacji hemu w reakcji katalizowanej przez enzym oksygenazę hemową (HO). Badania przeprowadzone w ostatnich latach dowodzą, że CO to molekuła o wielokierunkowej aktywności biologicznej. CO bierze udział w transmisji nerwowej, modulacji napięcia ścian naczyń krwionośnych oraz hamowaniu agregacji płytek krwi. Przypuszcza się, że endogenny gazomediator może stanowić integralną składową bariery śluzówkowej żołądka.

Cel: Celem badań było określenie gastroprotekcyjnych właściwości CO podawanego dożołądkowo w postaci jego donoru CORM-2.

Materiał i metody: Badania prowadzono na szczurach białych rasy Wistar. Zwierzętom podawano dożołądkowo (i.g.) za pomocą metalowej sondy donor CO, CORM-2, w kombinacji z (lub bez): [1] inhibitorami cyklooksygenaz (indometacyna – nieselektywny inhibitor COX, celekoksyb – selektywny inhibitor COX-2, SC-560 – selektywny inhibitor COX-1); [2] inhibitorem syntazy tlenu azotu (L-NNA); [3] inhibitorem cyklicznej guanylowej (ODQ). Następnie po 30 minutach zaaplikowano w ten sam sposób 75% etanol w celu wywołania uszkodzeń. Metodą planimetryczną zmierzono powierzchnię uszkodzeń wrzodowych. Żołądkowy przepływ krwi został zmierzony przy użyciu laserowego przepływomierza Dopplera. Metodą RT-PCR oceniono zmiany w ekspresji mRNA dla HO-1.

Wyniki: CO uwalniany ze związku będącego jego donorem dawkozależnie hamuje powstawanie uszkodzeń błony śluzowej żołądka indukowanych etanolem. Działaniu temu towarzyszy zwiększenie żołądkowego przepływu krwi. Protekcyjny wpływ CORM-2 został całkowicie odwrócony przez indometacynę, SC-560 oraz L-NNA i ODQ.

Wnioski: CO wykazuje działanie gastroprotekcyjne w eksperymentalnym modelu etanolowego uszkodzenia żołądka. Efekt ten jest wynikiem zwiększenia żołądkowego przepływu. Proces aktywacji cykazy guanylowej, zwiększenie syntezy endogennych prostaglandyn oraz syntezy tlenku azotu to proponowane mechanizmy odpowiedzialne za naczyniorozszerzające właściwości CO.

MARTYNA JASTRZĘBSKA, PAWEŁ LINK-LENCZOWSKI,
ANNA LEJA-SZPAK, PIOTR PIERZCHALSKI

MECHANIZM INTERAKCJI POMIĘDZY ASTROCYTAMI I NEURONAMI W MODELU *IN VITRO* STWARDNIENIA ZANIKOWEGO BOCZNEGO

AFILIACJA: Zakład Fizjologii Medycznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Stwardnienie zanikowe boczne (ang. ALS – *Amyotrophic Lateral Sclerosis*) jest typowym przykładem rzadkiej choroby neurodegeneracyjnej, która pomimo wielu badań prowadzonych na świecie wciąż pozostaje chorobą o nieznanej etiologii.

Cel pracy: Celem prowadzonych doświadczeń jest poznanie mechanizmu śmierci komórek neuronalnych w hodowlach mieszanych z komórkami astrocytarnymi, stanowiącymi model oddziaływań pomiędzy neuronami i astrocytami w ośrodkowym układzie nerwowym chorych na ALS.

Metodologia: Różnicowane kwasem retinowym (RA, 15 nM/ml) hodowle linii astrocytarnej U373 poddawane były stymulacji cytokinami prozapalnymi (IL-1b, IL-6, TNFa) oraz osoczami pacjentów ze zdiagnozowanym ALS. Nadsącze z hodowli U373 przenoszono do różnicowanych komórek neuronalnych SH-SY5Y, BE2C. Po 48 godz. hodowli izolowano białko do oznaczeń *western blot* oraz RNA do analizy RT-PCR. Nadsącze hodowlane wykorzystywano do analizy aktywności zewnątrzkomórkowych metaloproteinaz metodą zymografii substratowej.

Wyniki: W hodowli U373 po stymulacji IL-6 lub mieszaniną IL-1 β i IL-6 oraz osoczami pacjentów zaobserwowano wzrost ekspresji NT-3. Podanie osocza pacjentów prowadzi do wzrostu wydzielanych metaloproteinaz MMP2 i MMP9 przez U373. Nadsącze hodowlane z eksperymentu z astrocytami stosowano do stymulacji komórek SH-SY5Y i BE2C, wykazując aktywację genu TrkA i p75, kodującego receptor dla NT-3 i NGF w tych komórkach.

Wnioski: Wykazano, że osocza pacjentów cierpiących na ALS zawierają czynniki prowadzące do aktywacji astrocytów, przejawiającej się produkcją neurotrofin (NT-3) i wydzielaniem MMP2 i MMP9. Jednocześnie aktywne astrocyty uruchamiają ekspresję TrkA i p75 w komórkach neuronalnych, stanowiących

podjednostki receptora dla NT-3 i NGF. Zjawisko takie obserwowano w hodowlach SH-SY5Y i BE2C poddanych działaniu nasączy z astrocytów stymulowanych osoczami pacjentów. Przedstawione wyniki pozwalają zaproponować mechanizm indukowanej śmierci komórek neuronalnych w hodowlach mieszanych.

JOANNA JUREK, MARTYNA CHWAŁ

TYP PRZYWIĄZANIA W PARZE RODZICIELSKIEJ A ZACHOWANIA ZWIĄZANE Z ŻAŁOBĄ

AFILIACJA: Zakład Terapii Rodzin, Katedra Psychiatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W związku z doniesieniami badawczymi wskazującymi na szczególnie zdezorganizowany, patologiczny przebieg żałoby u rodziców po śmierci dziecka prezentowany projekt ma na celu zbadanie przebiegu żałoby w tej szczególnej grupie osób badanych. Celem jest zbadanie zależności pomiędzy wybranymi czynnikami, które można wiązać z przeżywaniem „normalnej-ostrej” reakcji żałoby, jak również takimi, które ten proces blokują, skutkując symptomami zdezorganizowanej żałoby. Teoretyczną ramę projektu stanowi koncepcja przywiązania, dlatego według centralnej hipotezy przebieg żałoby powinien zależeć od stylu przywiązania w parze rodziców. Badanie będzie obejmowało grupę rodziców biologicznych i/lub opiekunów prawnych dzieci, które pozostawały pod opieką hospicjum dziecięcego „Promyczek” i zmarły między 1 stycznia 2008 roku a 30 czerwca 2013 roku.

Do pomiaru aktualnego przebiegu procesu żałoby zostaną zastosowane kwestionariusze: Kwestionariusz Zdezorganizowanej Żałoby (Prigerson et al. 1998, Zhang, El-Jawahri, Prigerson 2006), Kwestionariusz Żałoby Podstawowej (Burnett et al. 1997), Kwestionariusz Zachowań Unikowych w Żałobie (Sear et al. 2007). Na podstawie wielości symptomów oraz ich nasilenia będzie możliwe określenie wzorców reagowania charakterystycznych dla patologicznego (CG), w tym również unikowego, lub normalnego przebiegu żałoby (Holland, Nam, Neimeyer 2013, Bonanno, Kaltman 2001). Style przywiązania pomiędzy rodzicami określone zostaną na podstawie Kwestionariusza Stylów Przywiązaniowych (Plopa 2008). To oparte na teorii przywiązania narzędzie (Bowlby 1980, Shaver, Hazan 1987, Goldman 2000) pozwala wyróżnić styl bezpieczny, lękowo-ambiwalentny oraz unikowy. Dane ilościowe uzyskane z zastosowanych kwestionariuszy zostaną opracowane przy pomocy analizy regresji i modelowania strukturalnego.

Spodziewanym wynikiem prowadzonych badań będzie przeprowadzenie wewnętrznej walidacji Kwestionariusza Zdezorganizowanej Żałoby oraz określenie zależności pomiędzy lękowo-ambiwalentnym stylem przywiązania w parze a przebiegiem żałoby zdezorganizowanej.

KAROLINA KACZMARCZYK

RÓŻNICE W LICZEBNOŚCI MASTOCYTÓW CHYMAZO- I TRYPTAZO-DODATNICH W OBRĘBIE PODŚCIELISKA NERKI W RÓŻNYCH KLASACH SYSTEMOWEGO TOCZNIA RUMIENIOWATEGO (SLE)

AFILIACJA: Zakład Patomorfologii Klinicznej i Doświadczalnej, Katedra Patomorfologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Nerka jest jednym z organów podlegających zmianom patologicznym podczas systemowego toczenia rumieniowatego (SLE). Zmiany te dotyczą obszaru kłębuszka nerkowego, a w konsekwencji także podścieliska nerki. W procesie tym uczestniczy wiele czynników, m.in. komórki układu odpornościowego, w tym mastocyty. Określenie stopnia uszkodzenia nerki jest ważnym czynnikiem prognostycznym w rozwoju SLE.

Celem pracy było określenie ilości mastocytów chymazo- i tryptazo-dodatnich w klasie II, III i IV systemowego toczenia rumieniowatego w obrębie podścieliska nerki.

Materiał stanowiły 42 biopsje nerek od pacjentów z rozpoznanym toczeniem rumieniowatym: 11 z klasy II, 9 z klasy III i 22 z klasy IV. W grupie badanych znajdowało się 35 kobiet i 7 mężczyzn w wieku między 19. a 56. rokiem życia. Wykonano odczyny immunohistochemiczne w kierunku chymazy i tryptazy. Policzono sumę mastocytów w 10 polach widzenia, przy powiększeniu 400x. Przy pomocy siatki stereologicznej zmierzono względną objętość podścieliska na preparatach barwionych metodą PAMS, również przy powiększeniu 400x. Wyniki skorelowano z poziomem kreatyniny oraz dziennym białkomoczem. Średnia liczba mastocytów chymazo-dodatnich wynosiła 9,8/10 pól widzenia w całej grupie, 4,66 w klasie II, 11,89 w klasie III, 11,51 w klasie IV. Średnia liczba mastocytów tryptazo-dodatnich wynosiła 18,6/10 pól widzenia dla całej grupy, 7,65 w klasie II, 25,57 w klasie III, 21,23 w klasie IV. Stwierdzono statystycznie istotne różnice w liczebności mastocytów w poszczególnych klasach toczenia zarówno dla chymazo-, jak i tryptazo-dodatnich komórek. Zaobserwowano korelację pomiędzy ilością komórek tryptazo-dodatnich a poziomem kreatyniny ($R=0,35$).

Uzyskane wyniki sugerują, że mastocyty mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie różnego rodzaju zmian w toczeniu rumieniowatym.

MARTA KACZOR-KAMIŃSKA*, PIOTR SURA**, MARIA WRÓBEL*

WPLYW JONÓW METALI CIĘŻKICH NA EKSPRESJĘ ENZYMÓW ANTYOKSYDACYJNYCH I PEROKSYDACJĘ LIPIDÓW W MÓZGU ŻABY

AFILIACJA: * Katedra Biochemii Lekarskiej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Biologii Medycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Efekt toksyczny wywierany przez jony ołowiu, rtęci i kadmu na organizm jest wielokierunkowy. Wyszczególnić można trzy główne przyczyny ich wysokiej toksyczności: 1) wysokie powinowactwo do grup tiolowych, aminowych i karboksylowych aminokwasów występujących w białkach, co w konsekwencji prowadzi do zmiany ich konformacji i właściwości katalitycznych, 2) zmiana potencjału antyoksydacyjnego komórek – obniżanie poziomu glutationu i dostępnych rezerw antyoksydacyjnych prowadzące do stresu oksydacyjnego, 3) współzawodnictwo z dwuwartościowymi jonami metali (miedź, cynk) o miejsca wiążące w białkach, prowadzące do zahamowania lub zmiany ich aktywności.

Głównym celem prowadzonych badań było oznaczenie poziomu dialdehydu malonowego, produktu peroksydacji lipidów i ekspresji genów kodujących peroksydazę glutationową, dysmutazę ponadtlenkową (formę cytoplazmatyczną i mitochondrialną) i katalazę w mózgach *Xenopus tropicalis*, które przez 10 dni poddawane były działaniu jonów ołowiu (28 mg/l), kadmu (40 mg/l) i rtęci (1,353 mg/l). Jako genu referencyjnego użyto genu dla dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH).

Narażenie na działanie jonów metali ciężkich powoduje w mózgu wzrost ilości mRNA dla cytoplazmatycznej i mitochondrialnej dysmutazy ponadtlenkowej (narażenie na ołów) i peroksydazy glutationowej (narażenie na rtęć). Ekspresja genu kodującego katalazę ulega obniżeniu w przypadku narażenia na wszystkie badane jony metali, natomiast ekspresja peroksydazy glutationowej i mitochondrialnej dysmutazy ponadtlenkowej tylko pod wpływem jonów kadmu.

Wyniki dotyczące wpływu jonów rtęci i ołowiu na ekspresję cytoplazmatycznej i mitochondrialnej dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy glutationowej sugerują, że w komórkach zwiększa się poziom reaktywnych form tlenu i w odpowiedzi na stres oksydacyjny stymulowana jest ekspresja enzymów antyoksydacyjnych.

ŁUKASZ KACZYŃSKI

NOWY KWESTIONARIUSZ OCENY JAKOŚCI BADAŃ BEZ RANDOMIZACJI

AFILIACJA: Zakład Diagnostyki, Katedra Biochemii Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: W ramach wykonywania raportu oceny technologii medycznych poszukuje się najbardziej rzetelnych badań odzwierciedlających skuteczność analizowanych leków. Największym stopniem wiarygodności charakteryzują się badania z randomizacją, które jednak nie przedstawiają informacji na temat skuteczności leków w warunkach codziennej praktyki lekarskiej. Na to pytanie odpowiadają badania bez randomizacji, dlatego tak istotna jest ich prawidłowa hierarchizacja w oparciu o przyjmowane w nich założenia metodologiczne oraz sposób przedstawiania uzyskanych wyników.

Cel i metody: W celu odnalezienia najbardziej aktualnych metod oceny jakości badań bez randomizacji w bazie MEDLINE przez PubMed wykonano przegląd systematyczny, stosując następujące kwerendy: „(observational studies OR cohort studies OR casecontrol studies OR cross-sectional studies OR follow-up studies) AND (tool OR scale) AND (quality OR validity)”. Data wyszukiwania: marzec 2013 roku.

Wyniki: W ramach przeprowadzonego przeglądu zidentyfikowano ponad 100 różnych skal służących do oceny jakości badań bez randomizacji. Na ich podstawie zdefiniowano newralgiczne elementy metodologiczne prób, które powinny zostać przeanalizowane podczas oceny jakości badań w ramach oceny technologii medycznych. Następnie stworzono ujednoliconą, podstawową wersję kwestionariusza. Narzędzie składa się z 17 pytań, zgrupowanych w 6 domenach: protokół próby, populacja, interwencja, punkty końcowe, wyniki i publikacja. Znacząca jest zwłaszcza ostatnia domena kwestionariusza, oceniająca heterogeniczność prezentowanych w publikacji rezultatów czy przedstawienie przez autorów informacji o stosowanych metodach statystycznych.

Wnioski: Standaryzacja oceny jakości badań bez randomizacji poprzez stworzenie ujednoliconego kwestionariusza skutkować będzie wyodrębnieniem wartościowych danych na temat efektywności leków ocenianych w raportach oceny technologii medycznych.

Publikacja powstała dzięki grantowi naukowemu Naukowej Fundacji Polpharmy.

KATARZYNA KAMIŃSKA*, MAŁGORZATA WIĘCEK*, GNIEWOMIR LATACZ*,
KINGA ROMANEK**, SZCZEPAN MOGILSKI**,
BARBARA FILIPEK**, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

AKTYWNOŚĆ PRZECIWBÓLOWA I PRZECIWZAPALNA NOWYCH POCHODNYCH 1,3,5 -TRIAZyny – LIGANDÓW RECEPTORA H₄ HISTAMINOWEGO

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Lecznictw, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Ekspresja najpóźniej odkrytego receptora H₄ histaminowego (2000/2001) ma miejsce głównie w monocytach, komórkach tucznych, eozynofilach i bazofilach, co sugeruje zaangażowanie H₄R w procesy zapalne i reakcje immunologiczne. Ostatnie wyniki badań wskazują także na skuteczność antagonistów H₄R w kilku modelach bólu. Jako że fizjologiczna rola H₄R nie jest do końca poznana, nowe, selektywne ligandy są niezbędne do zbadania mechanizmów jego działania.

Niniejsza praca obejmuje ocenę aktywności przeciwbólowej pochodnych 4-(4-metylpiperazyn-1-yl)-1,3,5-triazyny (TR7 i TR18; 25 mg/kg, ip) u szczurów przy użyciu mechanicznego (*Randalla Selitto*) oraz termicznego (*Plantar-test*) indukowanego karageniną modelu nadwrażliwości bólowej. Ponadto, zbadano aktywność przeciwzapalną TR7 i TR18 w modelu zapalenia otrzewnej indukowanego Zymosanem A u myszy. Dodatkowo przeprowadzono wstępne badania *in vitro* ich działania antyproliferacyjnego na liniach komórkowych HEK-293 oraz IMR-32. Przebadane związki zostały wybrane z biblioteki związków zsyntetyzowanych w naszym Zakładzie po przeprowadzeniu wstępnych badań *in vivo* na myszach.

Uzyskane wyniki wykazują, iż uprzednie podanie TR7 oraz TR18 zmniejsza intensywność zapalenia wywołanego hiperalgezią mechaniczną. W modelu termicznej hiperalgezji tylko TR7 zwiększył opóźnienie wycofania łapy. Oba związki hamowały migrację komórek oraz wysięk osocza w modelu zapalenia otrzewnej u myszy. W badaniach *in vitro* TR7 i TR18 wykazały słabe działanie antyproliferacyjne zarówno wobec HEK-293, jak i IMR-32. Podsumowując, można stwierdzić, że nowe pochodne 1,3,5-triazyny, zdolne do działania jako antagoniści H₄R, zmniejszają hiperalgezię w modelach zapalenia *in vivo* u szczurów oraz wykazują aktywność przeciwzapalną, co zaobserwowano w mysim modelu zapalenia otrzewnej.

Praca współfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki DEC-2011/02/A/NZ4/00031 oraz Akcję COST CM1207 GLISTEN.

PRZEMYSŁAW KAPUSTA, EWA WYPASEK, JOANNA NATORSKA,
GRZEGORZ GRUDZIEN, PIOTR MAZUR, JERZY SADOWSKI, ANETTA UNDAS

EKSPRESJA ENZYMU KONWERTUJĄCEGO ANGIOTENSYNĘ (ACE) W LUDZKICH ZASTAWKACH AORTALNYCH – ZWIĄZEK Z KALCYFIKACJĄ

AFILIACJA: Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II; Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Stenoza zastawki aortalnej (AS) jest obecnie najczęstszą wadą zastawkową występującą u ludzi powyżej 65. roku życia. Patofizjologia AS nie jest dokładnie poznana. Obecnie uważa się, że rozwój tej wady przypomina procesy zachodzące w zmianach miażdżycowych z wyraźnym odczynem zapalnym, któremu towarzyszy akumulacja lipidów oraz znacznie większa niż w miażdżycy kalcyfikacja. Nieznane są skuteczne strategie farmakologiczne, które istotnie zmniejszają rozwój AS. Badania zastawek aortalnych od chorych z powodu AS wykazały obecność konwertazy angiotensyny (ACE) i angiotensyny I, sugerując udział układu renina-angiotensyna w AS.

Celem badań było określenie powiązań między ekspresją ACE oraz angiotensyny I a kalcyfikacją oraz nasileniem wady.

Metody i wyniki: Materiał do badań stanowiły zastawki pobrane od pacjentów operowanych z powodu AS bez istotnych zmian miażdżycowych. RNA izolowano ze 135 fragmentów zastawek aortalnych uzyskanych od 34 pacjentów. Fragmenty były odpowiednio zakwalifikowane na obszary o charakterze normalnym, zgrubiałym i zwapniałym. Poziom relatywnej ekspresji badanych genów został porównany z przedoperacyjnymi parametrami echokardiograficznymi. W badanych fragmentach stwierdzono zwiększoną ekspresję mRNA ACE (odpowiednio 2,1-krotnie dla fragmentów zgrubiałych i 2,8-krotnie dla fragmentów zwapniałych w porównaniu do fragmentów normalnych). Dodatkowo zaobserwowano korelację pomiędzy poziomem ekspresji mRNA dla ACE a średnim i maksymalnym gradientem przezzastawkowym (odpowiednio $r=0,38$; $P=0,05$ i $r=0,48$; $P=0,01$). Dodatkowe eksperymenty przy użyciu hodowli ludzkich miofibroblastów wyizolowanych z zastawki aortalnej pokazały zwiększoną ekspresję fosfatazy alkalicznej oraz kalcyfikację pod wpływem stymulacji angiotensyną I oraz angiotensyną II.

Wnioski: Zwiększona ekspresja ACE w badanych fragmentach zastawek aortalnych w powiązaniu z parametrami echokardiograficznymi oraz doświadczeniami przy użyciu hodowli komórkowych sugeruje istotny wpływ angiotensyny w rozwoju stenozy aortalnej.

MIKHAIL KISIALEUSKI, MICHAŁ PĘDZIWIATR,
MATEUSZ RUBINKIEWICZ, MACIEJ STANEK, PIOTR MAJOR,
MAŁGORZATA ZAJĄC, MACIEJ MATŁOK, ANDRZEJ BUDZYŃSKI

ZASTOSOWANIE PROTOKOŁU OPIEKI OKOŁOOPERACYJNEJ „ENHANCED RECOVERY AFTER SURGERY” (ERAS) W CHIRURGII JELITA GRUBEGO U OSÓB STARSZYCH

AFILIACJA: II Katedra Chirurgii Ogólnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński;
Klinika Chirurgii Endoskopowej, Metabolicznej oraz Nowotworów Tkanek Miękkich

Założenie: Zastosowanie protokołu ERAS w planowej chirurgii jelita grubego u osób starszych skraca czas hospitalizacji oraz zmniejsza ryzyko występowania powikłań okołoperacyjnych.

Cel: Określenie, czy osoby starsze są w stanie wypełnić wszystkie założenia protokołu ERAS i czy zastosowanie go w opiece okołoperacyjnej przynosi korzyści u chorych w wieku podeszłym po laparoskopowych operacjach jelita grubego.

Materiał: Przeanalizowano grupę 60 chorych zakwalifikowanych do resekcji w obrębie okrężnicy lub odbytnicy. Z badania wyłączono osoby operowane w trybie doraźnym. Chorych podzielono na 2 grupy. Grupę 1 stanowili chorzy w wieku ≤ 65 lat, a grupę 2 osoby > 65 lat. Analizowano czas pobytu w szpitalu, czas oddania pierwszego stolca, liczbę i charakter powikłań okołoperacyjnych, liczbę ponownych hospitalizacji w poszczególnych grupach.

Wyniki: Grupie osób w wieku podeszłym podobnie jak i grupie młodszych pacjentów udało się wypełnić większość założeń protokołu opieki okołoperacyjnej ERAS. Nie wiązało się to z większą ilością oraz poważniejszym stopniem (wg klasyfikacji Clavien-Dindo) powikłań okołoperacyjnych. Czas do przywrócenia prawidłowego funkcjonowania przewodu pokarmowego był również podobny (2,4 v. 2,5 dni). Średni czas hospitalizacji wynosił 4,5 (2–18) dnia w grupie 1 i 4,8 (2–22) dnia w grupie 2. Łącznie u 3 (5%) chorych (dwóch w grupie 1 i jednego w grupie 2) konieczna była ponowna hospitalizacja w okresie 30 dni od zabiegu operacyjnego, niewymagająca ponownego leczenia operacyjnego.

Wnioski: Wprowadzenie protokołu ERAS jest możliwe niezależnie od wieku operowanych osób. Jego zastosowanie w grupie osób w wieku podeszłym pozwala skrócić czas pobytu w szpitalu i nie wiąże się z wyższym ryzykiem powikłań lub ponownych hospitalizacji.

KAROLINA KLESIEWICZ, ELŻBIETA KARCZEWSKA, ALICJA BUDAK

ANALIZA WYSTĘPOWANIA MECHANIZMÓW OPORNOŚCI NA KLARYTROMYCYNĘ WŚRÓD SZCZEPÓW *HELICOBACTER PYLORI*

AFILIACJA: Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Oporność szczepów *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) na klarytromycynę jest główną przyczyną niepowodzenia leczenia zakażenia *H.pylori*. W regionach o wysokim stopniu oporności na klarytromycynę (>20%) (np. Małopolska) nie zaleca się stosowania klarytromycyny bez wykonania testu wrażliwości. Szybkie wykrycie oporności na klarytromycynę metodami genetycznymi umożliwia wprowadzenie celowanego i efektywnego leczenia zakażenia *H.pylori*.

Cel: Ocena występowania mutacji A2143G oraz A2142G w genie 23SrRNA warunkujących oporność na klarytromycynę u 35 szczepów *H.pylori* opornych na ten makrolid. Analiza zależności pomiędzy typem mutacji a stopniem oporności na klarytromycynę.

Metodologia: Badaniami objęto 35 szczepów *H.pylori* opornych na klarytromycynę, wyizolowanych od pacjentów z chorobami górnego odcinka przewodu pokarmowego. Oporność na klarytromycynę oznaczono metodą ilościową E-test wobec szczepu wzorcowego ATCC43504. Wyniki lekowrażliwości interpretowano zgodnie z wytycznymi EUCAST. Wykrywanie mutacji A2143G oraz A2142G w genie 23SrRNA przeprowadzono metodą PCR-RFLP. Wykonano amplifikację fragmentu genu 23SrRNA o wielkości 425bp, a następnie przy użyciu enzymów restrykcyjnych określano typ mutacji. Do wykrycia mutacji A2143G zastosowano enzym Eco3II, natomiast enzymu BbsI użyto dla mutacji A2142G. Analizę prowadzono wobec szczepu wzorcowego ATCC700684 posiadającego mutację A2143G. Testem Fischera dokładnym jednostronnym oceniono zależność pomiędzy typem mutacji a stopniem oporności na klarytromycynę.

Wyniki: Mutację A2143G posiadało 51,43% (18/38) szczepów *H.pylori*, natomiast 34,29% (12/35) mutację A2142G. U 5 badanych szczepów nie potwierdzono obecności żadnej z badanych mutacji. Wykazano, że szczepy z mutacją A2143G statystycznie częściej posiadały niskie wartości MIC dla klarytromycyny ($MIC \leq 32$ mg/L) w stosunku do szczepów z mutacją A2142G ($p=0,0056$).

Wnioski: Szybkie wykrycie oporności na klarytromycynę ma istotne znaczenie przy wyborze odpowiedniego schematu leczenia, warunkującego skuteczne leczenie zakażenia *H.pylori*.

MAGDALENA KLIMEK, ANDRZEJ GALBARCZYK, ILONA NENKO,
GRAZYNA JASIEŃSKA

CZY INDEKS DŁUGOŚCI PALCÓW 2D:4D JEST ZWIĄZANY ZE STĘŻENIEM 17 β -ESTRADIOLU ORAZ PROGESTERONU WŚRÓD KOBIET W WIEKU ROZRODCZYM?

AFILIACJA: Zakład Zdrowia i Środowiska, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W literaturze sugeruje się możliwy związek prenatalnych stężeń hormonów płciowych (mierzonych za pomocą indeksu długości palców, 2D:4D) ze stężeniem tych hormonów w dorosłości. Nieliczne dotychczasowe badania wykazały związek indeksu 2D:4D ze stężeniem 17 β -estradiolu (E2) oraz progesteronu w dorosłości wśród kobiet oraz ze stężeniem testosteronu wśród mężczyzn i kobiet, jednakże wyniki tych zależności nie są jednoznaczne. Badania te opierały się jednak w większości na analizach jednorazowego pomiaru stężeń hormonów.

Cel: Ocena zależności pomiędzy indeksem długości palców 2D:4D a stężeniem 17 β -estradiolu (E2) oraz progesteronu wśród kobiet w wieku rozrodczym.

Materiał i metody: Dane zostały zebrane w latach 2001–2003 wśród 183 zdrowych kobiet w wieku 24–37 lat (średnia=29,54; SD 3,31). W przypadku każdej z uczestniczek wykonano kwestionariusz osobowy, kwestionariusz aktywności fizycznej oraz pomiary antropometryczne (długość palców, wysokość i masa ciała). Ponadto każda z kobiet w trakcie jednego pełnego cyklu menstruacyjnego oddawała próbkę śliny w celu analiz stężeń hormonów.

Wyniki: Nie zaobserwowano statystycznie istotnej zależności pomiędzy indeksem długości palców 2D:4D (u prawej oraz lewej ręki) a średnimi stężeniami 17 β -estradiolu (E2) oraz progesteronu po uwzględnieniu wieku badanych kobiet, ich aktywności fizycznej, indeksu ponderalnego oraz BMI ($P>0,05$).

Dyskusja: Wyniki badania wskazują na brak prenatalnych uwarunkowań stężeń hormonów w dorosłości (na podstawie wartości 2D:4D). W literaturze sugeruje się przeważający wpływ licznych czynników w trakcie życia o znacznie istotniejszym znaczeniu dla modyfikowania stężeń hormonów kobiet niż warunki wczesnorozwojowe. Jednakże inne badania wskazują na istotny związek 2D:4D i hormonozależnych schorzeń wieku dorosłego (nowotwór prostaty, nowotwór piersi), w związku z tym konieczne są dalsze badania tego zagadnienia.

EDYTA KORBUT*, AGATA PTAK-BELOWSKA*, GRAŻYNA STOCHEL**,
TOMASZ BRZOZOWSKI*

BADANIA MECHANIZMÓW PRZECIWNOWOTWOROWEGO DZIAŁANIA SELENO-KRZEMOWYCH POCHODNYCH PEPTYDÓW W MODELACH KARCINOGENEZY *IN VITRO*

AFILIACJA: * Katedra Fizjologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Chemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Zwiększona zapadalność na choroby nowotworowe oraz wzrost śmiertelności spowodowanej tymi chorobami skłania do nieustannych poszukiwań efektywnych sposobów farmakoterapii. Najnowsze doniesienia wskazują na antynowotworowe działanie związków selenu. Z kolei krzemowe mimetyki peptydów wykazują hamujące działanie na metaloproteiny (MMPs), sugerując ich rolę w walce z przerzutowaniem procesu nowotworowego.

Celem niniejszej pracy jest dostarczenie nowych danych doświadczalnych na temat działania selenometioniny (SeMet), egzogennych selenowych i seleno-krzemowych pochodnych peptydów, jako potencjalnych regulatorów szlaków związanych z apoptozą, proliferacją i ekspansją (inhibicja MMPs) komórek nowotworowych. Badania prowadzone były *in vitro* z użyciem ludzkich nowotworowych linii komórkowych jelita grubego – HT-29, trzustki – Panc-1 oraz linii ludzkich keratynocytów – HaCaT jako kontroli. Eksperymentalnie *in vitro* wyznaczono cytotoksyczne dawki (IC₅₀) SeMet, które wyniosły dla Panc-1, HT-29 oraz HaCat odpowiednio 250, 275 oraz 550 μM.

W kolejnych eksperymentach wykazano, iż użycie SeMet w dawkach odpowiadających IC₅₀ prowadzi do zahamowania ekspresji genów pro-apoptotycznych (Bax, Myc, p53) oraz wzmocnienia ekspresji genów anty-apoptotycznych (Bcl-2, XIAP) w komórkach HT-29. W przypadku Panc-1 nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian. Ten interesujący, chociaż zaskakujący wynik można próbować tłumaczyć specyfiką tkankową nowotworu oraz zaangażowaniem innych niż apoptoza, wywołanych najprawdopodobniej silnym efektem cytotoksycznym, mechanizmów powodujących śmierć komórek.

W kolejnych etapach badań przewidywana jest stymulacja linii komórkowych z użyciem selenowych i seleno-krzemowych pochodnych peptydów. Zbadany zostanie wpływ wszystkich związków na stopień ekspresji i aktywacji białek, a także zdolność komórek do migracji.

Dotychczasowe wyniki skłaniają nas do kontynuacji badań, które mogłyby potwierdzić naszą roboczą hipotezę (lub jej zaprzeczyć), że związki seleno-krzemowe są potencjalnie użyteczną grupą związków hamujących wzrost i ekspansję komórek nowotworowych.

JOANNA KOSAŁKA, BOGDAN JAKIELA, JACEK MUSIAŁ

PODKLASY LIMFOCYTÓW B W TOCZNIU RUMIENIOWATYM UKŁADOWYM Z ZAJĘCIEM NEREK

AFILIACJA: II Katedra Chorób Wewnętrznych, Oddział Kliniczny Kliniki Alergii i Immunologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: W toczniu rumieniowatym układowym (SLE) dochodzi do nadmiernej aktywacji limfocytów B, przełamania tolerancji immunologicznej oraz reakcji autoimmunologicznych.

Cel: Celem badania było sprawdzenie, czy zaburzenia na poziomie podklas limfocytów B mają związek z zaostrzeniami SLE.

Metody: U 22 pacjentów z SLE z zajęciem nerek (9 z zaostrzeniem nerkowym, 13 w remisji) oraz 23 zdrowych osób oceniono przy pomocy cytometrii przepływowej ekspresję antygenów CD21, CD27 i IgD na limfocytach B (CD19+) krwi obwodowej. Metoda ta pozwoliła na identyfikację limfocytów B: dziewiczych (CD27-IgD+CD21+), pamięci przed przełączeniem klas (NSM – *non-switched memory*; CD27+IgD+CD21+) oraz pamięci po przełączeniu klas (SM – *switched memory*; CD27+IgD-).

Wyniki: U wszystkich chorych na SLE stwierdzono zmniejszenie odsetka limfocytów B typu NSM w porównaniu do grupy kontrolnej ($p < 0,05$). U pacjentów z zaostrzeniem nerkowym SLE obserwowano zmniejszenie odsetka limfocytów B dziewiczych oraz zwiększenie odsetka aktywowanych limfocytów SM (CD21-) w porównaniu do chorych w remisji i osób zdrowych ($p < 0,05$). Odsetek limfocytów B dziewiczych ujemnie korelował z aktywnością choroby przedstawioną w skali SLEDAI ($r = -0,73$).

Wnioski: Powyższe wyniki sugerują, iż u chorych na SLE (niezależnie od aktywności choroby) dochodzi do zmniejszenia odsetka limfocytów B typu NSM, natomiast jedną z cech zaostrzeń choroby jest zmniejszenie odsetka limfocytów B dziewiczych i zwiększenie odsetka aktywowanych limfocytów SM.

PAULA KOWALCZYK, KRZYSZTOF KOTNIEWICZ

**NOWE 2-ARYLOALKILOAMINOWE POCHODNE KWASU
4-HYDROKSYBUTANOWEGO O AKTYWNOŚCI
HAMUJĄCEJ TRANSPORTERY mGAT.
SYNTEZA CHEMICZNA I BADANIA SAR**

AFILIACJA: Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Katedra Chemii Farmaceutycznej,
Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wyniki uzyskane w ramach wieloletnich badań prowadzonych w różnych jednostkach badawczych na świecie dowodzą, że wychwyt zwrotny kwasu 4-aminobutanowego (GABA), najważniejszego hamującego neurotransmitera w OUN, odgrywa znaczącą rolę w patogenezie wielu schorzeń neurologicznych. Przywrócenie właściwej równowagi pomiędzy neuronami OUN, możliwe jest w wyniku blokowania poszczególnych izoform transporterów GABA tak zwanych białek GAT (mGAT1-GAT4). Jedynym lekiem będącym selektywnym inhibitorem GAT-1 jest stosowana w terapii padaczki i bólu neuropatycznego tiagabina. Tymczasem pomimo zasobnej biblioteki struktur wiedza na temat znaczenia terapeutycznego i budowy pozostałych izoform transporterów GAT (mGAT2-4) jest stosunkowo ograniczona. W konsekwencji kluczowe staje się poszukiwanie nowych struktur charakteryzujących się selektywnym wiązaniem do transporterów mGAT2-4.

Celem niniejszych badań jest synteza nowych związków 2-aryloalkiloaminowych pochodnych kwasu 4-hydroksybutanowego (GHB) o potencjalnej aktywności hamującej wychwyt zwrotny GABA. Struktury związków planowanych do badań zaprojektowano w oparciu o pozytywne wyniki badań *in vitro* wcześniej zsyntetyzowanych N-benzylamidowych pochodnych GHB z ugrupowaniem N-metylo-4,4-difenylobut-3-enyloaminowym w pozycji 2.

Kontynuując powyższe badania, postanowiono określić, w jakim stopniu połączenie obu pierścieni aromatycznych we fragmencie aminowym cząsteczki bezpośrednim wiązaniem kowalencyjnym oraz mostkiem etylenowym i etanowym wpływa na powinowactwo otrzymanych związków do transporterów GAT. W związku z tym w pozycji 2 kwasu butanowego wprowadzono odpowiednie ugrupowania 3-(triarylo)-N-metylopropan-1-aminowe z pierścieniami 9H-fluorenu, 5H-dibenzo[a,d]cycloheptatrienu oraz 10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptadienu, przy zachowaniu stałego trzonu N-benzylamidu GHB.

Zaplanowane modyfikacje pozwoliły na otrzymanie trzech serii związków, które zostały przekazane do badań *in vitro* wobec poszczególnych podtypów białek GAT (mGAT1-4). Uzyskane wyniki pozwoliły na zdefiniowanie wstępnych zależności pomiędzy strukturą otrzymanych związków a ich aktywnością biologiczną.

Badania zostały wykonane w ramach projektu NCN nr DEC-2012/05/B/NZ7/02705.

ANNA KRZTOŃ-KRÓLEWIECKA

PODSTAWOWA OPIEKA ZDROWOTNA W OCENIE LEKARZY. BADANIE „QUALITY AND COSTS IN PRIMARY CARE” W POLSCE

AFILIACJA: Zakład Medycyny Rodzinnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Model opieki zdrowotnej opartej na podstawowej opiece zdrowotnej i medycynie rodzinnej budowany jest w Polsce dopiero od wczesnych lat 90. ubiegłego stulecia. Lekarze jako główni świadczeniodawcy POZ i bezpośredni obserwatorzy są w stanie dostarczyć wiarygodnych, rzeczywistych danych o funkcjonowaniu podstawowej opieki zdrowotnej. Celem badania jest poznanie postrzegania systemu podstawowej opieki zdrowotnej w Polsce przez lekarzy POZ.

Materiał i metody: Prowadzone jest badanie ankietowe w ramach międzynarodowego projektu QUALICOPC – Quality and Costs in Primary Care in Europe, mającego na celu porównanie jakości i kosztów w podstawowej opiece zdrowotnej. W Polsce obejmuje 220 losowo wybranych lekarzy POZ z województw: małopolskiego, podlaskiego i zachodniopomorskiego, którzy zostali poproszeni o wypełnienie międzynarodowego kwestionariusza, przetłumaczonego i dostosowanego do warunków polskich.

Wyniki: 76% badanych lekarzy posiada specjalizację z medycyny rodzinnej. Całkowity tygodniowy czas pracy lekarza POZ wynosi średnio 38 godz. 11% badanych lekarzy pracuje więcej niż 48 godz./tydzień. Lekarz POZ przyjmuje średnio 35 pacjentów dziennie. Prawie wszyscy lekarze POZ są włączeni w leczenie schorzeń internistycznych. Około 10% lekarzy POZ w ramach swojej praktyki wykonuje procedury „małej chirurgii”.

Wnioski: Podstawowa opieka zdrowotna jest pierwszym dostępnym dla pacjenta poziomem opieki profesjonalnej, który zaspokaja częściowo jego potrzeby zdrowotne. Istnieje potrzeba przygotowania strategii mających na celu ulepszenie i unowocześnienie systemu POZ w Polsce.

PAULINA KUBOWICZ*, MONIKA MARCINKOWSKA**,
KRZYSZTOF KAMIŃSKI**, MARCIN KOŁACZKOWSKI**,
MACIEJ PAWŁOWSKI**, ELŻBIETA PĘKAŁA*

METABOLIZM MIKROSOMALNY ZOLPIDEMU I JEGO POCHODNYCH

AFILIACJA: * Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Zolpidem jest pochodną imidazopirydyny o silnym działaniu nasennym i niewielkiej aktywności przeciwlękowej, miorelaksacyjnej oraz przeciwdrgawkowej. Doniesienia ostatnich lat wskazują, iż związek ten wykazuje również działanie przeciwpsychotyczne i może być stosowany u chorych na schizofrenię¹. U ludzi jest szybko metabolizowany do hydroksylowych i karboksylowych nieaktywnych metabolitów². W celu zwiększenia odporności cząsteczki zolpidemu na działanie enzymów metabolizujących w Katedrze Chemii Farmaceutycznej podjęto próby modyfikacji jego struktury, skutkiem czego było zsyntetyzowanie trzech nowych pochodnych – Z1, Z2 oraz Z3 – w których grupy metylowe zastąpiono atomami fluoru.

Cel pracy: W ramach naszych badań przeprowadzono biotransformację zolpidemu oraz jego pochodnych *in vitro*, wykorzystując model mikrosomów ludzkich i mysich.

Metodologia: Do badania oceniających wpływ zmian strukturalnych na stabilność metaboliczną nowych pochodnych oraz do ustalenia struktury utworzonych metabolitów wykorzystano technikę LC-MS/MS.

Wyniki: Na podstawie analizy widm LC-MS/MS wykazano, że zarówno zolpidem, jak i Z1 ulegają metabolizmowi do pochodnych hydroksylowych. Zmiany te zaobserwowano po godzinnej inkubacji z mysimi i ludzkimi enzymami mikrosomalnymi. Dowiedziono także, że zamiana dwóch ugrupowań metylowych na atomy fluoru w Z3 oraz zamiana jednej grypy metylowej – połączonej z pierścieniem benzenowym – skutecznie hamują metabolizm.

Wnioski: Otrzymane wyniki uprawniają do stwierdzenia, że grupa metylowa połączona z pierścieniem benzenowym jest miejscem najbardziej „wrażliwym” na ataki enzymów prowadzących biotransformację zolpidemu i jego pochod-

nych. Przeprowadzone badania potwierdzają, iż modele *in vitro* wykorzystujące frakcje wątrobowe są użytecznym narzędziem na etapie badań przedklinicznych nowych związków.

Badania zostały sfinansowane z K/DSC/001415.

Bibliografia:

1. Wong G. Y. et al., „Aust. N. Z. J. Psychiatry”, 2010, 44, 190.
2. Pichard L. et al., „Drug. Metab. Dispos.”, 1995, 23, 1253.

KATARZYNA KUCWAJ-BRYSZ*, DAWID WARSZYCKI**,
GRZEGORZ SATAŁA**, ANDRZEJ J. BOJARSKI**,
JADWIGA HANDZLIK*, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

POSZUKIWANIE SELEKTYWNYCH LIGANDÓW RECEPTORA SEROTONINOWEGO 5-HT7 POŚRÓD AMINOALKILOWYCH POCHODNYCH HYDANTOINY

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk w Krakowie

W literaturze wskazuje się na istotną rolę receptora 5-HT7 w procesach termoregulacji, pamięci i uczenia się, regulacji hormonalnej, a także wpływ na aktywność hipokampu, cykl dobowy oraz mechanizm depresji. Zsyntetyzowane dotychczas ligandy wyżej wymienionego receptora pomimo wysokiego powinowactwa powodują również skutki uboczne ze względu na brak selektywności, która wciąż pozostaje trudnym wyzwaniem pośród receptorów GPCR. Prace w ramach niniejszego projektu pozwoliły na znalezienie selektywnego ligandu receptora 5-HT7 pośród aminoalkilowych pochodnych hydantoin, związku MF-8. Ze względu na to, że był on jedynym związkiem w tej klasie, obecnie prowadzone są modyfikacje w obrębie jego struktury w celu określenia cech strukturalnych odpowiedzialnych za selektywność przy zachowaniu wysokiego powinowactwa do receptora 5-HT7. W ramach modyfikacji otrzymano związki, które wykazują wysoką aktywność ($3 \text{ nm} < K_i < 141 \text{ nm}$) i selektywność (m.in. ok. 70-krotną względem receptora 5-HT1A oraz 240-krotną względem receptora D2). Nowe związki zostały otrzymane w wyniku trójetapowej syntezy: reakcji Bucherera-Berga, Mitsunobu oraz kondensacji z użyciem promieniowania mikrofalowego. Otrzymane wyniki pozwoliły na wstępną analizę zależności pomiędzy strukturą a aktywnością badanych pochodnych. Projekt wsparty jest nowoczesnymi technikami modelowania molekularnego, pozwalającymi na wybór związków do syntezy oraz badania nad oddziaływaniem białko – ligand. Prowadzone prace dają nadzieję na wyselekcjonowanie silnego i selektywnego ligandu receptora 5-HT7, będącego pochodną hydantoiny, gotowego do badań *in vivo*, co może mieć kluczowe znaczenie w leczeniu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego.

Badania zostały częściowo sfinansowane z programu K/ZDS/003323.

KONRAD KULIKOWSKI

BYĆ OPTYMISTĄ CZY NIE BYĆ PESYMIŚCIĄ? ZWIĄZEK OPTYZMU Z SATYSFAKCJĄ Z ŻYCIA W GRUPIE CHORYCH NA RZS I STUDENTÓW

AFILIACJA: Instytut Psychologii, Wydział Filozoficzny, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Dyspozycyjny optymizm wykazuje pozytywny związek z oceną zdrowia i jakością życia (Rasmussen, Scheier, Greenhouse 2009, Popa-Velea, Purcarea 2014). Niewiele uwagi poświęca się jednak różnicom w oddziaływaniu optymizmu na satysfakcję z życia wśród osób chorych i zdrowych.

Cel pracy: W przeprowadzonych badaniach podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób optymizm (LOT-R) wiąże się z satysfakcją z życia (SWLS) w dwóch różnych grupach: chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) oraz zdrowych studentów.

Metodologia: W celu zbadania związku pomiędzy optymizmem a satysfakcją z życia przeprowadzono badania w grupie studentów (N=68) i chorych na RZS (N=39). Założono, że jeśli optymizm miałby immamentny związek z satysfakcją z życia, to podobne relacje powinny być obserwowane zarówno wśród studentów, jak i chorych. Jeżeli optymizm w sytuacji choroby pełniłby specyficzną rolę, wówczas obserwowalne powinny być różnice w zakresie związku optymizmu z satysfakcją z życia pomiędzy zdrowymi studentami a chorymi. Zebrane dane poddano analizie regresji, w której za zmienną zależną przyjęto poziom satysfakcji z życia, a za zmienne wyjaśniające wyniki na skali optymizmu i pesymizmu.

Wyniki i wnioski: Otrzymane rezultaty pokazały, iż będący przedmiotem pomiaru dyspozycyjny optymizm w ujęciu Scheiera i Carvera (1985) nie musi być jednorodnym wymiarem: optymizm – pesymizm. Mogą tworzyć go bowiem dwa odrębne wymiary: pesymizm – brak pesymizmu; optymizm – brak optymizmu. Ponadto, wyniki analizy regresji wskazują, iż w grupie chorych na RZS wyższą satysfakcję z życia prezentują optymiści, podczas gdy w grupie zdrowych studentów wyższą satysfakcją z życia charakteryzują się nie optymiści, lecz ci, którzy nie są pesymistami.

ANNA KUMOREK, JAROSŁAW AMAROWICZ

FRAX W OCENIE RYZYKA ZŁAMAŃ OSTEOPOROTYCZNYCH W ASPEKCIE UPADKÓW

AFILIACJA: Zakład Chorób Kości i Stawów, Instytut Fizjoterapii, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: W 2007 roku WHO opracowało algorytm FRAX oparty na wyliczeniu prawdopodobieństwa ryzyka złamania osteoporotycznego (ZO) głównego i bliższego końca kości udowej w oparciu o kliniczne czynniki ryzyka. Wśród czynników ryzyka nie uwzględniono upadków. Taka decyzja wywołała wiele kontrowersji ze względu na istnienie wielu badań, z których wynika, że upadki są głównym czynnikiem ryzyka złamania kości promieniowej (100%).

Cel pracy: Ocena wpływu upadków na wystąpienie ZO przy zastosowaniu metody FRAX.

Materiał i metody: Przy zastosowaniu FRAX-a opracowano retrospektywne badanie kohortowe. Dane 5092 pacjentek pozyskano z bazy pacjentów KCM. Pacjentki te średnio 2 lata przed pierwszym upadkiem miały wykonane badanie BMD. Warunek pełnej dokumentacji medycznej, obejmującej kwestionariusz ryzyka złamania, spełniło 3350 osób. W tej grupie w latach 2009–2012 przeprowadzono wywiad telefoniczny z 1450 pacjentkami. Kompletny kwestionariusz uzyskano od 1024 pacjentek.

Wyniki: Grupę podzielono na cztery klastry: osób, co do których posiadamy jakąkolwiek informację na temat braku lub wystąpienia upadku, osób upadających w ostatnim roku, osób upadających w ostatnich 5 latach oraz takich, w przypadku których brak jakiejkolwiek informacji o upadkach. Posługując się AUC, zbadano, jak w powyższych klastrach jest przewidywane złamanie OP po wcześniejszej standaryzacji pozostałych czynników ryzyka. W przypadku posiadania jakiejkolwiek informacji o złamaniu AUC wyniosło 0,579, dla upadków w ostatnich 12 miesiącach – 0,399, dla upadków w ostatnich 5 latach – 0,317, przy braku jakiejkolwiek informacji o upadkach – 0,501.

Wnioski: Posiadanie informacji o upadkach wzmacnia kliniczną dokładność oceny prawdopodobieństwa ryzyka FRAX w odniesieniu do grupy bez informacji o upadkach. Grupy upadków w ostatnich 12 miesiącach i ostatnich 5 latach różnią się nieznacznie siłą predykcji.

KAMIL KUŚ*/**, EDYTA MAŚLAK*, AGNIESZKA ZAKRZEWSKA*,
MARIA WALCZAK*/**, STEFAN CHŁOPICKI*/***

OCENA DRÓG ELIMINACJI DWÓCH NOWYCH HEPATOSELEKTYWNYCH NO-DONORÓW

AFILIACJA: * Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wiele stosowanych dzisiaj leków nie wykazuje aktywności biologicznej *per se*, ale metabolizowane są do aktywnych metabolitów wywierających działanie terapeutyczne (tzw. proleki). V-PYRRO/NO oraz V-PROLI/NO są potencjalnymi prolekami, zaprojektowanymi, aby po biotransformacji przez izoenzymy cytochromu P450 uwalniały tlenek azotu w wątrobie.

Celem pracy było wyznaczenie podstawowych parametrów eliminacji całkowitej oraz narządowej (wątrobowej oraz nerkowej) dwóch potencjalnych hepato-selektywnych NO-donorów V-PYRRO/NO oraz V-PROLI/NO w modelach *in vivo* oraz *ex vivo* u myszy szczepu C57BL/6J.

Klirens całkowity oraz biologiczny okres półtrwania V-PYRRO/NO oraz V-PROLI/NO wyznaczono na podstawie zmian ich stężenia w osoczu myszy po jednorazowym, dożylnym podaniu badanych związków. Eliminację nerkową zbadano, mierząc stężenie związków w próbkach moczu. Parametry eliminacji wątrobowej V-PYRRO/NO oraz V-PROLI/NO wyznaczono z wykorzystaniem modelu izolowanej perfundowanej wątroby myszy w warunkach *ex vivo*. Ilościowe oznaczenie stężenia badanych NO-donorów wykonano za pomocą techniki LC/MS/MS. Klirens całkowity V-PROLI/NO wynosił 0,15 mL/min, a jego biologiczny okres półtrwania był równy 20 min, podczas gdy klirens całkowity V-PYRRO/NO był 25-krotnie wyższy (3,8 mL/min), a biologiczny okres półtrwania wynosił tylko 3 min. Współczynnik ekstrakcji wątrobowej dla V-PROLI/NO wynosił 0,028, podczas gdy dla V-PYRRO/NO był równy 0,48. V-PROLI/NO uległ eliminacji z moczem w postaci niezmienionej w 61%, podczas gdy V-PYRRO/NO w 0,037%.

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że V-PYRRO/NO jest metabolizowany i eliminowany na drodze wątrobowej, podczas gdy V-PROLI/NO usuwany jest w większości w postaci niezmienionej przez nerki.

Tym samym tylko VPYRRO/NO ma właściwości hepatoselektywnego proleku, uwalniającego tlenek azotu w wątrobie.

Badania były współfinansowane przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (POIG.01.01.02-00-069/09).

MALGORZATA LASOTA, WALENTYNA BALWIERZ

OCENA WPŁYWU WYBRANYCH INHIBITORÓW RECEPTORA C-KIT NA WZROST I PRZEŻYwalNOŚĆ KOMÓREK OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ

AFILIACJA: Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Ostra białaczka szpikowa (AML) jest chorobą klonalną, w której dochodzi do nadmiernej proliferacji i kumulacji niedojrzałych komórek blastycznych. Występujące w AML zmiany genów kodujących kinazy tyrozynowe prowadzą do pobudzenia proliferacji i zahamowania procesu apoptozy. Receptorowe kinazy tyrozynowe okazały się jednym z najważniejszych celów terapeutycznych i znajdują coraz większe zastosowanie w leczeniu nowotworów, a inhibitory kinaz są aktualnie jednymi z najbardziej zaawansowanych przykładów medycyny spersonalizowanej.

Celem pracy była ocena wpływu wybranych inhibitorów receptora c-KIT, w tym imatinibu, nilotinibu, midostaurinu i dasatinibu na komórki różnych linii AML (CMK, GDM-1, HL-60, Kasumi-1, MV-4-11 i THP-1). Poszczególne linie komórkowe dobrano tak, aby reprezentowały różne typy AML oraz najczęściej występujące w komórkach AML translokacje genetyczne. Kolejne zadania badawcze obejmowały: analizę częstości występowania antygenu CD117 na analizowanych liniach komórkowych, ocenę *in vitro* wpływu badanych inhibitorów na wzrost i przeżywalność komórek nowotworowych oraz wyznaczenie połowicznych dawek cytostatycznych.

Test proliferacji oraz test MTS wykazały, że badane związki w sposób istotny hamują proliferację komórek białaczkowych. Największe działanie cytostatyczne wykazywał midostaurin i dasatinib. Podwójne barwienie z użyciem Hoechstu 33258 oraz jodku propidyny wykazało, że badane inhibitory indukowały głównie proces apoptozy w komórkach AML. Efekt był wyraźnie zależny od dawki i czasu inkubacji. Im wyższe dawki poszczególnych inhibitorów i dłuższy czas inkubacji, tym odsetek komórek apoptotycznych wyraźnie wzrastał. Obserwowany pod mikroskopem fluorescencyjnym efekt cytotoksyczny potwierdzono także metodą cytometrii przepływowej z użyciem aneksyny V i jodku propidyny.

Inhibitory kinazy tyrozynowej receptora c-KIT, takie jak imatinib, nilotinib, midostaurin i dasatinib, stanowią obiecującą grupę nowych substancji leczniczych do zastosowania w terapii celowanej AML.

LIDIA LIBOWICZ-NADOBNY, MARIA NOWAKOWSKA

OTRZYMYWANIE I FUNKCJONALIZACJA POROWATYCH RUSZTOWAŃ 3D ZE ZMINERALIZOWANEGO KOLAGENU

AFILIACJA: Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Kolagen jest głównym białkiem strukturalnym kości. Porowate matryce kolagenowe o określonych właściwościach fizycznych, chemicznych i biologicznych są ciekawym materiałem dla inżynierii tkankowej. Jednak aby rusztowanie takie znalazło zastosowanie w gojeniu ran tkanki kostnej, wskazane jest, by materiał taki został sfunkcjonalizowany. Poddanie matrycy kolagenowej zarówno mineralizacji, jak i funkcjonalizacji bioaktywnym polimerem o właściwościach osteoinduktywnych w znaczący sposób uatrakcyjnią taki biomateriał. Zastosowanie glikozoaminoglikanu (GAG) – siarczanu chondroityny (CS) – zwiększa adhezję, migrację, proliferację oraz różnicowanie komórek.

Celem pracy było otrzymanie materiału składającego się ze zmineralizowanego kolagenu typu I w formie nanowłókien, który naśladuje skład macierzy zewnątrzkomórkowej zdrowej tkanki kostnej. Materiał ten poddano reakcji sieciowania grup aminowych i karboksylowych, używając 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropylu) karboimidu (EDC) i N-hydroksysukcynimidu (NHS) oraz liofilizacji w celu otrzymania porowatego rusztowania. Następnie na powierzchni biomateriału został zimmobilizowany siarczan chondroityny. Proces formowania włókien został zainicjowany jednocześnie z procesem mineralizacji i formowaniem nanohydroksyapatytu (głównego składnika fazy nieorganicznej w tkance kostnej) w stanie przypominającym warunki fizjologiczne. Chemiczna immobilizacja biopolimeru była prowadzona w buforze lub w etanolu celem optymalizacji ilości siarczanu chondroityny połączonego kowalencyjnie z kolagenem. Stężenie przyłączonego polimeru określono, wykorzystując jego reakcje z pochodną błękitu metylenowego. Otrzymane sfunkcjonalizowane rusztowanie poddano badaniom mikroskopowym (mikroskopia optyczna, konfokalna), SEM oraz spektroskopii UV-Vis.

Otrzymano biomateriał, którego przygotowanie opierało się na koncepcji biomimetycznej, a jego skład chemiczny, architektura i morfologia korespondują z elementami konstrukcyjnymi charakterystycznymi dla kości człowieka. Materiał ten dzięki osteokonduktywnym i osteoinduktywnym motywom może tworzyć odpowiednie środowisko dla wzrostu i różnicowania komórek.

KLAUDIA LUSTYK, ALEKSANDRA RAK, KATARZYNA RAŻNY, JACEK SAPA

OCENA POWINOWACTWA DO RECEPTORÓW $\alpha 1$ I $\alpha 2$ -ADRENERGICZNYCH NOWYCH ARYLOSULFONAMIDOWYCH POCHODNYCH METYLOAZETYDYN – POTENCJALNIE UROSELEKTYWNYCH $\alpha 1$ -ADRENOLITYKÓW

AFILIACJA: Pracownia Wstępnych Badań Farmakologicznych, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Przedmiotem badań były nowe arylosulfonamidowe pochodne metyloazetydyny. Związki te w założeniu powinny wykazywać wysokie powinowactwo do receptorów $\alpha 1$ -adrenergicznych, co mogłoby rzutować na ich potencjalne zastosowanie w leczeniu łagodnego rozrostu prostaty.

Cel: Pierwsza faza badań miała na celu ocenę wiązania 12 związków do receptorów $\alpha 1$ i $\alpha 2$ -adrenergicznych (ADN-3947, -3948, -3949, -3950, -3950, -3951, -3952, -3979, -4057, -4083, -4090, -4092, -4093). Na podstawie otrzymanych wyników dokonana będzie selekcja związków do dalszych badań.

Metodologia: Powinowactwo do receptora adrenergicznego typu $\alpha 1$ badano przy użyciu [3H]-prazosyny jako specyficznego liganda. Wiązanie niespecyficzne oznaczano w obecności fentolaminy. Specyficznym ligandem przy badaniu powinowactwa związków do receptora adrenergicznego typu $\alpha 2$ była [3H]-klonidyna, a wiązanie niespecyficzne oznaczano w obecności klonidyny. Wiązanie specyficzne w obu przypadkach określone było jako różnica pomiędzy wiązaniem całkowitym a wiązaniem niespecyficznym.

Wyniki: Na podstawie wyliczonych wartości stałej hamowania K_i najsilniejsze powinowactwo do receptora $\alpha 1$ -adrenergicznego wykazał związek ADN-3951 ($K_i=20,3$ nM). Ponadto wykazał on również około 47-krotnie większą selektywność do receptora $\alpha 1$, o czym świadczyła wyliczona wartość indeksu $K_i \alpha 2/\alpha 1=46,9$. Wartość K_i poniżej 200 nM była obserwowana dla związków: ADN-3947, -3948, -3949, -3950, 3952, -3979, -4090, -4092, -4093.

Wnioski: Większość testowanych związków wypierała znakowaną [3H]-prazosynę i/lub [3H]-klonidynę ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura, przy czym najsilniej do receptora $\alpha 1$ -adrenergicznego wiązał się związek ADN-3951. Na podstawie wstępnych badań radioreceptorowych wytypowano 10 związków do dalszych eksperymentów, mających na celu ocenę ich oddziaływania z receptorem $\alpha 1$ -adrenergicznym (agonista/antagonista), preferencyjności do podtypów receptora $\alpha 1$ oraz wpływu na ciśnienie tętnicze.

AGNIESZKA MACHUL, DIANA MIKOŁAJCZYK, PIOTR B. HECZKO,
MAGDALENA STRUS

AKTYWNOŚĆ METABOLITÓW BAKTERII Z RODZAJU *LACTOBACILLUS* ORAZ ANTYBIOTYKU WOBEC BIOFILMU *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* W ZALEŻNOŚCI OD FAZY JEGO TWORZENIA

AFILIACJA: Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: *Pseudomonas aeruginosa* to jeden z najważniejszych ludzkich patogenów, co wynika z jego wysokiej zjadliwości i odporności na leki przeciwbakteryjne. Bakterie należące do tego gatunku posiadają zdolność do tworzenia trójwymiarowej struktury biofilmu, co ma szczególne znaczenie kliniczne. Tworzenie biofilmu *P.aeruginosa* przebiega w kilku etapach: adhezja do powierzchni jako przejście od formy planktonicznej do osiadłego stylu życia (tzw. biofilm świeży), wzrost z wytworzeniem mikrokolonii biofilmu (tzw. biofilm dojrzały), odrywanie i dyspersja komórek do zasiedlania nowych miejsc. Wstępne badania wykazały, że liczba komórek *P.aeruginosa* w biofilmie świeżym jest zwykle na poziomie od 2 do 4 log CFU/ml, podczas gdy dla biofilmu dojrzałego osiąga poziom 7–9 log CFU/ml.

Cel: Celem pracy było porównanie skuteczności działania metabolitów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* oraz antybiotyku ciprofloksacyny na liczebność populacji *Pseudomonas aeruginosa* w dwóch fazach tworzenia biofilmu, tj. w biofilmie świeżym oraz biofilmie dojrzałym.

Materiały i metody: Szczepy bakteryjne *Pseudomonas aeruginosa*, które wykorzystano w doświadczeniach, pochodzą od pacjentów z ranami przewlekłymi. Wykorzystane metody badawcze obejmowały hodowlę biofilmu w 96-dołkowych płytkach z powierzchnią adherencyjną, określanie liczebności bakterii metodą rozcieńczeń 10-krotnych w celu wyznaczenia CFU/ml. Żywotność bakterii zbadano również przy wykorzystaniu mikroskopii fluorescencyjnej.

Wyniki i wnioski: Przeprowadzone badania wykazały różnice w skuteczności badanych związków w zależności od fazy tworzenia biofilmu. W biofilmie świeżym działanie zarówno metabolitów bakterii probiotycznych, jak i antybiotyku było natychmiastowe, powodując całkowitą redukcję liczebności bakterii. W biofilmie dojrzałym skuteczność badanych związków była wolniejsza, przy czym większą aktywność w odniesieniu do tej fazy tworzenia biofilmu zaobserwowano dla metabolitów bakterii probiotycznych.

JOANNA MACIĄG*, DANIEL NOWAKOWSKI*, ANNA MACIĄG**,
GRZEGORZ OSMENDA***, GRZEGORZ WILK***, TOMASZ MIKOŁAJCZYK***,
RYSZARD NOSALSKI***, AGNIESZKA SAGAN***, TOMASZ GUZIK***,
MARTA CZEŚNIKIEWICZ-GUZIK*

OBECNOŚĆ STOMATOPATII PROTETYCZNEJ W JAMIE USTNEJ A STAN KOMÓREK OBWODOWYCH UKŁADU IMMUNOLOGICZNEGO

AFILIACJA: * Zakład Profilaktyki i Stomatologii Eksperymentalnej, Instytut Stomatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Wojewódzka Przychodnia Stomatologiczna im. dra n. med. Zbigniewa Żaka w Krakowie; *** Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Najnowsze badania pokazują wpływ ogólnoustrojowej aktywacji układu immunologicznego w toku przewlekłych zapaleń na rozwój szeregu chorób ogólnoustrojowych, takich jak miażdżyca, nadciśnienie, nowotwory, cukrzyca, RZS. Jama ustna jest potencjalnym źródłem przewlekłych zapaleń toczących się w przyzębiu lub pod płytą protezy w przypadku pacjentów je użytkujących. Podczas gdy istnieje już szereg prac badających wpływ przewlekłego zapalenia przyzębia na aktywację układu immunologicznego, wpływ stomatopatii protetycznych na ogólnoustrojową aktywację układu immunologicznego wciąż nie jest wyjaśniony.

Celem projektu jest określenie wpływu obecności stanu zapalnego pod płytą protezy – stomatopatii protetycznej – na rozwój ogólnoustrojowego stanu zapalnego. Pacjenci włączeni do grupy badanej użytkowali protezy stomatologiczne i została zdiagnozowana u nich stomatopatia protetyczna na podstawie badania klinicznego i mikrobiologicznego. Do grupy kontrolnej włączani byli pacjenci ze zdrową błoną śluzową jamy ustnej. Analiza obejmowała parametry aktywacji układu odpornościowego określane za pomocą analizy cytometrycznej wyizolowanych z krwi obwodowej limfocytów T oraz monocytów. Do badania włączono 44 osoby (20 z grupy badanej oraz 24 z grupy kontrolnej). Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy grupami w odsetkach limfocytów T, a także ich podstawowych populacji – komórek CD4+ i CD8+. Nie zaobserwowano również różnic pomiędzy grupami w odsetkach limfocytów naiwnych, efektorowych oraz pamięci i komórek posiadających wczesny marker aktywacji, a także monocytów i ich subpopulacji. Zaobserwowano natomiast istotnie niższy odsetek limfocytów CD4+ i CD8+ posiadających marker CD25+ w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. CD25 jest markerem późnej aktywacji, ale jest też obecny na limfocytach regulatorowych, mających działanie immunosupresyjne. Obniżenie ilości komórek regulatorowych może sprzyjać rozwojowi ogólnoustrojowego stanu zapalnego.

KATARZYNA MACIKOWSKA, BARBARA RYBA, JOLANTA PYTKO-POLOŃCZYK

STAN MIKROFLORY DRÓG RODNYCH I JAMY USTNEJ, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM FLORY GRZYBICZEJ, U KOBIET O RÓŻNYM STATUSIE HORMONALNYM

AFILIACJA: Zakład Stomatologii Zintegrowanej, Uniwersytecka Klinika Stomatologiczna, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Status mikrobiologiczny dróg rodnych i jamy ustnej zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym zależy nie tylko od warunków egzogen-nych, ale również endogennych, między innymi takich jak zmiany metaboliczne czy hormonalne.

Cel pracy: Celem pracy jest stwierdzenie, czy zmiana profilu hormonów płciowych, wynikająca z różnych przyczyn, ma wpływ na skład mikroflory pochwy i jamy ustnej, a zwłaszcza na kolonizację tych nabłonków przez grzyby.

Materiał i metody: Badaniem objęto 60 pacjentek (w wieku 18–60 lat). Na podstawie wywiadu pacjentki przydzielano do odpowiednich grup o różnym profilu hormonów. Grupa I obejmowała osoby o fizjologicznym profilu hormonów płciowych, grupa II – kobiety w okresie pomenopauzalnym, które nie stosowały hormonalnej terapii zastępczej (HTZ), grupę III stanowiły kobiety stosujące antykoncepcję hormonalną. Przeprowadzono szczegółowe badanie zewnętrz- i wewnętrzne. Pobierano wymazy z pochwy i błony śluzowej policzka celem wykonania badania mykologicznego.

Wyniki: W grupie I (kobiety zdrowe) nie stwierdzono kolonizacji grzybów zarówno w pochwie, jak i na błonie śluzowej jamy ustnej. Wśród badanych II grupy dwie pacjentki zgłaszały objawy infekcji grzybiczej. W tej grupie pacjentek u 33,3% badanych stwierdzono istnienie grzybów z rodzaju *Candida* zarówno w pochwie, jak i w jamie ustnej. W grupie III (kobiety stosujące doustną antykoncepcję hormonalną) u 79% wyhodowano szczep *Candida albicans*.

Wnioski: Poziom hormonów płciowych wpływa na skład mikroflory zarówno pochwy, jak i jamy ustnej, o czym świadczy między innymi znacznie częściej stwierdzana obecność szczepów *Candida spp.* u pacjentek stosujących doustną antykoncepcję hormonalną.

MARTYNA MACIÓW-GLĄB*/**, SEBASTIAN ROJEK*, KAROL KULA*,
MAŁGORZATA KŁYS*

BADANIA PRODUKTÓW Z RYNKU „DOPALACZY” METODĄ GC-EI-MS WSPOMAGANĄ WŁASNĄ BIBLIOTEKĄ WIDM MAS

AFILIACJA: * Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Pracownia Uzależnień, Zakład Farmakologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk

Sole do kąpieli, odżywki do kwiatów, kadzidła zapachowe to taktyka producentów nowych substancji psychoaktywnych (NPS) na ominięcie prawa w zakresie przeciwdziałania narkomanii i wprowadzenie ich w sposób quasi-legalny do obiegu. W odpowiedzi na rozprzestrzeniający się rynek NPS od jesieni 2010 r. regularnie dokonywane są kontrole tzw. *smat shopów*, w wyniku czego sklepy te zostają czasowo zamknięte. Mimo to problem NPS wciąż jest aktualny.

Celem przeprowadzonych badań było opracowanie metody identyfikacji potencjalnie psychoaktywnych komponentów badanych preparatów w formie tabletek, proszków oraz materiału roślinnego zabezpieczonych na polskim rynku w tzw. *smart shopach* oraz wyznaczenie zmieniających się trendów najczęściej występujących związków w latach 2010–2014.

Identyfikacja wstępnie przygotowanych próbek prowadzona była metodą GC-EI-MS. Zastosowano chromatograf gazowy (GC) 7890A oraz tandemowy spektrometr mas (EI-MS) – 7000 series triple quadrupole firmy Agilent Technologies. Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie kapilarnej HP-5MS-UI (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) przy programowanym gradiencie temperatury. Analiza ok. 1500 zarekwirowanych produktów pozwoliła na określenie trendów najczęściej występujących związków psychoaktywnych, nakreśliła też problemy analityczne z rzetelną identyfikacją oraz potrzebę tworzenia własnej biblioteki widm mas.

Wykazano obecność w badanych produktach pochodnych piperazyny (m.in. BZP, MPMP, TFMP), pochochodnych katynonu (pentedron, 3-MMC, N-etylokatynon, butylon, etylon, metylon, bufedron, flefedron), pochodnych pyrowalelonu (m.in. MDPV, nafyron), syntetycznych kannabinoidów (m.in. AM694, AM2201, JWH019, JWH073, JWH081, JWH122, JWH200, JWH250, UR 144, XLR11).

Nielimitowane źródło, jakim jest internet, wciąż dostarcza tego typu preparaty na polski rynek, a ich skład nieustannie modyfikują producenci. Uświadamia to skalę oraz złożoność problemu, jak również wyzwania stojące przed toksykologią sądową.

Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

MARCIN MAGIEROWSKI*, KATARZYNA JASNOS*,
SŁAWOMIR KWIECIEŃ*, JOHN WALLACE**, TOMASZ BRZozowski*

POCHODNA NAPROKSENU (ATB-346) UWALNIAJĄCA SIARKOWODÓR (H₂S) W PROTEKCJI BŁONY ŚLIZOWEJ ŻOŁĄDKA W EKSPERYMENTALNYM MODELU USZKODZEŃ WRZODOWYCH INDUKOWANYCH STRESEM

AFILIACJA: * Katedra Fizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University, Hamilton, Canada

Wstęp: Naproksen jest powszechnie stosowanym lekiem przeciwzapalnym o mniejszej toksyczności względem układu krążenia niż pozostałe związki z tej grupy. Jego stosowanie wiąże się jednak ze skutkami ubocznymi ze strony przewodu pokarmowego w postaci krwawień i owrzodzeń śluzówki żołądka. Badania przedkliniczne wykazały, że nowo odkryta pochodna naproksenu, uwalniająca H₂S (ATB-346), zmniejsza skutki uboczne występujące po przyjmowaniu formy macierzystej leku. Wpływ ATB-346 na wrzody indukowane eksperymentalnie stresem nie został jednak do tej pory zbadany.

Cel: W badaniu porównano działanie ATB-346, naproksenu oraz celekoksylu (inhibitor COX-2) na powstawanie wrzodowych uszkodzeń błony śluzowej żołądka indukowanych stresem w modelu zwierzęcym.

Metodologia: Szczury rasy Wistar podzielono na grupy, którym podano dożołądkowo: naproksen, ATB-346, celekoksyl. Odrębne grupy zwierząt otrzymały powyższe związki w kombinacji z beta-cyjanoalaniną (BCA), inhibitorem gamma-liazycystationiny (CSE). Następnie zwierzęta zostały poddane ekspozycji na tzw. stres wodny (3,5 godz.). Po farmakologicznym uspianiu przeprowadzono pomiar żołądkowego przepływu krwi (ang. GBF) laseromierzem przepływowym oraz dokonano pomiaru liczby uszkodzeń wrzodowych w błonie śluzowej żołądka metodą planimetryczną. Metodą spektrofotometryczną oznaczono produkcję H₂S w śluzówce żołądka. Ekspresja mRNA dla antyoksydacyjnej dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) została oznaczona metodą RT-PCR.

Wyniki: ATB-346 zahamował powstawanie uszkodzeń wrzodowych indukowanych stresem z jednoczesnym zwiększeniem GBF w porównaniu do grup traktowanych naproksem lub celekoksylem. Efekt ten był skorelowany z podwyższoną ekspresją SOD po podaniu ATB-346. BCA w istotny sposób odwróciła protekcyjne działanie pochodnej naproksenu, czemu towarzyszył spadek GBF oraz produkcji ochronnego H₂S.

Wnioski: ATB-346 jest mniej toksyczny dla śluzówki żołądka niż naproksen/celekoksyb. Pochodna ta działa poprzez zwiększenie aktywności SOD oraz zawartości endogennego H_2S w śluzówce żołądka, co powoduje wzrost GBF i znaczną redukcję liczby uszkodzeń wrzodowych indukowanych stresem.

KATARZYNA MAMICA, JOLANTA BUGAJSKA, KRYSZYNA SZTEFKO

PORÓWNANIE BEZPOŚREDNIEGO OZNACZENIA STĘŻENIA CHOLESTEROLU FRAKCJI LDL (LDL-C) Z WYLICZONYMI STĘŻENIEM LDL-C U DZIECI Z CHOROBYMI NEREK

AFILIACJA: Zakład Biochemii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Prawidłowy pomiar stężenia cholesterolu frakcji LDL metodą bezpośrednią wymaga komutabilności pomiędzy próbką pacjenta a próbką kontrolną i kalibratorami metody. U pacjentów z chorobami nerek występują duże zmiany w składzie matrycy próbki m.in. ze względu na obecność toksyn mocznicowych. Substancje te mogą interferować w oznaczenia LDL-C, co zmniejsza wiarygodność oznaczeń.

Celem pracy było porównanie stężenia LDL-C oznaczonego metodą bezpośrednią i wyliczonego za pomocą wzoru Friedewalda oraz wzoru Cordova w zależności od stężenia kreatyniny i mocznika u dzieci z chorobami nerek.

Analizie poddano 68 próbek pochodzących od dzieci w wieku od 1. miesiąca do 17. roku życia z chorobami nerek, leczonych w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w Krakowie. W próbkach oznaczono stężenie cholesterolu całkowitego (TC), triglicerydów (TG), cholesterolu frakcji HDL (HDL-C), LDL-C metodą bezpośrednią (dLDL-C), kreatyniny oraz mocznika. Oszacowano również stężenie LDL-C ze wzoru Friedewalda (cLDL-C) oraz ze wzoru Cordova (mLDL-C).

Średnia wartość stężenia dLDL -C była istotnie statystycznie niższa w porównaniu do stężenia cLDL ($p < 0,003$). Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy średnimi wartościami dLDL-C i mLDL-C oraz cLDL-C i mLDL-C. Wartość współczynników korelacji pomiędzy dLDL-C a cLDL-C oraz dLDL-C a mLDL-C były porównywalne, odpowiednio ($r = 0,768$; $r = 0,785$, $p < 0,0001$). Zakres dla wartości biasc i biasmc wynosił od -64,5% do 40,8%. Oba zakresy bias zależne są od stężenia dLDL-C, mocznika i kreatyniny. Wykazano ujemną korelację pomiędzy biasc i biasmc a wzrastającymi stężeniami mocznika oraz kreatyniny.

U dzieci z chorobami nerek wysoki bias pomiędzy obliczonym a oszacowanym stężeniem cholesterolu frakcji LDL może wynikać z wysokiego stężenia mocznika i kreatyniny.

DAMIAN MARCHEWKA, ANDRZEJ JARYNOWSKI, ANDRZEJ GRABOWSKI

SYSTEM INFORMATYCZNY REDUKCJI SZPITALNYCH ZAKAŻEŃ (SIRS-Z)

AFILIACJA: Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Pracownia Technik Wirtualnej Rzeczywistości – CIOP Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

Założenia: Zakażenia szpitalne są jednym z najważniejszych problemów polskiej służby zdrowia. Z 4 mln unikalnych pacjentów, którzy trafiają co roku do polskich szpitali, na zakażenia zapada nawet 5–15%. W ramach konkursu NCBiR-u „Innowacje Społeczne” złożyliśmy projekt inteligentnego narzędzia wspierającego pracę szpitalnego epidemiologa.

Cel pracy: Celem projektu jest stworzenie bezpłatnej aplikacji desktopowej (na licencji wolnej i otwartej), wspierającej pracę epidemiologa szpitalnego w obszarze zakażeń szpitalnych (bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych i pasożytniczych). Docelowym przeznaczeniem modeli przez nas rozwijanych jest odtworzenie najbardziej prawdopodobnych ścieżek zakażeń szpitalnych oraz klasyfikacja jednostek do różnych grup ryzyka, czego rezultatem długoterminowym może być zmniejszenie liczby zakażeń szpitalnych. Algorytm działa na podstawie danych z rejestru przyjęć i zwolnień pacjentów z poszczególnych jednostek podrzędnych szpitala (sale, kliniki itp.) oraz rejestru personelu medycznego. Na tymczasowej strukturze sieciowej kontaktów działają modele epidemiologiczne (połączenie na sieci może stanowić drogę przeniesienia patogenu). Dane te są wprowadzone ręcznie przez pracownika szpitala bądź importowane z systemu informatycznego służby zdrowia, a następnie wyniki działania algorytmów zostają zaprezentowane szpitalnemu epidemiologowi w celu interpretacji oraz wykorzystania w kontroli i prewencji.

Wyniki i wnioski: Proponowana aplikacja ma wyjść naprzeciw zmianom społeczno-demograficzno-technologicznym i uzbroić „Innowacyjny Szpital” w nowoczesne, wspierane komputerowo narzędzia epidemiologiczne, bazując na zaawansowanym naukowo modelowaniu matematycznym. Realizacja projektu umożliwi dzięki wykorzystaniu innowacyjnego narzędzia wyeliminowanie powstania części zakażeń szpitalnych poprzez wczesną identyfikację ich źródeł oraz ścieżek. W dobie rozwoju technologii informatycznych wspomaganie tych procesów przez inteligentne systemy komputerowe wyposażone w bazy wiedzy dziedzinowej wydaje się najlepszym rozwiązaniem tego problemu.

MARCIN MARKIEWICZ*/**, JAROSŁAW JUCHA***, JOANNA BERETA***

UZYSKANIE AKTYWNEJ, ROZPUSZCZALNEJ EKTODOMENY MYSIEJ METALOPROTEAZY DYSINTEGRYNOWEJ ADAM17 W SYSTEMIE EKSPRESYJNYM BACULODIRECT™

AFILIACJA: * Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; ** Koło Naukowe Studentów Biotechnologii „Mygen”; *** Zakład Biochemii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Ograniczona proteoliza białek jest procesem powszechnym wśród organizmów żywych, kluczowym z punktu widzenia funkcjonalności komórki i całego organizmu. Jednym z najlepiej poznanych enzymów odpowiedzialnych za złuszczenie ektodomen białek jest sekretaza ADAM17 – metaloproteaza dysintegrynowa, należąca do nadrodziny metaloproteaz cynkowych. W wyniku jej aktywności dochodzi do uwalniania z powierzchni komórek rozpuszczalnych form czynników wzrostu, cytokin prozapalnych i wielu innych białek, mających działanie ogólnoustrojowe. Szeroka specyficzność substratowa ADAM17 implikuje jej udział nie tylko w prawidłowym przebiegu procesów fizjologicznych, lecz także w stanach patologicznych – nasiloną aktywność obserwuje się m.in. w schorzeniach autoimmunologicznych i nowotworach.

Założeniem przedstawionej pracy było uzyskanie w owadzim systemie ekspresyjnym aktywnej proteolitycznie i wydzielanej do pożywki rozpuszczalnej ektodomeny mysiego ADAM17, mającej w dalszej perspektywie posłużyć do selekcji specyficznych inhibitorów tejże sekretazy.

Na matrycy plazmidu zawierającego wklonowaną pełną sekwencję kodującą mysiego ADAM17 namnożono z użyciem PCR wstawkę obejmującą ektodomenę ww. białka. Przeprowadzono klonowanie do plazmidu pcDNA™ 3.1/myc-HisA i namnożono w bakteriach uzyskany konstrukt, co potwierdzono dzięki analizie restrykcyjnej. Następnie uzyskano przejściową ekspresję ektoADAM17 w komórkach HEK293, wykazując obecność prawidłowego, funkcjonalnego białka za pomocą techniki *western blotting* oraz testu aktywności ADAM17. Dalszy etap obejmował wklonowanie wstawki ektoADAM17 do wektora bakulowirusowego i zainfekowanie komórek owadzych linii Sf9. Otrzymana pula zrekombinowanych wirusów o wysokim mianie (10^7 pfu/ml) posłużyła do optymalizacji ekspresji pożądanego białka w owadziej linii komórkowej High-Five™. Uzyskanie właściwej, aktywnej i rozpuszczalnej formy ektoADAM17 potwierdzono z użyciem testu aktywności ADAM17 i barwienia żelu po SDS-PAGE błękitem Coomassie. Za optymalne uznano MOI 2 i czas prowadzenia hodowli po infekcji 72 godz.

PAWEŁ MATUSIK*/**, GRZEGORZ OSMENDA*,
MARTA CZEŚNIKIEWICZ-GUZIĆ***, JOANNA MACIĄG*,
DANIEL NOWAKOWSKI***, GRZEGORZ WILK*,
AGNIESZKA SAGAN*, BARTŁOMIEJ WINCENTY LOSTER***,
TOMASZ MIKOŁAJCZYK*, TOMASZ GRODZICKI**, TOMASZ JAN GUZIĆ*

STAN ZAPALNY JAMY USTNEJ PROWADZI DO AKTYWACJI LIMFOCYTÓW CD8⁺ TC1 I WIĄŻE SIĘ Z NASILENIEM SUBKLINICZNEJ MIAŻDŻYCY

AFILIACJA: * Laboratorium Medycyny Translacyjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Instytut Stomatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Ryzyko miażdżycy jest zwiększone w chorobach zapalnych i stanowi niedoceniany, ale bardzo częsty czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego. Mechanizmy tej zależności pozostają słabo zrozumiane.

Metodologia: Do badania włączono 90 chorych (52F; 38M; w wieku 60 ± 11 lat) z zapaleniem przyzębia ($n=57$), stomatopatią i obecnością protez stomatologicznych +/- infekcją *C.albicans* jamy ustnej ($n=21$) lub z protezami stomatologicznymi bez stomatopatii ($n=12$). Grubość kompleksu intima-media (IMT) mierzono na tętnicach szyjnych wspólnych, natomiast funkcję naczyń oceniono przy pomocy pomiarów rozkurczu tętnicy ramiennej pod wpływem przekrwienia reaktywnego oraz mediowanego tlenkiem azotu (FMD i NMD). Markery limfocytów T krwi obwodowej CD3, CD4, CD8 oraz cytokiny wewnątrzkomórkowe oceniono przy pomocy cytometrii przepływowej.

Wyniki: Średnie wartości IMT oraz FMD wynosiły odpowiednio $0,8 \pm 0,1$ mm i $7,9 \pm 4,4\%$. Błyszki miażdżycowe w tętnicach szyjnych rozpoznano u 33% pacjentów z zapaleniem przyzębia, 43% ze stomatopatią oraz protezą stomatologiczną i u 50% pacjentów kontrolnych. Dysfunkcja śródbłónka naczyniowego była bardziej powszechna i dotyczyła odpowiednio 46%, 52% i 50% osób. Limfocyty CD8⁺ były główną subpopulacją odpowiedzialną za produkcję prozapalnych TNF-alfa i IFN-gamma (odpowiednio: $43,0 \pm 18,6\%$ i $36,7 \pm 17,8\%$). Odsetek limfocytów Tc1 był istotnie skorelowany z średnią wartością IMT (odpowiednio: $r=0,40$; $p<0,001$ i $r=0,34$; $p=0,002$) u pacjentów ze stanem zapalnym jamy ustnej. Zwiększona obecność limfocytów T CD8⁺ była związana z istotnie gorszą funkcją śródbłónka ($r=-0,23$; $p=0,031$). Co interesujące, nie zaobserwowaliśmy związku pomiędzy typowymi limfocytami Th1 lub Th17

CD4+ w relacji do FMD lub IMT (Th17: $r=0,08$; $p=0,47$ i $r=-0,13$; $p=0,22$). Z drugiej strony IL-4+CD4+ (limfocyty Th2) wykazały trend w kierunku mniejszego nasilenia miażdżycy ($r=-0,21$; $p=0,05$).

Wnioski: U pacjentów ze stanem zapalnym jamy ustnej występowanie miażdżycy jest związane ze zwiększoną aktywacją nowej, prozapalnej subpopulacji krążących limfocytów T, CD8+Tc1, produkujących TNF-alfa i IFN-gamma. Leczenie ukierunkowane na szlaki Tc1 może przedstawiać potencjalny cel terapeutyczny miażdżycy.

ANNA MATYS, KAROLINA WITEK, KAROLINA DĘBSKA, JADWIGA HANDZLIK,
KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

WPLYW NOWYCH POCHODNYCH 5-ARYLOHYDANTOINY NA ZWIĘKSZENIE SKUTECZNOŚCI OKSACYLINY W SZCZEPACH *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

AFILIACJA: Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Celem badań była ocena serii pochodnych hydantoiny pod kątem ich aktywności w stosunku do szczepów *Staphylococcus aureus* MRSA HEMSA 5 (lekooporny szczep kliniczny z nadekspresją pomp wyrzutu leków) i *Staphylococcus aureus* ATTC 25923 (szczep referencyjny).

Do badań wybrano związki z jednym lub dwoma podstawnikami aromatycznymi przy węglu C5 hydantoiny ze względu na fakt, że układ aromatyczny w tej pozycji miał pozytywny wpływ na aktywność związków w prowadzonych wcześniej testach mikrobiologicznych. Wybrano związki wykazujące największe prawdopodobieństwo bycia lekiem, tj. takie, które w programie Osiris nie wykazywały właściwości mutagennych, kancerogennych i teratogennych. Badane związki należały do dwóch grup. Były to piperazynowe pochodne 5-fenylo-5-metylohydantoiny (DK1, DK7) oraz piperazynowe pochodne 5,5-difenylohydantoiny o różnej długości łańcucha alifatycznego (BG1, BG6, GG4). Aktywność związków w stężeniach nie większych niż 1/4 ich minimalnych stężeń hamujących wzrost bakterii oceniano, badając wpływ tychże związków na obniżenie minimalnego stężenia hamującego oksacyliny w szczepach *S. aureus*. Najbardziej obiecującym związkiem okazał się związek BG1, który powodował 8-krotne obniżenie MIC oksacyliny w lekoopornym szczepie *S. aureus* MRSA HEMSA 5.

Badania były prowadzone w ramach programu 2013/09/N/NZ7/02085.

JAKUB MAZURKIEWICZ*, MICHAŁ ZAŁUSKI*, KATARZYNA STANUCH*,
TADEUSZ KAR CZ*, CHRISTA MÜLLER**, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

PORÓWNANIE ALKILOAMIDOWYCH POCHODNYCH 1,3-DIAŁKILOPIRYMIDO- I PIRAZYNO[2,1-F]PURYNODIONÓW JAKO LIGANDÓW RECEPTORÓW ADENOZYNOWYCH

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Department of Pharmaceutical Chemistry I, Pharmaceutical Institute, University of Bonn, Germany

Adenozyna jest endogennym ligandem receptorów adenozynowych, wśród których wyróżniamy cztery podtypy: A1, A2A, A2B, A3. Wykazują one różną dystrybucję w tkankach oraz różne właściwości farmakologiczne i biochemiczne. Modułacja aktywności tych receptorów może znaleźć zastosowanie w terapii zaburzeń układu sercowo-naczyniowego, oddechowego, odpornościowego oraz centralnego układu nerwowego.

Od wielu lat prowadzone są badania w celu znalezienia nowych selektywnych ligandów receptorów adenozynowych. Na podstawie wcześniejszych badań zaprojektowano dwie serie amidowych pochodnych anelowanych ksantyn. Każda seria zawierała związki różniące się podstawnikami w pozycji 1 i 3 układu ksantynowego oraz dobudowanym pierścieniem heterocyklicznym.

Zaprojektowane pochodne 1,3-diałkilopirymido- i pirazyno[2,1-f]purynodionów otrzymano przez syntezę układu ksantynowego, dobudowanie pierścienia heterocyklicznego, połączenie z pochodną fenolową, otrzymanie estru oraz wprowadzenie odpowiedniej alikloaminy. Zsyntetyzowane amidowe pochodne tricyklicznych ksantyn poddano badaniom na powinowactwo do receptorów adenozynowych (rA1, rA2A, hA2B, hA3).

Analiza zależności struktura – aktywność wykazała, że związki z pierścieniem pirymidynowym posiadają wyższe powinowactwo do receptorów adenozynowych. Ponadto zaobserwowano, że spośród zsyntetyzowanych związków największe powinowactwo do receptorów A1 ($K_i=104$ nM) oraz A2A ($K_i=276$ nM) posiadały pochodne dipropylowe. Natomiast pochodne dibutyłowe były preferowane dla receptorów A2B ($K_i=215$ nM) oraz A3 ($K_i=363$ nM).

Przeprowadzone badania pozwoliły potwierdzić, że podstawniki w pozycji 1 i 3 oraz rodzaj dobudowanego pierścienia heterocyklicznego mogą wpływać na powinowactwo do receptorów adenozynowych. Związki z pierścieniem pirazynowym posiadały podstawniki metylowe, które mogły znacząco wpłynąć na stopień powinowactwa. Dlatego konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w celu określenia, czy główny wpływ na powinowactwo posiadają podstawniki w pozycji 1 i 3, czy dobudowany pierścień.

Badania przeprowadzono w ramach projektu NCN-DEC-2012/04/M/N24/00219.

DIANA MIKOŁAJCZYK, AGNIESZKA MACHUL,
PIOTR BOGUMIŁ HECZKO, MAGDALENA STRUS

ZWIĘKSZENIE PENETRACJI ANTYBIOTYKU W GŁĄB ZWARTEJ STRUKTURY BIOFILMU TWORZONEGO PRZEZ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

AFILIACJA: Pracownia Ekologii Drobnoustrojów, Katedra Mikrobiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Mimo ciągłego postępu wiedzy w dziedzinie nowych metod leczenia ran przewlekłych, lekarze nadal napotykają duże trudności z szybkim zahamowaniem toczącego się stanu zapalnego wywołanego florą mieszaną. Spowodowane jest to głównie powstawaniem biofilmu bakteryjnego, który poprzez swoją trójwymiarową strukturę uniemożliwia swobodną penetrację w głąb rany zarówno antybiotyków, jak i płynów dezynfekcyjnych.

Cel pracy: Celem pracy było opracowanie nowej metody wykorzystującej działanie enzymów w celu zwiększenia penetracji antybiotyków przez polisacharydową macierz biofilmu.

Materiały i metody: Do badań nad zwiększeniem skuteczności stosowanej antybiotykoterapii w leczeniu ran przewlekłych wykorzystano enzymy lityczne należące do grupy hydrolaz, które wykazują zdolność do hydrolizy wiązań glikozydowych występujących w polocukrach. Wykorzystane metody badawcze obejmowały 24-godziną hodowlę bakteryjną w 96-dołkowych płytkach hodowlanych z powierzchnią adherencyjną w celu wytworzenia biofilmu. Żywotność bakterii zbadano metodą rozcieńczeń 10-krotnych. Pomiar przyrostu biofilmu dokonano poprzez zabarwienie czerwienią Kongo. Odczyty wykonano za pomocą Spektrofotometru Awareness Technology INC przy długości fali 492 nm.

Wyniki: Przeprowadzone badania wykazały zwiększoną skuteczność antybiotyków po zastosowaniu enzymów, które skutecznie zaburzyły fizyczną integralność struktury biofilmu i umożliwiły dalszą penetrację zastosowanym związkom bakteriobójczym.

Wnioski: Literatura przedmiotu wskazuje, iż komórki mikroorganizmów stanowiące część macierzy zewnątrzkomórkowej są 1000 razy bardziej odporne na działanie substancji toksycznych niż bakterie pozostające w zawiesinie. Zastosowanie enzymów prowadzi do przerwania ciągłości trójprzestrzennej struktury

biofilmu i ułatwia penetrację czynników bakteriobójczych, co jest kluczowe w leczeniu ran przewlekłych. Powody te motywują do ciągłego badania procesu powstawania biofilmu oraz do poszukiwania skutecznych preparatów, które zmniejszą szczelność macierzy zewnątrzkomórkowej i dzięki temu zwiększą penetrację antybiotyków.

AGNIESZKA MOOS, AGNIESZKA BOCHEŃSKA,
RENATA WIETECZA-POŚLUSZNY, PAWEŁ KOŚCIELNIAK

ZASTOSOWANIE MANUALNEJ I AUTOMATYCZNEJ WERSJI MIKROEKSTRAKЦИИ NA UPAKOWANYM SORBENCIE (MEPS) DO IZOLACJI LEKÓW Z GRUPY BENZODIAZEPIN Z DWÓCH BIOLOGICZNYCH MATERIAŁÓW ALTERNATYWNYCH

AFILIACJA: Pracownia Chemii Sądowej, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii,
Uniwersytet Jagielloński

Poprawne przygotowanie próbek jest jednym z najważniejszych etapów analizy, zwłaszcza gdy mamy do czynienia ze złożoną matrycą, jaką jest materiał biologiczny. W przypadku takich materiałów alternatywnych jak płyn z jamy ustnej (OF, *oral fluid*) czy płyn łzowy (LF, *lachrymal fluid*) próbki mają bardzo małą objętość, dlatego zastosowanie technik mikroekstrakcji jest wysoce wskazane.

Celem niniejszych badań było zastosowanie ekstrakcji MEPS (*Microextraction by Packed Sorbent*) do izolacji siedmiu leków z grupy benzodiazepin: alprazolamu, klonazepamu, diazepam, estazolamu, lorazepam, lormetazepam oraz tetrazepam z płynu z jamy ustnej i płynu łzowego. Podczas wykonywanych doświadczeń dokonano porównania manualnej wersji ekstrakcji MEPS z wersją automatyczną. Jako wzorce wewnętrzne zastosowano substancje deuterowane. Próbkę aplikowano na sorbent w niewielkich ilościach: 150 μ l – OF i 30 μ l – LF. Analizę przeprowadzono przy użyciu ultrasprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas (UHPLC-MS). Rozdzielanie analitów było prowadzone na kolumnie Hypersil Gold Phenyl (50 x 2,1 mm) termostатовanej w temperaturze 25°C. Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę 0,1% HCOOH w acetonitrylu z buforem mrówczanowym o pH 3,4 (przepływ 0,4 mL/min). Spektrometr mas pracował w następujących warunkach: ciśnienie nebulizera 2,5 bar, przepływ i temperatura gazu suszającego: 5,5 L/min, 200°C. Wykazano, że opracowana procedura analityczna jest dokładna i pozwala na oznaczenie badanych leków z bardzo dobrą precyzją i zadawalającym odzyskiem analitów na niskich poziomach stężeń (ng/mL).

Podziękowania: Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

EDYTA MOŹDŹEN*, LUCYNA ANTKIEWICZ-MICHALUK*,
KRZYSZTOF LEWIŃSKI**

1,2,3,4-TETRAHYDROIZOCHINOLINA – DZIAŁANIE W REZERPINOWYM MODELU DEPRESJI U SZCZURÓW

AFILIACJA: * Zakład Neurochemii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk; ** Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Rezerpina to alkaloid pochodzenia naturalnego, bloker pęcherzykowego transportera monoamin (VMAT2). Wypłukuje on katecholaminy z mózgu i uniemożliwia ich prawidłowe działanie, a u zwierząt wywołuje objawy depresyjne. Rezerpinowy model depresji wydaje się więc idealny do sprawdzenia potencjalnych właściwości przeciwdepresyjnych substancji.

Celem pracy było zbadanie potencjalnych właściwości przeciwdepresyjnych endogennej aminy 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny (TIQ) w teście wymuszonego pływania u szczurów. Ewentualne właściwości psychostymulujące TIQ sprawdzono w teście aktywności lokomotorycznej. Poziomy monoamin: dopaminy (DA), noradrenaliny (NA) i serotoniny (5-HT) oraz szybkości ich metabolizmu wyznaczono metodą HPLC w różnych strukturach mózgu szczura. Obliczono także indeksy hamowania wychwytu zwrotnego monoamin. Rezerpinowy model depresji u szczurów indukowano poprzez 14-dniowe podanie rezerpiny w niskiej dawce (0,2 mg/kg i.p.). Zarówno w badaniach behawioralnych, jak i neurochemicznych stwierdzono prodepresyjny efekt przewlekłego podawania rezerpiny. Zaobserwowano, iż rezerpina wydłuża czas bezruchu w teście wymuszonego pływania (o ok. 30% v. grupa kontrolna) przy jednoczesnym skróceniu czasu pływania oraz hamuje motorykę zwierząt (o ok. 30% v. grupa kontrolna, $P < 0,05$) w teście spontanicznej aktywności lokomotorycznej, dodatkowo obniża stężenie neuroprzekaźników w różnych strukturach mózgu szczura. Dowiedziono, iż TIQ wykazuje działanie przeciwdepresyjne w zastosowanych zwierzęcych modelach depresji i całkowicie odwraca prodepresyjne działanie rezerpiny. Efekty te oparte są głównie na aktywacji układu monoamin i antagonizowaniu działania rezerpiny przez hamowanie zależnego od MAO procesu ich utleniania oraz podwyższeniu ich stężeń w mózgu. Z klinicznego punktu widzenia TIQ może mieć więc korzystne znaczenie jako nowy, bardziej skuteczny lek przeciwdepresyjny.

ALEKSANDRA MROZOWSKA

CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA STOSOWANIE LEKÓW DOSTĘPNYCH BEZ RECEPTY (OTC) PRZEZ DOROSŁYCH MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTWA MAŁOPOLSKIEGO

AFILIACJA: Zakład Pielęgniarstwa Klinicznego, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Leki dostępne bez recepty (OTC) są to leki wydawane bez przepisu lekarza. Z roku na rok zwiększa się odsetek społeczeństwa, który te leki stosuje. Na korzystanie z leków OTC ma wpływ szereg czynników: ich dostępność, potencjalne korzyści, reklama, poziom wiedzy osób je stosujących, doświadczenie, zadowolenie z funkcjonowania systemu ochrony zdrowia, umiejscowienie kontroli zdrowia, poczucie własnej skuteczności, zachowania zdrowotne oraz czynniki socjo-demograficzne.

Cel: Celem badań było poznanie zjawiska i czynników determinujących samodzielne stosowanie leków dostępnych bez recepty przez osoby dorosłe zamieszkujące województwo małopolskie.

Metodologia: Na początku badań zwrócono się do Departamentu Ewidencji Państwowych i Teleinformatyki w Warszawie z prośbą o udostępnienie danych adresowych 1000 osób dorosłych zamieszkujących województwo małopolskie. Grupa badana została wybrana drogą losowania. Ustalono kryteria włączenia (osoba dorosła, mieszkaniec województwa małopolskiego) i wyłączenia z badania (brak zgody). Metodą badawczą, która została wykorzystana do zebrania niezbędnych danych, był sondaż diagnostyczny. W badaniu wykorzystano trzy standaryzowane narzędzia badawcze (Wielowymiarowa Skala Umiejscowienia Kontroli Zdrowia MHLC, Skala Uogólnionej Własnej Skuteczności GSES, Inwentarz Zachowań Zdrowotnych IZZ) oraz samodzielnie skonstruowany kwestionariusz ankiety.

Wyniki: Przeprowadzono badanie wstępne, którym objęto 100 osób. Zwrotność kwestionariuszy wyniosła 36%. Leki dostępne bez recepty stosowane były przez większość badanych – 86,11%. Zauważono wpływ poszczególnych czynników na występowanie tego zjawiska. Zaobserwowano tendencję do stosowania samoleczenia przez osoby z wyższym poczuciem własnej skuteczności, wewnątrzsterowne, a także niezadowolone z systemu opieki zdrowotnej.

Wnioski: Wyniki badań wstępnych potwierdzają zasadność przeprowadzenia dalszych badań, aby uzyskać pełniejszą analizę czynników wpływających na stosowanie leków OTC w obrębie całego województwa małopolskiego.

BEATA MRÓZEK

KONTROLA JAKOŚCI GLUKOMETRÓW WYKORZYSTYWANYCH W SYSTEMACH POINT OF CARE W MAŁOPOLSCE

AFILIACJA: Zakład Biochemii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Glukometry przeznaczone do samokontroli pacjentów często wykorzystywane są w szpitalach, w miejscu opieki nad pacjentem (POCT). Oczekuje się, że będą one podlegać bardziej rygorystycznym zasadom prowadzenia kontroli jakości niż te stosowane w samokontroli pacjentów.

Cel: Analiza instrukcji glukometrów pod kątem sposobu zapewnienia jakości oznaczeń stężenia glukozy w szpitalach oraz ocena stosowania się do nich przez operatorów glukometrów w szpitalach Małopolski.

Materiał i metody: Zanalizowano wytyczne dotyczące prowadzenia QC oznaczeń glukometrycznych zamieszczone w instrukcjach 25 glukometrów dostępnych na polskim rynku. Sposób prowadzenia QC oznaczeń stężenia glukozy na oddziałach szpitalnych oceniono przy pomocy kwestionariusza. Ankietowano 38 szpitali na terenie Małopolski. Otrzymano 34 wypełnione ankiety (89% rozproszonych ankiet). Z ostatecznego zestawienia wykluczono trzy szpitale, w których nie korzystano z glukometrów.

Wyniki: Wszyscy producenci zalecają wykonywanie QC przy pierwszym użyciu aparatu, braku zgodności wyniku ze stanem klinicznym pacjenta lub podejrzeniu nieprawidłowego działania aparatu. W instrukcjach pięciu modeli glukometrów zawarta jest informacja o konieczności wykonywania QC minimum raz w tygodniu. Większość firm zaleca wykonanie QC przy rozpoczęciu nowego opakowania pasków testowych, co przy czterech/pięciu oznaczeniach dziennie wymusza wykonanie QC co 10–12 dni. Wszyscy producenci oferują również płyny kontrolne, dostępne na jednym, dwóch lub trzech poziomach. Wewnętrzna QC – zgodnie z zaleceniami producentów glukometrów – prowadzona jest jedynie w dziesięciu (32,26%) z ankietowanych szpitali. Tylko w czterech kontrola jakości wykonywana jest minimum raz w tygodniu, a dwie jednostki oprócz kontroli wewnętrznej prowadzą także kontrolę zewnętrzną.

Wnioski: Brak jednoznacznych wytycznych prowadzenia kontroli jakości jest jedną z przyczyn niskiej wiarygodności oznaczeń stężenia glukozy na glukometrach.

MICHAŁ NATKANIEC, MICHAŁ PĘDZIWIATR, MICHAŁ KISIELEWSKI,
MATEUSZ RUBINKIEWICZ, MACIEJ STANEK

PRZYPADKOWIAKI NADNERCZY. CZY OPEROWAĆ MAŁE GUZY?

AFILIACJA: II Katedra Chirurgii Ogólnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Przypadkowiaki są grupą hormonalnie nieczynnych guzów nadnerczy wykrywanych podczas przypadkowych badań obrazowych. Aktualna jest dyskusja nad granicznym rozmiarem kwalifikującym do zabiegu operacyjnego i zasadnością operacji przypadkowiaków wielkości poniżej 4 cm.

Cel: Określenie częstości występowania zmian złośliwych lub potencjalnie złośliwych u chorych z hormonalnie nieczynnymi guzami nadnercza o wielkości <4cm w odniesieniu do większych guzów. Ocena związku między rozmiarem guza a wynikami leczenia.

Materiał i metody: Badaniem objęto 132 osoby, u których wykonano laparoskopową adrenalectomię z powodu przypadkowiaka nadnercza. Chorych podzielono na dwie grupy: grupę A (wielkość guza ≤ 40 mm, n=55) oraz grupę B (wielkość guza >40 mm, n=77). Analizowano czas zabiegu, odsetek konwersji, liczbę i charakter powikłań oraz charakter histopatologiczny guza.

Wyniki: Średni czas zabiegu ani utrata krwi nie różniły się statystycznie w obu grupach. Powikłania w grupie A wystąpiły u 3,6% chorych, natomiast w grupie B u 5,2% chorych. Nie stwierdzono statystycznej różnicy pomiędzy grupami. Wynik badań histologicznych w grupie A stwierdzał obecność raka u jednego chorego (1,8%), a u czterech (7,2%) guzy były potencjalnie złośliwe. W grupie B u sześciu (7,8%) chorych wykryto raka, a u czterech (5,2%) nowotwory potencjalnie złośliwe.

Wnioski: Wyniki nie pozwalają odnieść się jednoznacznie do kwestii wskazań do leczenia operacyjnego guzów mniejszych niż 4 cm. Bezpieczeństwo operacji laparoskopowej i niewielkie, ale nie do pominięcia ryzyko nowotworu złośliwego stanowią istotny argument za. Uzyskane wyniki pozwalają też na inną interpretację, dostarczającą argumentów przeciw. Ryzyko złośliwego nowotworu w przypadkowiakach mniejszych niż 4 cm jest niższe (1,8%) niż ryzyko powikłań po laparoskopowej adrenalectomii (3,6%).

KATARZYNA NAZIMEK, KRZYSZTOF BRYNIARSKI

UDZIAŁ MAKROFAGÓW W ANTYGENOWO-SWOISTEJ TOLERANCJI IMMUNOLOGICZNEJ MEDIOWANEJ PRZEZ EGZOSOMY LIMFOCYTÓW T CD8+ SUPRESYJNYCH U MYSZY

AFILIACJA: Katedra Immunologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Reakcja nadwrażliwości kontaktowej (CHS) u myszy może być regulowana przez antygenowo-swoiste egzosomy limfocytów T CD8⁺ supresyjnych transportujące miRNA-150¹, które działają prawdopodobnie poprzez prezentujące antygen makrofagi (Mf).

Celem niniejszych badań było określenie zdolności supresyjnych egzosomów do modulacji funkcji prezentacji antygeny przez Mf w indukcji komórkowej i humoralnej odpowiedzi immunologicznej.

U biorców Mf traktowanych supresyjnymi egzosomami i skarmionych antygenem korpuskularnym zaobserwowano znamienne obniżenie (w teście tworzenia łąsinek hemolitycznych) liczby limfocytów B wydzielających swoiste przeciwciała klasy IgM i IgG oraz zmianę proporcji ich mian oznaczonych testem hemaglutynacji bezpośredniej. Ponadto stwierdzono supresję CHS u biorców Mf traktowanych egzosomami i znakowanych haptenem oraz zahamowanie proliferacji komórek efektorowych CHS w obecności Mf i supresyjnych egzosomów ocenionej jako zdolność komórek do inkorporowania H3-tymidyny. Jednocześnie nie zaobserwowano zmian w aktywności cytokinotwórczej (z oceną stężenia cytokin testem ELISA) oraz w ocenionej cytofluorymetrycznie ekspresji markerów powierzchniowych Mf poddanych działaniu supresyjnych egzosomów. Warto podkreślić, iż supresję przeniesionej reakcji CHS zaobserwowano tylko u biorców izolowanych limfocytów T efektorowych traktowanych supresyjnymi egzosomami w obecności Mf oraz u biorców komórek efektorowych inkubowanych z peletą ultrawieranego nadsącza z hodowli Mf prowadzonej w obecności regulacyjnych egzosomów i antygeny.

Mf poddane działaniu egzosomów limfocytów T CD8⁺ supresyjnych wykazują znacznie obniżoną immunogenność i mediują antygenowo-swoistą supresję komórkowej oraz humoralnej odpowiedzi immunologicznej prawdopodobnie poprzez wydzielanie wtórnych egzosomów. Otrzymane wyniki mogą w przy-

szłości pozwolić na opracowanie nowych, wysoce swoistych strategii terapeutycznych w leczeniu schorzeń związanych z niepożądaną aktywacją zapalną Mf.

Badania finansowano z grantu NCN nr 2013/09/N/NZ6/00753 dla KN.

1. Bryniarski K. et al., „J. Allergy Clin. Immunol.”, 2013,132,170–181.e9.

KATARZYNA NESSLER

WPLYW OBECNOŚCI CUKRZYCY TYPU 2 NA PROFIL STRESU OKSYDACYJNEGO W PODFRAKCJI LIPOPROTEIN HDL U PACJENTÓW Z CHOROBA NIEDOKRWIENNĄ SERCA

AFILIACJA: Zakład Medycyny Rodzinnej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Istnieją różnice w profilu podfrakcji cholesterolu HDL oraz w stężeniach MPO oraz PON-1 u chorych z chorobą niedokrwienną serca (CHNS) w zależności od obecności cukrzycy typu 2 (DM2). Stosowana dieta i aktywność fizyczna wpływa na profil podfrakcji cholesterolu HDL.

Cel badań: 1. Zbadanie istnienia zależności pomiędzy osocзовymi stężeniami podfrakcji cholesterolu HDL a poziomami markerów stanu zapalnego oraz stresu oksydacyjnego u chorych z CHNS w porównaniu do grupy chorych z towarzyszącą DM2. 2. Określenie stężenia MPO i PON-1 w badanych grupach. 3. Ocena wpływu diety i aktywności fizycznej na poziom cholesterolu HDL oraz jego podfrakcji w badanych grupach.

Metodyka: Planowane jest przeprowadzenie badania przekrojowego z grupą kontrolną. Do badania włączonych zostanie 80 pacjentów z CHNS: 40 pacjentów z CHNS i DM2 oraz 40 pacjentów z CHNS bez DM2 dobranych pod względem płci i wieku do grupy badanej – grupa kontrolna.

Wyniki: Zebrane zostaną dane takie jak wiek, płeć, wykształcenie, miejsce zamieszkania, dane dotyczące palenia papierosów, spożywania alkoholu, diety (kwestionariusz QEB), aktywności fizycznej (kwestionariusz SQUASH), stosowanych leków i suplementów diety. Wykonane zostaną pomiary ciśnienia tętniczego oraz antropometryczne. Planuje się oznaczenie: hsCRP, oksydowanego LDL, 8-iso-Prostaglandyny, cholesterolu całkowitego, LDL-cholesterolu, HDL-cholesterolu, triglicerydów, apolipoprotein ApoA-I i ApoA-II, mieloperoksydazy oraz paraoxonazy-1.

Wnioski: Dążenie do uzyskania nowej wiedzy o zaburzeniach lipidowych i ich wpływie na rokowanie u pacjentów z CHNS i DM2 sprawia, iż wydaje się, że w niedalekiej przyszłości niezbędne okaże się poszerzenie panelu badań w zakresie lipidów.

EWA NIEDZIELSKA, LUCYNA POMIERNY-CHAMIOŁO, MAŁGORZATA FILIP

ANALIZA EKSPRESJI TRANSPORTERÓW DLA GLUTAMINIANU: EAAT2 ORAZ XC- ORAZ RECEPTORA JONOTROPOWEGO NMDA U SZCZURÓW O FENOTYPIE PODATNYM NA ROZWÓJ UZALEŻNIENIA ORAZ O FENOTYPIE OPORNYM NA JEGO ROZWÓJ

AFILIACJA: Katedra Toksykologii, Wydział Farmacji, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Uzależnienie od kokainy to poważna choroba ośrodkowego układu nerwowego. Co ciekawe, występuje ona jedynie u ok. 20% osób rozpoczynających nadużywanie tej substancji. Podobnie zróżnicowaną wrażliwość na rozwój uzależnienia w odpowiedzi na narkotyk obserwowano u szczurów. Neuronalne mechanizmy warunkujące występowanie powyższych różnic fenotypowych nie zostały dotychczas poznane. Doniesienia literaturowe ostatnich lat dowodzą, iż wielokrotne podawanie kokainy prowadzi do zmian adaptacyjnych w obrębie układu glutaminianergicznego (m.in. spadek ekspresji EAAT2 i xc- oraz zmiany ekspresji receptorów NMDA), które ułatwiają zachowanie poszukiwawcze i nawrót.

Celem mojej pracy było sprawdzenie, czy u szczurów wykazujących fenotyp uzależnienia poziom EAAT2, xc- oraz NMDA w wybranych strukturach mózgu (kora przedczołowa, prążkowie grzbietowe) będzie różny od grupy osobników wykazujących fenotyp oporny na rozwój uzależnienia mimo podawania narkotyku.

Do wygenerowania zwierząt (n=25) zróżnicowanych pod względem podatności na uzależnienie została użyta procedura warunkowej preferencji miejsca. Szczurom (samce rasy Wistar, m=250–280 g) podawano kokainę w dawce 15 mg/kg. Zwierzęta były dekapitowane bezpośrednio po zakończeniu testu, a ich mózgi zostały zamrożone w temp. -80°C. Do oznaczenia poziomu ekspresji białek została użyta metoda Western blot. Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji oraz testowi *post-hoc* Bonferroniego.

W wyniku przeprowadzonych analiz zaobserwowano znamienne spadki ekspresji EAAT2 w prążkowie grzbietowym u zwierząt wykazujących objawy uzależnienia. Natomiast u zwierząt niepodatnych na uzależnienie zanotowano wzrost ekspresji xc- w korze przedczołowej oraz wzrost ekspresji EAAT2 zarówno

w korze przedczołowej, jak i w prążkowie grzbietowym. Nie zaobserwowano żadnych zmian dotyczących ekspresji receptorów NMDA.

Wstępne wyniki badań wskazują na możliwą rolę transporterów dla glutaminy w powstawaniu wrażliwości i oporności na rozwój uzależnienia.

RYSZARD NOSALSKI*, TOMASZ P. MIKOŁAJCZYK*,
JOANNA MACIĄG*, TOMASZ JAN GUZIK*/**

OKOŁONACZYNIOWY STAN ZAPALNY U SZCZURÓW SPONTANICZNIE ROZWIJAJĄCYCH NADCIŚNIENIE TĘTNICZE

AFILIACJA: * Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Institute of Cardiovascular and Medical Sciences, University of Glasgow

Wstęp: Przewlekły stan zapalny odgrywa kluczową rolę w rozwoju nadciśnienia tętniczego oraz dysfunkcji śródbłonna. Stan zapalny powiązany jest z infiltracją okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej (PVAT) przez komórki układu immunologicznego. Okołonaczyniowy stan zapalny w spontanicznym nadciśnieniu tętniczym ciągle pozostaje nieznany.

Przy użyciu cytometrii przepływowej podjęto próbę scharakteryzowania okołonaczyniowego stanu zapalnego poprzez porównanie 12-miesięcznych szczurów spontanicznie rozwijających nadciśnienie tętnicze (SHR) ze szczurami kontrolnymi (WKY).

Wyniki: Liczba leukocytów (CD45+) infiltrujących PVAT była znacząco większa u szczurów SHR w porównaniu z WKY (3008 ± 306 v. 950 ± 166 kom/mg; $p < 0,01$). Zwiększonej rekrutacji leukocytów nie zaobserwowano w tkance wisceralnej. Wśród leukocytów naciekających PVAT u SHR zaobserwowano ponad 8-krotny wzrost liczby komórek NK (365 ± 42 v. 44 ± 15 kom/mg; $p < 0,01$), 3,5-krotny wzrost makrofagów (1374 ± 215 v. 385 ± 87 kom/mg; $p < 0,01$) oraz 2-krotny wzrost komórek dendrytycznych (234 ± 24 v. 117 ± 27 kom/mg; $p < 0,01$) w porównaniu z WKY. Podobnie liczba limfocytów T infiltrujących PVAT była wyższa u SHR (175 ± 9 v. 120 ± 21 kom/mg; $p < 0,05$). Wśród limfocytów naciekających PVAT u SHR największą zawartość stanowiły limfocyty CD4, które charakteryzowały się zwiększoną ekspresją markerów CD25 ($20,5 \pm 1,5$ v. $8,4 \pm 1,4\%$; $p < 0,01$) oraz CCR5 (14 ± 1 v. $8 \pm 1\%$; $p < 0,01$) w stosunku do komórek CD4+ rezydujących w tłuszczu WKY. Ponadto limfocyty CD4 u SHR wykazywały zwiększoną produkcję IL-17 ($3,1 \pm 0,5$ v. $1,7 \pm 0,2\%$; $p < 0,05$). Szczury SHR charakteryzowały się wyższym ciśnieniem tętniczym krwi w porównaniu z WKY ($213,8 \pm 3,2$ v. $139,3 \pm 1,6$ mmHg; $p < 0,01$) co korespondowało ze zwiększonym stresem oksydacyjnym i dysfunkcją naczyń krwionośnych.

Wnioski: Zwiększona infiltracja PVAT przez komórki układu immunologicznego u SHR może stanowić ważny mechanizm reakcji zapalnych prowadzących do dysfunkcji śródbłonka oraz przyczyniać się do rozwoju spontanicznego nadciśnienia tętniczego.

LUDWIK ODRZYWOŁEK, ANDRZEJ GALBARCZYK, ILONA NENKO,
MAGDALENA KLIMEK, GRAŻYNA JASIEŃSKA

POLIMORFIZM GENU APOLIPOPROTEINY E W WIEJSKIEJ POPULACJI BESKIDU WYSPOWEGO

AFILIACJA: Zakład Zdrowia i Środowiska, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Teorie historii życia ludzkiego wskazują na istnienie kompromisów między reprodukcją a długością życia. Niektóre z tych zależności mogą mieć podłoże genetyczne. Ludzka apolipoproteina E (ApoE) odgrywa istotną rolę w wielu procesach metabolicznych, w tym w transporcie lipidów oraz w ochronie i naprawie neuronów. ApoE jest również powiązana z chorobami wieku starszego, szczególnie z chorobami układu krążenia i chorobą Alzheimera.

Wyróżnia się trzy formy polimorficzne genu apolipoproteiny E (APOE). Nosiciele alleli APOE*3 charakteryzują się wyższym ryzykiem problemów zdrowotnych niż nosiciele APOE*2 lub APOE*4. Nieoczekiwanie do chwili obecnej allele APOE*3 są najbardziej rozpowszechnione we wszystkich populacjach. Tak wysoki odsetek osób będących nosicielami APOE*3 może być wyjaśniony, jak wskazują niektóre z badań, tym, że nosiciele APOE*3 mogą charakteryzować się lepszym stanem zdrowia w młodszym wieku i przede wszystkim wyższą płodnością.

Celem badania jest określenie częstości alleli APOE w populacji z obszaru Beskidu Wyspowego. Przedstawione wyniki zostały zebrane w ramach projektu „Mogielica Human Ecology Study Site” w latach 2011–2012. Do analiz włączono 80 kobiet po 45. roku życia. W celu określenia polimorfizmu genu APOE użyto metody reakcji łańcuchowej polimerazy – PCR.

Częstości alleli w badanej populacji nie różniły się w znaczący sposób od rozkładów w innych populacjach europejskich – APOE*3: 77,5%; APOE*2: 11,25%; APOE*4: 11,25%. Dalszym etapem badań będzie określenie polimorfizmu genu APOE dla osób z kolejnych miejscowości obszaru objętego badaniami oraz analiza różnic w stanie zdrowia i płodności w zależności od posiadanych alleli APOE.

AGNIESZKA OLEJARZ, LINH NGUYEN TUYET, AGATA BANAŚ,
TADEUSZ KARCZ, DARIA STUDNICKA, BEATA MASTEK,
JADWIGA HANDZLIK, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

OCENA DZIAŁANIA MODULUJĄCEGO GLIKOPROTEINĘ P ORAZ AKTYWNOŚCI ANTYPROLIFERACYJNEJ WOBEC KOMÓREK RAKA PROSTATY W GRUPIE NOWYCH AMINOWYCH POCHODNYCH 5-ARYLIDENOIMIDAZOLONU

AFILIACJA: Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Główną przyczyną niepowodzenia chemioterapii nowotworów jest zjawisko wielolekooporności (MDR), w którym jednym z najistotniejszych mechanizmów jest nadekspresja glikoproteiny P (P-gp, ABCB-1), pełniącej rolę zależnej od ATP pompy wyrzutu leków z komórki. Z powodu roli P-gp w MDR poszukiwanie modulatorów P-gp, mogących zahamować wyrzut leków z komórek nowotworowych, stało się celem badań wielu ośrodków naukowych na świecie.

W dotychczas przeprowadzanych badaniach pochodne 5-arylidenimidazolonu wykazywały aktywność hamującą P-gp. Grupa nowych, aminowych pochodnych 5-arylidenimidazolonu została przebadana w celu potwierdzenia aktywności wobec P-gp oraz zbadania aktywności antyproliferacyjnej wobec komórek raka prostaty.

Wpływ związków na P-gp zbadano przy użyciu testu komercyjnego Pgp-Glo™ firmy Promega. Aktywność wobec rekombinowanej ludzkiej P-gp potwierdzono przez pomiar hydrolizy ATP przez P-gp w obecności związków badanych oraz referencyjnych werapamilu i Na₃VO₄ o działaniu odpowiednio hamującym oraz stymulującym aktywność ATP-azową P-gp. Ilość ATP zmierzono w oparciu o technikę luminescencyjną. Właściwości antyproliferacyjne związków wobec linii komórkowej raka prostaty PC-3 zbadano w teście MTS. Eksperyment przeprowadzono po 72 godzinach inkubacji komórek w obecności badanych związków oraz doksorubicyny jako związku referencyjnego.

Badane związki wykazywały niski lub średni wpływ na aktywność ATP-azową P-gp. Najbardziej aktywnym wobec P-gp okazał się: 5-(4-chlorobenzylideno)-2-(3-hydroksypropyloamino)-1H-imidazol-4-on (DS-4). Wykazywał on 74% aktywności referencyjnego werapamilu użytego w tym samym stężeniu. Tylko jeden związek: 5-(2,4-dichloro-benzylideno)-2-(4-(2-hydroksyetylo)piperazyn-

-1-ylo)-1H-imidazol-4-on (BM-20) wykazał znaczny wpływ na proliferację komórek linii PC-3.

Przeprowadzone badania potwierdziły potencjał badanych pochodnych 5-aryli-denoimidazolonu w poszukiwaniu nowych związków o działaniu przeciwnowotworowym. Wyniki badań dostarczyły także cennych informacji dotyczących zależności struktura – aktywność, co pomoże w dalszym racjonalnym projektowaniu struktur o właściwościach modulatorów P-gp.

Badania finansowane były w ramach projektu K/ZDS/004689.

ZUZANNA ORUBA*, KATARZYNA GAWRON**, GRZEGORZ BERETA**,
MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA*

SKUTECZNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNEJ TERAPII FOTODYNAMICZNEJ W ELIMINACJI PERIODONTOPATOGENÓW BYTUJĄCYCH WEWNĄTRZ FIBROBLASTÓW DZIAŚŁOWYCH

AFILIACJA: * Katedra Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, Instytut Stomatologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Mikrobiologii, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Bakterie periodontopatogenne posiadają zdolność adhezji i inwazji do komórek dziąsła gospodarza. Periodontopatogeny zlokalizowane wewnątrzkomórkowo są trudne do eliminacji przy użyciu konwencjonalnych metod leczenia i stanowią rezerwuuar dla re-infekcji oraz ko-infekcji. Przeciwbakteryjna terapia fotodynamiczna (aPDT) może stanowić w tym zakresie obiecujące uzupełnienie terapii periodontologicznej. Światło czerwone wykorzystywane do wzbudzania fotosensybilizatora posiada zdolność stosunkowo głębokiej penetracji tkanek, a roztwór fotosensybilizatora (błękitu toluidyny) przechodzi przez warstwę nabłonka.

Cel: Określenie stopnia fotodynamicznej inaktywacji periodontopatogenów bytujących wewnątrzkomórkowo.

Metody: Pierwotne ludzkie fibroblasty dziąsłowe (PHGF, *primary human gingival fibroblasts*) infekowano szczepem referencyjnym *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (MOI 1:100). Użyto modeli eksperymentalnych: adhezji i inwazji (3 godziny inkubacji po zainfekowaniu komórek) oraz inwazji (po 3 godz. infekcji komórki inkubowano przez 1,5 godz. z gentamycyną, 100 µg/mL). Jako kontrolę przygotowano bakterie w fazie planktonicznej. Fotosensybilizatorem był błękit toluidyny w stężeniach końcowych 0,001 i 0,01 mg/ml. Wykorzystano diodowe źródło światła czerwonego (630 nm) (Fotosan, CMS Dental). Po lizie komórek bakterie posiewano na płytki z pożywką BHI wzbogacone krwią i pozostawiano do wzrostu (7 dni, warunki beztlenowe, 37°C).

Wyniki: Stężenie fotosensybilizatora 0,001 mg/ml pozwoliło na uzyskanie wzrostu bakterii naświetlanych w fazie planktonicznej w zakresie 1,3–2 log₁₀ (zależnie od czasu naświetlania). Dla bakterii z puli wewnątrzkomórkowej odnotowano wzrost w zakresie 5–6 log₁₀.

Wnioski: Bakterie, które zainfekowały fibroblasty dziąsłowe, charakteryzowały się mniejszą podatnością na inaktywację fotodynamiczną niż bakterie w fazie planktonicznej (kontrolne).

Badania wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

MICHAŁ PACIA, SZYMON WOJTYŁA, WOJCIECH MACYK

DETEKCJA REAKTYWNYCH FORM TLENU W AKTYWNYCH FOTOKATALITYCZNIE UKŁADACH HETEROGENICZNYCH O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU MEDYCYNIE

AFILIACJA: Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Fotokatalizatory heterogeniczne, takie jak tlenek tytanu (IV), mogą stanowić dobrą alternatywę dla stosowanych obecnie fotosensybilizatorów homogenicznych w terapii fotodynamicznej (PDT). Wskutek naświetlania światłem o odpowiedniej długości fali dochodzi do wzbudzenia półprzewodnika. Generowane w tym procesie ładunki mogą ulec szeregowi procesów prowadzących do powstania reaktywnych form tlenu (ROS).

Do najważniejszych reaktywnych form tlenu zaliczyć można powstające w wyniku międzyfazowego przeniesienia ładunku rodniki hydroksylowe ($\text{OH}^\cdot$) oraz anionorodniki ponadtlenkowe ($\text{O}_2^{\cdot-}$) lub powstały w procesie przekazania energii tlen singletowy ($^1\text{O}_2$). W celu określenia aktywności fotomateriałów konieczne jest ilościowe oraz jakościowe oznaczenie generowanych ROS. W tym celu wykorzystuje się szereg metod zarówno pośrednich, jak i bezpośrednich. Niestety, stosowalność wielu z nich jest ograniczona do układów homogenicznych.

Do oceny aktywności układu pod kątem generowania rodników zastosowana została metoda specyficznego utleniania kwasu tereftalowego do silnie fluoryzującego kwasu 2-hydroksytereftalowego (oznaczanie $\text{OH}^\cdot$) oraz chemiluminescencja luminolu (oznaczanie $\text{O}_2^{\cdot-}$).

Z kolei oznaczanie tlenu singletowego oparte jest na selektywnym utlenieniu *alfa*-terpinenu. W wyniku addycji $^1\text{O}_2$ (mechanizm Dielsa-Aldera) do pierścienia 1,3-cykloheksadienowego powstaje endonadtlenek (askaridol). Oznaczanie askaridolu wykonuje się przy użyciu techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Innym sposobem detekcji $^1\text{O}_2$ jest pomiar zaniku fosforescencji przy długości fali $\lambda=1275$ nm.

Opisane metody analityczne pozwalają na określenie wpływu modyfikacji powierzchni fotokatalizatorów heterogenicznych na wydajność generowania reaktywnych form tlenu. Dzięki temu możliwe staje się wstępne określenie przydatności takich materiałów w medycynie.

Badania zostały zrealizowane w ramach projektu TEAM „Aktywacja małych cząsteczek w układach fotokatalitycznych” (TEAM/2012-9/4).

DOROTA PAWLICA-GOSIEWSKA*, DANUTA OWCZAREK**,
KATARZYNA GAWLIK*, TOMASZ MACH**, BOGDAN SOLNICA*

OCENA UŻYTECZNOŚCI WYBRANYCH PARAMETRÓW GRANULOCYTARNYCH, JELITOWEGO BIAŁKA WIĄŻĄCEGO WOLNE KWASY TŁUSZCZOWE I-FABP, NEOPTERYNY W DIAGNOSTYCE NIESWOISTYCH ZAPALEŃ JELIT

AFILIACJA: * Zakład Diagnostyki, Katedra Biochemii Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Gastroenterologii i Hepatologii oraz Chorób Zakaźnych, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Celem niniejszej pracy jest ocena przydatności oznaczania wybranych białek uwalnianych z granulocytów, białka I-FABP oraz neopteryny w diagnostyce różnicowej choroby Leśniowskiego-Crohna (CD) oraz Wrzodziejącego Zapalenia Jelita Grubego (CU).

Grupa badana składała się z 27 pacjentów z CD, 33 pacjentów z CU oraz 20 osób zdrowych (CG). Kalprotektyna, laktoferyna, elastaza, I-FABP i neopteryna były oznaczone w osoczu metodą ELISA. Podjęto także próbę stworzenia współczynników z badanych parametrów granulocytarnych do poziomu neutrofili. Badania zostały sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki (DEC-2011/01/N/NZ5/000054).

W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano znamienne podwyższone stężenie ocenianych parametrów granulocytarnych u pacjentów z CD w porównaniu z CG (odpowiednio: kalprotektyna $151,6 \pm 97,8$ v. $69,9 \pm 22,1$, $p < 0,001$; laktoferyna $243,2 \pm 102,0$ v. $129,7 \pm 32,7$, $p < 0,001$, elastaza $64,3 \pm 43,1$ v. $30,1 \pm 7,7$, $p = 0,001$) oraz u pacjentów z CU w porównaniu z CG (odpowiednio: kalprotektyna $149,6 \pm 72,3$ v. $69,9 \pm 22,1$, $p < 0,001$; laktoferyna $242,6 \pm 107,5$ v. $129,7 \pm 32,7$, $p < 0,001$; elastaza $62,0 \pm 30,9$ v. $30,1 \pm 7,7$, $p < 0,001$). W grupie pacjentów z CU zaobserwowano wyższy poziom współczynników z Elastazy i Laktoferyny do poziomu neutrofili niż w CG (odpowiednio: Laktoferyna/NEU $48,6$ ($42,5-70,3$) v. $40,0$ ($32,2-59,2$), $p = 0,0497$; Elastaza/NEU $12,8$ ($10,9-15,9$) v. $9,9$ ($7,4-13,2$), $p = 0,0120$) oraz u pacjentów z CU niż pacjentów z CD (odpowiednio: Laktoferyna/NEU $48,6$ ($42,5-70,3$) v. $43,5$ ($31,7-52,6$), $p = 0,0335$; Elastaza/NEU $12,8$ ($10,9-15,9$) v. $10,3$ ($7,2-13,4$), $p = 0,0497$). Nie zaobserwowano różnic w stężeniu nepteryny oraz białka I-FABP.

Parametry granulocytarne oraz współczynniki z tych parametrów i poziomu neutrofili mogą być pomocne w diagnostyce nieswoistych zapaleń jelit.

SZYMON PIETRUSZKA, MAREK SIERŻĘGA, PIOTR KOŁODZIEJCZYK

ROLA BIOPSJI WĘZŁA CHŁONNEGO WARTOWNICZEGO W PLANOWANIU LECZENIA OPERACYJNEGO RAKA ŻOŁĄDKA

AFILIACJA: I Katedra Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Rak żołądka (RŻ) stanowi 5% wszystkich nowotworów w Polsce. Ze względu na wielokierunkowy spływ chłonki w przypadku RŻ wykorzystanie wyniku biopsji węzła chłonnego wartowniczego (SLNB) pozostaje na etapie prób klinicznych.

Cel: Celem pracy jest określenie wartości klinicznej SLNB u chorych z RŻ w stadium zaawansowania pT1 i pT2 w przewidywaniu przerzutów do innych stacji węzłów chłonnych.

Metodologia: Do badania włączono 56 chorych z RŻ w stadium zaawansowania T1 (15) lub T2 (41) operowanych w latach 2008–2011 w I Katedrze Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej UJ CM w Krakowie. Każdorazowo wyznaczono i pobrano do weryfikacji histopatologicznej węzeł chłonny wartowniczy, który został wytypowany do biopsji metodą barwnikową lub radioizotopową. U każdego chorego zabieg uzupełniono o limfadenektomię w zakresie D2/D3.

Wyniki: Wykonano całkowitą (46) lub częściową (10) resekcję żołądka. W przypadku 11 SLNB stwierdzono przerzuty w badanym węźle wartowniku (2 w gr. T1, 9 węzłów w T2). W gr.T1 z dodatnim wynikiem SLNB (2 osoby) przerzuty w innych węzłach chłonnych stwierdzono u jednego chorego (1/2). W gr.T2 przy dodatnim wyniku SLNB przerzuty w innych węzłach chłonnych stwierdzono u 7 chorych (7/9). W grupie T2 pomimo ujemnego wyniku SLNB w przypadku 6 badanych (6/32 – 19%) stwierdzono przerzuty w innych węzłach. W grupie T1 (ujemny SLNB) nie stwierdzono przerzutów w pozostałych węzłach chłonnych (0/13 – 0%). Czulość i swoistość metody NSBL wyniosły odpowiednio: 57 oraz 93% dla obu grup łącznie (T1: 100%, 93%; T2: 54%, 93%).

Wnioski: Wynik biopsji węzła chłonnego wartownika w przypadku RŻ powinien być brany pod uwagę tylko w przypadku zaawansowania T1. W przypadku nowotworów T2 zaobserwowano wysoki odsetek przerzutów w pozostałych węzłach chłonnych pomimo ujemnego wyniku biopsji.

JOANNA PŁATEK*, KATARZYNA STOLARZ-SKRZYPEK*,
GRZEGORZ KIELBASA*, HALINA MROWIEC**, STANISŁAW WALAS**,
SZCZEPAN ZAPOTOCZNY*, DANUTA CZARNECKA*

ZAOPATRZENIE USTROJU W ŻELAZO A CIŚNIENIE TĘTNICZE W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI OGÓLNEJ

AFILIACJA: * I Klinika Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Naszym celem jest przeanalizowanie, czy istnieje zależność między zaopatrzeniem ustroju w żelazo, miedź i cynk, ocenianymi w oparciu o ich 24-godzinne wydalanie z moczem, a wartościami ciśnienia tętniczego krwi (CTK) zarejestrowanymi za pomocą całodobowego automatycznego monitorowania ciśnienia tętniczego krwi w grupie osób, reprezentującej populację ogólną.

Metody: Badaniem objęto 114 osób rekrutowanych z populacji ogólnej (wiek $47,3 \pm 14,6$ lat, 59 M/55 F). Wykonano całodobowe automatyczne monitorowanie CTK (SpaceLabs 90207). Stężenia żelaza, miedzi i cynku w próbkach dobowej zbiórki moczu zostały oznaczone metodą ICP-MS (spektrometria mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie). Zarządzanie bazami danych i analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą oprogramowania SAS (SAS Institute, Cary, NC) w wersji 9.3.

Wyniki: W badanej grupie u 70 pacjentów występowało nadciśnienie tętnicze (61,4%). Wartości średnie z 24-godzinnego wydalania z moczem wynosiły: żelazo $421,1 \pm 269,1$ [$\mu\text{g/L}$], miedź $12,6 \pm 19,3$ [$\mu\text{g/L}$], cynk $390,0 \pm 329,8$ [$\mu\text{g/L}$]. W analizach standaryzowanych względem wieku, płci, wskaźnika masy ciała, stosowania leków hipotensyjnych, palenia tytoniu i spożywania alkoholu obserwowano dodatnią korelację pomiędzy 24-godzinnym wydalaniem żelaza z moczem i wartościami CTK z całej doby: skurczowe ($\beta \pm \text{SE}$: $0,0094 \pm 0,0034$ mmHg; $p=0,007$), rozkurczowe ($0,0067 \pm 0,0027$; $p=0,016$). Stężenie żelaza w moczu korelowało również pozytywnie z dziennym ($0,0091 \pm 0,0035$; $p=0,01$) i nocnym ($0,0094 \pm 0,0041$; $p=0,02$) skurczowym CTK oraz z dziennym ($0,0064 \pm 0,0028$; $p=0,025$) i nocnym ($0,0067 \pm 0,0032$; $p=0,042$) rozkurczowym CTK.

Wnioski: Dobowe wydalanie żelaza w moczu było dodatnio skorelowane z 24-godzinnymi wartościami ciśnienia tętniczego w grupie osób reprezentującej populację ogólną.

Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

MONIKA POBIEGA, AGNIESZKA CHMIELARCZYK, PIOTR B. HECZKO

MOLEKULARNA CHARAKTERYSTYKA IZOLATÓW *ESCHERICHIA COLI* POCHODZĄCYCH Z ZAKAŻEŃ OD NOWORODKÓW Z MAŁĄ MASĄ URODZENIOWĄ

AFILIACJA: Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Jednym z czynników etiologicznych zakażeń noworodków o małej masie urodzeniowej jest *Escherichia coli*, związana z wysoką śmiertelnością noworodków.

Celem badania była charakterystyka molekularna 90 izolatów *E. coli* pochodzących z zakażeń: dróg oddechowych (50), krwi (24), dróg moczowych (8) i innych (8).

Określono lekowrażliwość i zdolność do produkcji beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum (ESBL), a także obecność genów CTX-M, TEM, SHV. Izolaty zaklasyfikowano do grup filogenetycznych i ustalono, które zaliczają się do typu ST131. Izolaty przebadano pod kątem obecności 15 genów wirulencji. Przeprowadzono typowanie replikonów plazmidowych oraz genomowe (elektroforeza pulsacyjna).

Najwięcej izolatów cechowała oporność na ampicylinę (88,8%), ko-trimoksazol (34,4%) lub aztreonam (33,3%). Fenotypem ESBL-dodatnim cechowało się 25 (27,7%) izolatów, wszystkie posiadały gen CTX-M. Klon ST-131 wykryto w 33 izolatach. Najwięcej izolatów zaliczono do grupy B2 (n=62; 68,9%). Rozkład izolatów z poszczególnych grup był podobny niezależnie od formy zakażenia. Najczęściej wykrywane geny wirulencji to fimH (75%) i fhuA (87,7%). Izolaty pochodzące z krwi częściej charakteryzowały się obecnością genu ibeA (p=0,0109). Izolaty z grupy B2 posiadały średnio więcej czynników wirulencji od pozostałych izolatów (p<0,001), częściej pojawiały się m.in. sfa, fyuA, fhuA (wszystkie p<0,0001). Plazmidy zaklasyfikowano do 12 grup niekompatybilności. Najczęściej wykrywano IncFIB (n=60; 66,6%). Typowanie genomowe nie wykryło epidemii klonalnych.

Rośnie znaczenie *E. coli* jako czynnika etiologicznego zakażeń, szczególnie u noworodków, co wskazuje na konieczność prowadzenia dalszych badań. Duże zagrożenie stanowią szczepy ESBL-dodatnie, należące do klonu ST131, i grupy B2, charakteryzujące się wielolekoopornością i zdolnością do produkcji wielu czynników wirulencji. W badaniu wykazano, że izolaty wielolekooporne należały głównie do klonu ST-131 i były ESBL-dodatnie.

BARTŁOMIEJ POCHWAT*/**, BERNADETA SZEWCZYK**, GABRIEL NOWAK*/**

WPŁYW CHRONICZNEGO PODANIA JONÓW MAGNEZU NA EKSPRESJĘ DEKARBOKSYLAZY KWASU GLUTAMINOWEGO (GAD-67) W KORZE PRZEDCZOŁOWEJ, HIPOKAMPIE I CIELE MIGDAŁOWATYM W ZWIERZĘCYCH MODELACH DEPRESJI

AFILIACJA: * Pracownia Badań Radioreceptorowych, Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Neurobiologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk w Krakowie

Leczenie depresji jest bardzo poważnym wyzwaniem, przed którym stoi współczesna psychiatria. Liczba zachorowań na tę chorobę stale wzrasta. Równocześnie farmakoterapia depresji oparta głównie o leki działające na przekaźnictwo serotoninerгіczne i noradrenergiczne w wielu przypadkach jest nieskuteczna. Jednym z badanych obecnie sposobów leczenia depresji jest stosowanie antagonistów receptora NMDA. Liczne badania przedkliniczne wskazują na skuteczność jonów magnezu w skryningowych testach służących oszacowaniu potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej danej substancji. Ponadto szereg badań klinicznych wskazuje na osłabienie funkcji układu GABA-ergicznego w depresji.

Celem bieżących badań było oznaczenie wpływu jonów magnezu na ekspresję dekarboksylazy kwasu glutaminowego (GAD-67) w modelu usunięcia opuszek węchowych i chronicznego łagodnego stresu, które są jednymi z najlepiej zwalidowanych zwierzęcych modeli depresji. Białko GAD-67 jest odpowiedzialne za biosyntezę kwasu GABA z glutaminianu. Do badania ekspresji białka wybrano hipokamp, ciało migdałowe oraz korę przedczołową. Ekspresję białka oznaczono za pomocą metody *western blotting*.

Operacja usunięcia opuszek węchowych znacząco obniżała ekspresję GAD-67 w korze przedczołowej. Efekt ten był normalizowany przez podanie jonów magnezu. Ponadto, podanie jonów magnezu u zwierząt stresowanych w modelu chronicznego łagodnego stresu podwyższało poziom GAD-67 w korze przedczołowej i ciele migdałowym zwierząt narażonych na bodźce stresowe w stosunku do zwierząt stresowanych otrzymujących sól fizjologiczną. Wyniki opisywanych badań pozwalają przypuszczać, że w przeciwdepresyjny mechanizm jonów magnezu może być zaangażowane wzmoczenie aktywności układu GABA-ergicznego. Powyższe obserwacje są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami, które wskazywały na funkcjonalną zależność jonów magnezu i układu GABA-ergicznego.

EWA PODGÓRSKA*, MARTYNA KRZYKAWSKA-SERDA*, MONIKA RAK*,
JANUSZ DĄBROWSKI**, KATARZYNA JASIŃSKA*, MARTYNA ELAS*,
LUIS G. ARNAU***/***/****, GRAŻYNA STOCHEL**, ZBIGNIEW MADEJA*,
KRYSTYNA URBAŃSKA*

WPŁYW TERAPII FOTODYNAMICZNEJ NA PROLIFERACJĘ I MIGRACJĘ KOMÓREK LUDZKIEGO GRUCZOLAKORAKA PŁUC

AFILIACJA: * Pracownia Radiospektroskopii Nowotworów i Radiobiologii, Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; *** Chemistry Department, University of Coimbra, Portugal; **** Luzitin SA, Coimbra, Portugal

Wstęp: Terapia fotodynamiczna jest formą leczenia nowotworów. Wyróżniamy trzy niezbędne elementy do jej wykonania: światłoczuły związek (PS – ang. *photosensitizer*), światło o odpowiedniej długości fali promieniowania oraz tlen. Po aktywacji PS światłem w obecności tlenu obserwuje się powstanie reaktywnych form tlenu (ROS – ang. *reactive oxygen species*), które bezpośrednio odpowiadają za uszkodzenia powstałe po terapii. Końcowym efektem może być zahamowanie wzrostu nowotworu lub nawet ograniczenie zdolności nowotworów do tworzenia przerzutów.

Cel pracy: Określenie wpływu terapii fotodynamicznej na populację komórek narażonych na subletalny efekt fotodynamiczny.

Materiały i metody: Badania wykonano na komórkach linii A549 ludzkiego gruczolaka płuc. Wyznaczono dwie grupy doświadczalne komórek narażonych na subletalny efekt fotodynamiczny: o 100% przeżywalności (SF100) oraz o 20% przeżywalności komórek (SF20) po 48 godz. od naświetlania. Jako PS użyto pochodnej bakteriochloryny w stężeniach 0,5 i 5 μM i zastosowano dawki światła: 170 i 400 J/cm^2 wyemitowane przez diody LED o $\lambda=760\text{ nm}$. W celu oceny proliferacji komórek po terapii wykonano test proliferacji komórkowej (liczenie komórek oraz test MTT), zbadano zmiany cytoszkieletu poprzez barwienie włókien aktynowych falloidyną znakowaną TRITC. Zmiany w migracji komórek oceniono za pomocą testu rysy oraz monitorowano ruch komórek, używając poklatkowej rejestracji ich trajektorii.

Wnioski: Terapia fotodynamiczna skutecznie ogranicza liczebność i migrację komórek A549 już po 96 godzinach od naświetlania. Grupy traktowane samym światłem lub PS nie różniły się znacznie od grupy kontrolnej, niczym nietrakto-

wanej. Terapia fotodynamiczna może być stosowana jako skuteczna metoda leczenia nowotworów płuc ze względu na jej długoterminowy wpływ na komórki nowotworowe.

Martyna Krzykawska-Serda dziękuje Narodowemu Centrum Nauki za grant (DEC-2011/03/N/N24/02019) oraz WBBiB za grant 1/2013.

ADRIAN PODKOWA

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDRGAWKOWYCH NOWYCH N-BENZYLOAMIDOWYCH POCHODNYCH KWASU GAMMA-HYDROKSYPOLISÓWEGO

AFILIACJA: Zakład Farmakodynamiki, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Kwas gamma-aminopolisowy (GABA) jest najobficiej występującym hamującym neurotransmiterem w ośrodkowym układzie nerwowym ssaków. Sposobem wzmacniania działania GABA jest hamowanie jego wychwytu zwrotnego ze szczeliny synaptycznej, co skutkuje m.in. efektem przeciwdrgawkowym.

Cel pracy: Zbadanie właściwości przeciwdrgawkowych dziewięciu N-benzyloamidowych pochodnych kwasu gamma-hydroksypolisowego, inhibitorów wychwytu zwrotnego GABA (oznaczonych jako GT) w różnych modelach drgawek oraz wpływu na koordynację ruchową u myszy.

Metodologia: W celu określenia właściwości przeciwdrgawkowych badanych związków (podanie dootrzewnowe) przeprowadzono: testy drgawek indukowanych chemicznie (kardiazolem, pilokarpiną), test maksymalnego szoku elektrycznego (MES) i test progu pobudliwości drgawkowej w modelu drgawek indukowanych elektrycznie (MEST). Celem zbadania wpływu na koordynację ruchową myszy wykonano test pręta obrotowego.

Wyniki: W teście drgawek kardiazolowych GT53 (30 mg/kg), GT74 (100 mg/kg) i GT75 (30 mg/kg) redukowały liczbę napadów (odpowiednio o: 91,3%, 60,87% i 86,96%; $p < 0,05$) w odniesieniu do grupy kontrolnej. W teście drgawek pilokarpinowych GT75 (70 mg/kg) o 113% ($p < 0,05$) wydłużał latencję wystąpienia drgawek w porównaniu z grupą kontrolną. W MEST najsilniej działały GT47 i GT53 (100 mg/kg) – wyznaczone wartości CS50 przewyższały odpowiednio o 87,56% i 66,12% wartości CS50 dla grupy kontrolnej. Badane związki nie chroniły przed wystąpieniem drgawek indukowanych elektrycznie w MES. W teście pręta obrotowego nie zaobserwowano upośledzania koordynacji ruchowej u myszy przez badane związki (100 mg/kg).

Wnioski: Badane związki wykazywały działanie przeciwdrgawkowe, silniejsze w przypadku drgawek indukowanych chemicznie niż elektrycznie. Na uwagę zasługują związki GT53, działający silnie przeciwdrgawkowo w teście drgawek

kardiazolowych i MEST, oraz GT75, aktywny w teście drgawek pilokarpinowych (stanowiącym model stanu padaczkowego).

Pracę sfinansowano w ramach grantu Narodowego Centrum Nauki nr DEC-2012/05/B/NZ7/02705.

AGNIESZKA POLCZAK, TOMASZ DZIEDZIC,
ALEKSANDRA KLIMKOWICZ-MROWIEC, JOANNA PERA, AGNIESZKA SŁOWIK

ENDOTOKSEMIA JAKO CZYNNIK RYZYKA I PARAMETR PROGNOSTYCZNY W UDARZE NIEDOKRWIENNYM MÓZGU

AFILIACJA: Zakład Neurogenetyki, Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cel badania: Określenie, czy endotoksemia jest czynnikiem ryzyka i czynnikiem prognostycznym udaru niedokrwiennego mózgu. Robocza hipoteza badawcza zakłada, że subkliniczna endotoksemia może zwiększać ryzyko udaru mózgu i być niekorzystnym czynnikiem prognostycznym.

Metody: Do badania włączono 40 pacjentów z zawałem mózgu (mediana wieku: 74) oraz 30 osób z grupy kontrolnej (mediana wieku: 69). Badanie obejmowało pomiar stężenia LPS, LBP oraz sCD14 w surowicy za pomocą metody immuno-enzymatycznej ELISA, 3-krotnie: w 1., 3. i 5. dobie udaru u pacjentów z zawałem mózgu oraz jednokrotnie w grupie kontrolnej. Stopień deficytu neurologicznego określany był przy pomocy Skali Udarowej NIH, wielkość ogniska niedokrwiennego oceniana była przy pomocy rezonansu magnetycznego z opcją dyfuzji, wykonanego między 3. a 5. dobą udaru.

Wyniki i wnioski: Stężenie LPS w surowicy nie różniło się znacząco pomiędzy badanymi grupami (doba 1.: $0,47 \pm 0,23$, doba 3.: $0,54 \pm 0,22$, doba 5.: $0,55 \pm 0,21$ v. $0,37 \pm 0,21$ EU/ml, $P=0,24$). Stężenie LBP w surowicy było wyższe u pacjentów z udarem niż w grupie kontrolnej (22947 ± 10671 v. 10649 ± 3005 ng/ml, $P<0,01$). Wartości w dobie 3. (26859 ± 12012 ng/ml) i w dobie 5. (26362 ± 13452 ng/ml) były znamienne większe niż w dobie 1. Stężenie sCD14 w surowicy było wyższe u pacjentów z udarem niż w grupie kontrolnej (doba 1.: 1693 ± 592 , doba 3.: 1816 ± 634 , doba 5.: 1778 ± 697 v. 1349 ± 312 ng/ml, $P<0,01$). Stężenia: LBP i sCD14 w dobie 1 są znacząco wyższe u pacjentów z udarem. Wzrost stężenia tych białek może być wynikiem ostrej fazy.

BARTOSZ POMIERNY, WERONIKA KRZYŻANOWSKA,
BOGUSŁAWA BUDZISZEWSKA

ETERY GLIKOLU ETYLENOWEGO - DZIAŁANIE NEUROTOKSYCZNE W BADANIACH *IN VIVO*

AFILIACJA: Zakład Biochemii Toksykologicznej, Katedra Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Etery glikolu etylenowego (EGE) to związki o szerokim zastosowaniu w wielu gałęziach przemysłu. Z EGE mamy do czynienia w wielu sytuacjach każdego dnia. Znane są ich właściwości gonadotoksyczne, hematotoksyczne, jednakże działanie na ośrodkowy układ nerwowy nie było dotychczas tematem badań naukowych. Wiadomo, że związki te przenikają barierę krew – mózg. W mózgu z kolei występują enzymy odpowiedzialne za ich metabolizm. Nasze poprzednie badania *in vitro* jednoznacznie wskazywały, że EGE wykazują działanie cytotoksyczne i proapoptotyczne na komórki ludzkiej neuroblastomy (SH-SY5Y). Podobnie, nasz zespół wykazał wysoką toksyczność produktów metabolizmu EGE – kwasów alkoksycetowych.

Celem naszych obecnych badań jest określenie szczegółowego mechanizmu działania neurotoksycznego EGE. Eksperyment opierał się na określeniu wpływu 4-tygodniowego narażenia na 2-butoksyetanol (BE), 2-fenoksyetanol (FE), oraz 2-etoksyetanol (EE) na całkowitą aktywność antyoksydacyjną, peroksydację lipidów, aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy, peroksydazy glutationowej oraz reduktazy glutationowej w korze czołowej i hipokampie szczura.

Nasze badania wykazały że BE oraz FE redukują całkowitą aktywność antyoksydacyjną, aktywność peroksydazy glutationowej oraz dysmutazy ponadtlenkowej, równocześnie zwiększają poziom peroksydacji lipidów w korze czołowej. W hipokampie stwierdzono, że BE oraz FE zmniejszał całkowitą aktywność antyoksydacyjną. Stwierdzono także, że zwiększona peroksydacja lipidów występowała jedynie u zwierząt po 4-tygoniowym podawaniu BE, a redukcja aktywności peroksydazy glutationowej u zwierząt otrzymujących FE. Uzyskane wyniki mogą być związane z hipotezą, że w korze czołowej poziom peroksydacji lipidów jest zależny od wpływu na enzymy zwalczające stres oksydacyjny. W hipokampie mechanizm uszkodzenia strukturalnego tkanki prawdopodobnie ma inne przyczyny, które obecnie są przedmiotem naszych badań.

KATARZYNA POTASZ, KONRAD KULIKOWSKI

OCENA FUNKCJI POZARUCHOWYCH U PACJENTÓW Z CHOROBA PARKINSONA PODDANYCH OBUSTRONNEJ GŁĘBOKIEJ STYMULACJI JĄDRA NISKOWZGÓRZOWEGO

AFILIACJA: Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Instytut Psychologii, Wydział Filozoficzny, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Głęboka stymulacja jądra niskowzgórzowego (ang. *Deep Brain Stimulation of Subthalamic Nucleus* – DBS STN) jest uznaną metodą leczenia zaburzeń ruchowych w chorobie Parkinsona (ang. *Parkinson's Disease* – PD). Jednak wpływ zabiegu na funkcje pozaruchowe wciąż pozostaje kontrowersyjny. W ostatnich latach obserwuje się zwiększoną liczbę doniesień dotyczących zaburzeń funkcji poznawczych i innych funkcji pozaruchowych obserwowanych po DBS STN (Balaz i wsp. 2008).

Cel pracy: Celem pracy była ocena wpływu DBS STN na funkcje poznawcze oraz senność w ciągu dnia u chorych na PD.

Metodologia: Ocenę przeprowadzono u 6 pacjentów z PD zakwalifikowanych do DBS STN oraz 7 pacjentów z PD, u których wykonano DBS STN. Do oceny funkcji poznawczych wykorzystano Montrealską Skalę Oceny Funkcji Poznawczych (ang. *Montreal Cognitive Assessment* – MoCA), skalę *Frontal Assessment Battery* (FAB), Test Łączenia Punktów A i B, Test Stroopa, ocenę fluencji słownej (kategoria semantyczna: zwierzęta i przedmioty ostre, literowa: K i S). Do oceny senności daytime posłużono się skalą Epworth (*Epworth Sleepiness Scale* – ESS).

Wyniki: Chorzy z DBS STN uzyskali niższe wyniki w zakresie Testu Stroopa, fluencji słownej (kategoria semantyczna i literowa), skali FAB oraz skali senności daytime ESS. Obserwowane różnice nie były istotne statystycznie, ale wskaźnik wielkości efektu Cohena przyjął wartości od 0,5 do 1,5. Może to sugerować, iż obserwowane różnice są istotne klinicznie.

Wnioski: DBS STN może powodować obniżenie w zakresie niektórych aspektów funkcji poznawczych oraz poprawę w zakresie senności daytime. Obserwowane wyniki wymagają dalszych badań z udziałem większej liczby chorych.

BEATA POWROŹNIK*, KAROLINA SŁOCZYŃSKA**, AGNIESZKA GUNIA**,
MALGORZATA MARC*, ANNA WASZKIELEWICZ**, ELŻBIETA PĘKALA*

PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI ANTY/MUTAGENNYCH W GRUPIE POCHODNYCH AMINOALKANOLI PRZY UŻYCIU TESTU AMESA ORAZ MIKROPŁYTKOWEGO TESTU UMUC EASY CS

AFILIACJA: * Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Obowiązkowym postępowaniem przy wprowadzaniu do badań klinicznych nowych substancji o potencjalnym działaniu terapeutycznym jest określenie bezpieczeństwa ich stosowania, zwłaszcza w zakresie właściwości mutagennych i genotoksycznych, które decydują o tym, czy dany związek może być zarejestrowany jako lek, czy nie¹.

Cel pracy: W ramach projektu przeprowadzono badania szacujące właściwości anty/mutagenne oraz oceniono potencjał genotoksyczny dla 12 nowych związków w grupie aroksyetoksyetylopo pochodnych odpowiednich chiralnych i achiralnych aminoalkanoli o zdefiniowanej aktywności przeciwdrgawkowej.

Metodologia: Mutagenne właściwości badanych związków określono krótko-terminowym testem z wykorzystaniem szczepu *Salmonella typhimurium* TA100, który wykorzystuje zdolności bakterii do rewersji mutacji pod wpływem czynników wywołujących mutację powrotną. Jako mutagen wzorcowy w przeprowadzonych badaniach zastosowano N-tleneku-*N*-nitrochinoliny (NQNO). Potencjał genotoksyczny został oznaczony dla wszystkich badanych związków przy użyciu komercyjnego testu UmuC Easy CS, wykorzystującego bakterie *Salmonella typhimurium* TA1535 [pSK1002]. Jeżeli badana substancja powoduje powstanie genotoksycznych obrażeń, geny umuC są indukowane jako część bakteryjnej odpowiedzi SOS.

Wyniki: Wszystkie testowane pochodne aminoalkanoli zarówno w standardowym teście Ames, jak i mikropłytkowym teście UmuC Easy CS były pozbawione właściwości mutagennych, charakteryzowała je natomiast korzystna aktywność chemoprewencyjna (antymutagenna).

Wniosek: Wyniki wskazują na to, że zaproponowana mikroplatkowa wersja testu UmuC Easy CS charakteryzuje się czułością zbliżoną do standardowego testu do wykrywania związków mutagennych – testu Ames. Zastosowanie standardowego testu Ames, jak również jego wersji w formie mikroplatkowej wraz z badaniami farmakologicznymi, umożliwia rzeczywistą ocenę narażenia na substancje mutagenne i cytotoksyczne, a także pozwala na dokładniejsze szacowanie ryzyka zdrowotnego.

1. Słoczyńska K., Powroźnik B., Pękała E., Waszkielewicz A. M., *Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action*, „J. Appl. Genet.”, 2014. In press.

KATARZYNA PRZEJCZOWSKA-POMIERNY, KRZYSZTOF POCIECHA,
AGNIESZKA CIOS, ELŻBIETA WYSKA

WPLYW SPOSOBU POZYSKIWANIA MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO NA WYNIKI POMIARU STĘŻEŃ AMIN KATECHOLOWYCH WE KRWI SZCZURA

AFILIACJA: Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny,
Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Noradrenalina (NA) i adrenalina (A) to jedne z najczęściej oznaczanych endogennych katecholamin w badaniach eksperymentalnych. W literaturze przedstawiono różne sposoby pobierania próbek oraz postępowania z krwią pozyskaną od zwierząt, co może wyjaśniać obserwowane rozbieżności wyników oznaczeń tych związków otrzymanych w podobnych warunkach przez różnych autorów.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu metody postępowania z krwią pozyskaną od szczura na wartości oznaczonych stężeń NA i A.

Szczury, samce rasy Wistar (n=4), poddano dekapitacji w stanie głębokiej narkozy. Krew od każdego osobnika została pobrana na 6 sposobów – pozyskano osocze lub surowicę bez dodatku i z dodatkiem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$. Celem uzyskania surowicy krew wirowano w dwóch punktach czasowych, czyli po 0,5 i 1 godzinie od chwili pobrania. Probówki do momentu wirowania umieszczano na lodzie. Materiał do badań zamrożono w -80°C . Stężenia NA i A oznaczono następnego dnia metodą HPLC z detekcją elektrochemiczną. Ponadto uzyskana w tym eksperymencie surowica została zamrożona w -20°C i -80°C , w celu określenia trwałości amin katecholowych po miesiącu przechowywania.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że procedura postępowania z krwią miała duży wpływ na oznaczone stężenia katecholamin. Najmniejsze stężenia obserwowano w osoczu bez dodatku przeciwutleniacza, a największe w surowicy z dodatkiem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, wirowanej godzinę po pobraniu krwi. Dodatek przeciwutleniacza istotnie wpływał na poziom amin w osoczu oraz zapobiegał ich stratom podczas miesięcznego przechowywania, zwłaszcza w temperaturze -20°C .

Podsumowując, sposób postępowania z materiałem biologicznym istotnie wpływa na uzyskane wyniki oznaczeń amin katecholowych we krwi. Prowadząc badania na szczurach, należy ściśle przestrzegać procedury badań, a próbki przechowywać w temperaturze -80°C .

PAULINA RACHWAŁSKA*, ANNA GĄDEK-MICHAŁSKA*,
ANDRZEJ BUGAJSKI**

WPLYW PODPRZEPONOWEJ WAGOTOMII NA ZMIANY POZIOMU SYNTAZY TLENKU AZOTU W STRUKTURACH MÓZGU ZWIĄZANYCH Z POBUDZENIEM OSI PODWZGÓRZE-PRZYSADKA-NADNERCZA PO OSTRYM STRESIE UNIERUCHOMIENIA

AFILIACJA: * Zakład Fizjologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk w Krakowie; ** Katedra Patofizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Nerw błędny jest ważny w regulacji homeostazy podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej, której nieprawidłowe funkcjonowanie związane jest z zaburzeniami somatycznymi i psychicznymi. W modulacji aktywności osi PPN istotną rolę odgrywa tlenek azotu, będący ważną cząsteczką sygnałową w centralnym układzie nerwowym.

Celem eksperymentów było zbadanie, czy nerw błędny jest zaangażowany w zmiany poziomu neuronalnej (nNOS) i indukowalnej (iNOS) syntazy tlenku azotu w strukturach mózgu związanych z pobudzeniem osi PPN w odpowiedzi na krótkotrwały stres unieruchomienia.

Szczury szczepu Wistar zostały poddane wagotomii podprzeponowej 10 dni przed eksperymentem. Zwierzęta poddano stresowi unieruchomienia w metalowych perforowanych tubach przez 10 minut. Bezpośrednio po zakończeniu unieruchomienia lub 1, 2 i 3 godziny później szczury zdekapitowano i pobierano podwzgórze, hipokamp i korę czołową, w których oznaczano poziom nNOS i iNOS metodą *Western blot*.

U szczurów po wagotomii bazalny poziom nNOS w podwzgórzach i korze czołowej był podwyższony w porównaniu do kontroli rzekomej. Stres unieruchomienia nie wywołał istotnych zmian poziomu tego białka w podwzgórzach, ale spowodował spadek nNOS w korze czołowej u szczurów wagotomizowanych. Wagotomia nie miała wpływu na poziom iNOS w podwzgórzach i korze czołowej, który został obniżony w odpowiedzi na stres unieruchomienia. Unieruchomienie wywołało istotny wzrost poziomu obu izoenzymów NOS w hipokampie, przy czym u szczurów wagotomizowanych nie zaobserwowano wzrostu nNOS, a wzrost poziomu iNOS nastąpił 2 godziny później niż u szczurów kontrolnych.

Wyniki wskazują, że podczas ekspozycji na stres unieruchomienia NO bierze udział w modulowaniu aktywności osi PPN. Podprzeponowa wagotomia wpływa na zmiany poziomu NOS, dlatego układ NO/NOS w strukturach mózgu zaangażowanych w reakcję na stres wydaje się być pod wpływem nerwu błędnego.

MAŁGORZATA RADOŃ-POKRACKA, MAGDALENA NOWAK,
DOMINIKA STETTNER, ANNA OSTACHOWSKA, HUBERT HURAS,
ANNA WÓJTOWICZ-GRZYB

WPLYW SPOSOBU ZAKOŃCZENIA CIĄŻY NA STAN NOWORODKA Z WRODZONĄ WADĄ SERCA

AFILIACJA: Klinika Położnictwa i Perinatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: W Polsce wrodzone wady serca występują u ok. 0,8–1% żywo urodzonych noworodków, stanowiąc drugą co do częstości przyczynę zgonów w tej grupie. Rozpoznanie wady serca w okresie prenatalnym ma szczególne znaczenie w przypadku wad botallozależnych, w których przeżycie dziecka po porodzie zależne jest od utrzymania drożności przewodu tętniczego poprzez włączenie do leczenia prostaglandyn. Prenatalne rozpoznanie wady często wzbudza wśród rodzących strach przed porodem siłami natury i stanem noworodka bezpośrednio po urodzeniu.

Cel pracy: Przeanalizowano zależność pomiędzy punktacją Apgar jako niezależnym markerem stanu zdrowia noworodka w 1. i 10. minucie po narodzinach a sposobem zakończenia ciąży (poród siłami natury v. cięcie cesarskie).

Metodologia: Badaniem objęto grupę 76 kobiet hospitalizowanych w okresie okołoporodowym w Klinice Położnictwa i Perinatologii UJ CM w 2013 roku, u których rozpoznano wadę serca płodu. Do badania włączono 46 pacjentek >37 tyg. ciąży, które rodziły siłami natury (gr. A, n=25) lub których ciąża zakończyła się poprzez cięcie cesarskie ze wskazań elektywnych (gr. B, n=21).

Wyniki: W porównywanych grupach pacjentki nie różniły się pod względem średniego wieku matki oraz średniego wieku ciążowego. Punktacja w skali Apgar po 1. i 10. minucie odpowiednio w gr A i B wyniosła $9,5 \pm 0,9$ v. $9,5 \pm 0,6$ ($p=0,8$) po 1. minucie oraz $9,8 \pm 0,5$ v. $9,8 \pm 0,3$ ($p=0,8$) po 10. minucie.

Wnioski: Sposób zakończenia ciąży powikłanej wadą serca płodu nie wpływa na stan noworodka oceniany w skali Apgar. Potrzebne są dodatkowe badania, aby zwiększyć istotność statystyczną otrzymanych wyników.

ALEKSANDRA RAK, KATARZYNA RAŻNY, KLAUDIA LUSTYK,
VITTORIO CANALE, JACEK SAPA, PAWEŁ ZAJDEL

POSZUKIWANIE NOWYCH UROSELEKTYWNYCH α 1-ADRENOLITYKÓW W GRUPIE ARYLOSULFONAMIDOWYCH POCHODNYCH ARYLOKSYALKILOAMIN

AFILIACJA: Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Antagoniści receptorów α 1-adrenergicznych są najczęściej stosowanymi lekami u chorych z łagodnym rozrostem prostaty (BPH). Obecnie wykorzystywane α 1-adrenolityki charakteryzuje wysoka skuteczność terapeutyczna, jednak w wielu przypadkach prowadzą one do nadmiernego spadku ciśnienia tętniczego krwi. Mając to na uwadze, strategia prowadzonych badań ma celu uzyskanie związków wysoce selektywnych w stosunku do receptorów α 1A/ α 1D-adrenergicznych, działających miejscowo w obrębie układu moczowo-płciowego.

W pierwszej kolejności dla wybranej grupy związków wykonano oznaczenie powinowactwa do receptorów α 1- oraz α 2-adrenergicznych, preferencyjności do podtypów A i B receptorów α 1-adrenergicznych, aktywności hipotensyjnej oraz wpływu na presyjne działanie amin katecholowych. Większość badanych związków wykazała istotne powinowactwo do receptorów α 1-adrenergicznych ($K_i = 19\text{--}130$ nM). Potwierdzeniem ich właściwości antagonistycznych w stosunku do receptora α 1-adrenergicznego było zniesienie presyjnego działania metoksaminy. Podane w zakresie dawek 2–5 mg/kg mc nie zmniejszały istotnie ciśnienia skurczowego i rozkurczowego u normotensyjnego szczura. Z porównania wyliczonych wartości EC_{50} α 1A/ α 1B wynika, że wybrane związki wykazują selektywność do receptora α 1A (w zakresie 1,5–6-krotnie).

Otrzymane wyniki mogą wskazywać, iż badane struktury charakteryzują się uroselektywnością, co może być rezultatem ich preferencyjnego działania w obrębie konkretnych podtypów receptora α 1-adrenergicznego (α 1A/ α 1D). Celem potwierdzenia tej hipotezy będą wykonane badania biofunkcyjne na izolowanych narządach. Potwierdzeniem skuteczności terapeutycznej tych związków będzie ocena parametrów urodynamicznych u szczurów z indukowanym testosteronem przerostem prostaty.

Badania finansowane w ramach projektu NCN 2011/03/B/NZ7/00724.

KATARZYNA RAŻNY, ALEKSANDRA RAK, KLAUDIA LUSTYK,
MAREK BEDNARSKI, JACEK SAPA

ZWIĄZKI O WŁAŚCIWOŚCIACH α 1-ADRENOLITYCZNYCH W EKSPERYMENTALNYCH MODELACH ZWIERZĘCYCH NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

AFILIACJA: Zakład Wstępnych Badań Farmakologicznych, Katedra Farmakodynamiki,
Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Nadciśnienie tętnicze to choroba cywilizacyjna o złożonej etiologii, spowodowana oddziaływaniem czynników genetycznych i środowiskowych. Nieustannie poszukuje się leków, które byłyby pozbawione działań niepożądanych i skutecznie obniżałyby jego wartości. Od współczesnego leku hipotensyjnego wymaga się nie tylko typowej obojętności metabolicznej, ale również dodatkowo właściwości plejotropowych, szczególnie korygowania profilu lipidowo-węglowodanowego oraz przywracania funkcji uszkodzonego chorobą śródbłónka. Stąd tematem podjętych przeze mnie badań jest ocena nowych α 1-adrenolityków o właściwościach hipotensyjnych w aspekcie ich działania po podawaniu przewlekłym i dodatkowych właściwości metabolicznych oraz śródbłonkowych. Badania te wymagają eksperymentalnych modeli zwierzęcych nadciśnienia tętniczego. Sukcesywne wyznaczanie modeli nadciśnienia pozwala na testowanie skuteczności leków hipotensyjnych oraz ocenę stanu narządów narażonych na przewlekłe działanie nadciśnienia.

Badania przeprowadzono na szczurach szczepu Wistar, samcach o masie ciała 180–380 g. W eksperymencie nadciśnienie tętnicze indukowanego wg modelu: 20% NaCl, DEX, DOCA-salt, fruktozowego. U zwierząt prowadzono pomiary ciśnienia za pomocą aparatu do nieinwazyjnego pomiaru ciśnienia krwi u gryzoni LE 5007 Panlab Harvard Apparatus. Oznaczenie wpływu nadciśnienia i związków na śródbłonek wyizolowanej aorty wykonano na aparaturze przeznaczonej do badań narządów izolowanych IOBS 99. Wyniki opracowano na podstawie jednoczynnikowej analizy wariancji – ANOVA, poszerzonej o procedurę porównań wielokrotnych, według testu Dunnetta. W każdym z modeli wyindukowano znamienne statystycznie wzrost ciśnienia tętniczego. Poszczególne modele różniły się osiąganym maksymalnym średnim ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym krwi (mmHg) oraz czasem trwania potrzebnym do wyindukowania nadciśnienia. W modelu DEX uzyskano zaburzenia funkcji śródbłónka charakterystyczne dla przewlekłego nadciśnienia tętniczego. Przebadane dotychczas związki nowych α 1-adrenolityków nie poprawiały w znaczący sposób funkcji uszkodzonego śródbłónka, natomiast miały korzystny wpływ na parametry profilu węglowodanowo-lipidowego.

TOMASZ RODACKI*, PAWEŁ ZAGRODZKI**

ANALIZA ZNAJOMOŚCI ZAGADNIEŃ DOPINGU METABOLICZNEGO WŚRÓD FARMACEUTÓW

AFILIACJA: * Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Fizykochemii Jądrowej, Instytut Fizyki Jądrowej, Polska Akademia Nauk w Krakowie

Założenia: Problem stosowania środków dopingujących dotyczy zawodowych sportowców oraz amatorów. Wśród ludzi młodych ich użytkownicy stanowią 1–12% populacji. Pośród uczęszczających na siłownię odsetek ten wynosi 3–31%. Osoby niebędące profesjonalnymi sportowcami stanowią ponad 3/4 konsumentów sterydów anabolicznych. Kodeks Etyki Aptekarza z 2006 r. nałożył na farmaceutów obowiązek walki z patologią, jaką jest doping. Wiedza dotycząca tego zjawiska wydaje się istotna w jego wypełnianiu. Sprawdzenia wymaga, czy istnieje motywacja do zdobywania tej wiedzy i możliwość jej wykorzystywania w codziennej pracy w aptece.

Cel pracy: Zbadanie poziomu wiedzy i poglądów na temat dopingu wśród farmaceutów oraz ocena zapotrzebowania na zwiększanie wiedzy w tym zakresie.

Materiał i metody: Przeprowadzono badania ankietowe wśród 170 farmaceutów, posługując się kwestionariuszem autorskim. Średnia wieku respondentów wynosiła 41 lat. Pytania dotyczyły wiedzy i poglądów na temat środków zwiększających sprawność fizyczną. Poruszano zagadnienia przeciwdziałania dopingowi i możliwości udziału w nich farmaceutów. Uzyskane dane poddano analizie statystycznej.

Analiza wyników: 6,47% badanych brało wcześniej udział w szkoleniu dotyczącym środków dopingujących. 91,8% respondentów uważa, że farmaceuci powinni brać udział w przeciwdziałaniu dopingowi. 41,76% ankietowanych zetknęło się z problemem dopingu. 31,76% farmaceutów uważa, że ich wiedza na temat dopingu jest zdecydowanie niewystarczająca. 4,71% uznaje znajomość tego tematu za dostateczną.

Wnioski: Farmaceuci podczas swojej pracy mają do czynienia z problemem dopingu. Niewielu z nich brało udział w dodatkowych szkoleniach w tym zakresie. Większość respondentów uważa, iż powinna brać udział w działalności antydopingowej. Zaledwie co 20 ankietowany uznaje swoją wiedzę w tym temacie za wystarczającą. Wyniki analiz wielowymiarowych oraz szczegółowe wnioski będą przedstawione podczas konferencji.

BARTŁOMIEJ ROSPOND, MAŁGORZATA FILIP

OCENA POZIOMU LEPTYNY W ZWIERZĘCYM MODELU KOMPULSYWNEGO OBJADANIA SIĘ

AFILIACJA: Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Leptyna jest białkowym hormonem produkowanym przez białą tkankę tłuszczową. Częsteczka ta wywołuje swoje działanie biologiczne, takie jak spadek łaknienia, pobudzenie układu współczulnego, za pośrednictwem specyficznych receptorów (LEPRb) zlokalizowanych w podwzgórzu. Pobudzenie wymienionych receptorów prowadzi również do spadku aktywności układu nagrody.

Celem pracy było określenie poziomu leptyny w zwierzęcym modelu kompulsywnego objadania (*binge eating*). Szczury, samce rasy Wistar o początkowej wadze (300 ± 20 g), trzymano w osobnych klatkach, w temperaturze pokojowej 22°C i przy wilgotności 40–50% przy odwróconym cyklu 12 godz. dzień-noc. Zwierzęta podzielono na cztery grupy w zależności od 5-tygodniowej ekspozycji na pokarm: (I) kontrola (standardowa dieta), (II) stały dostęp do diety wysokocukrowej/tłuszczowej, (III) codzienny 2-godzinny (8.00–10.00 rano) dostęp do diety o wysokiej zawartości tłuszczu/cukru, (IV) 2-godzinny (8.00–10.00 rano) dostęp do diety wysokotłuszczowej/cukrowej co 2 dni. Poziom leptyny oceniano przy użyciu kitu ELISA (Milipore TM). Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano przy użyciu statystyki *one-way ANOVA* z testem *post hoc* Tukeya.

Uzyskane wyniki wykazały znamienne statystycznie spadek poziomu leptyny ($F(3,28)=9,186$; $p<0,001$) w grupie zwierząt przyjmujących paszę wysokocukrową co 2 dni przez 2-godziny dziennie. Natomiast długotrwała ekspozycja na paszę wysokotłuszczową nie zmieniała stężenia leptyny we krwi. Spadek poziomu leptyny może świadczyć o zwiększeniu aktywności układu nagrody i wzmoczonej chęci pobierania pokarmu w tej grupie zwierząt, choć taka konkluzja wymaga dalszych badań korelacyjnych nad aktywnością układu nagrody.

MATEUSZ RUBINKIEWICZ, MICHAŁ KISIELEWSKI, MACIEJ STANEK,
MICHAŁ NATKANIEC

OCENA PRZYDATNOŚCI PRZEDOPERACYJNEGO STENTOWANIA PRZEWODU TRZUSTKOWEGO U PACJENTÓW PODDAWANYCH LAPAROSKOPOWYM OPERACJOM TRZUSTKI – DOŚWIADCZENIA WSTĘPNE

AFILIACJA: II Katedra Chirurgii Ogólnej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Techniki minimalnie inwazyjne znajdują coraz większe zastosowanie w operacjach przeprowadzanych na trzustce. W porównaniu do techniki klasycznej zabieg laparoskopowy cechuje się szybszym powrotem pacjenta do zdrowia oraz mniejszą liczbą powikłań pooperacyjnych. Niemniej jednak jednym z najcięższych powikłań, niezależnie od zastosowanej techniki, jest przetoka trzustkowa. Wśród metod uniknięcia tego powikłania wymienia się przedoperacyjne stentowanie przewodu trzustkowego, co pozwala na swobodny spływ soku trzustkowego, zmniejszając tym samym ciśnienie w przewodach trzustkowych.

Cel: Celem badania jest ocena przydatności przedoperacyjnego stentowania przewodu trzustkowego w zapobieganiu wystąpienia przetoki trzustkowej w przebiegu pooperacyjnym u chorych poddawanych laparoskopowym resekcjom trzustki.

Materiał i metody: 15 chorych zostało prospektywnie zakwalifikowanych do badania. Każdy z pacjentów przed zabiegiem został zakwalifikowany do Endoskopowej Choleangiopankreatografii Wstecznej z protezowaniem przewodu trzustkowego. Następnie chorzy byli poddawani laparoskopowym resekcjom trzustki. Wszyscy pacjenci byli monitorowani pod kątem wystąpienia przetoki trzustkowej. Proteza z przewodu trzustkowego była usuwana 6–8 tygodni po operacji.

Wyniki: 14 chorych pomyślnie przeszło zabieg umieszczenia protezy w przewodzie trzustkowym. Jeden przypadek zakończył się niepowodzeniem z powodu bardzo krętego przebiegu przewodu Wirsunga. Chory dodatkowo rozwinął ostre zapalenie trzustki o ciężkim przebiegu, co spowodowało odroczenie terminu zabiegu. Wykonano łącznie 9 dystalnych pankreatektomii, 3 pankreatoduodenektomie, 2 wyluszczenia guzów głowy trzustki oraz jedną centralną pankre-

atektomię. Średni czas zabiegu wyniósł 239 minut ($90\text{--}540 \pm 138$). Jedna konwersja do zabiegu klasycznego była konieczna podczas pandreatoduodenektomii. W żadnym przypadku nie zaobserwowano powikłania o typie przetoki trzustkowej.

Wnioski: Przedoperacyjne stentowanie przewodu trzustkowego jest skuteczną metodą na uniknięcie przetoki trzustkowej w przebiegu pooperacyjnym.

SABINA RYBKA*, BEATA WIKLIK*, JOLANTA OBNISKA*,
ANNA RAPACZ**

SYNTEZA I BADANIE AKTYWNOŚCI PRZECIWDRGAWKOWEJ NOWYCH N-ZASAD MANNICHA POCHODNYCH 3-BENZHYDRYLOPIROLIDYNO-2,5-DIONU

AFILIACJA: * Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W Katedrze Chemii Farmaceutycznej CM UJ od lat prowadzone są szerokie badania chemiczno-farmakologiczne w grupie pochodnych 1,3-podstawionego pirolidyno-2,5-dionu. Zaowocowało to otrzymaniem licznych aktywnych przeciwdrgawkowo serii związków. Wśród tego typu pochodnych wysoką aktywnością charakteryzowały się te, które w położeniu-3 pirolidyno-2,5-dionu zawierały dwa pierścienie fenyłowe, natomiast przy atomie azotu imidowego 4-arylopiperazynę połączoną z nim grupą metylenową. Wyznaczone wartości ED₅₀ dla tego typu związków są porównywalne do ED₅₀ znanych leków przeciwpadaczkowych¹.

Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, postanowiono kontynuować badania w tej grupie pochodnych, prowadząc kolejne modyfikacje strukturalne. Wszystkie otrzymane poprzednio przez nas połączenia zawierające grupę fenyłową w położeniu-3 pirolidyno-2,5-dionu były bezpośrednio do niego przyłączone. Postanowiono sprawdzić, jaki wpływ na aktywność przeciwdrgawkową będzie miało wprowadzenie grupy metinowej pomiędzy dwa pierścienie aromatyczne a układ imidowy.

Synteza przedstawionej nowej serii N-zasad Mannicha była prowadzona kilku-etapowo. W pierwszym etapie zsyntetyzowano kwas 2-benzhydrylobursztynowy, stanowiący substrat do dalszej syntezy. W kolejnym etapie w wyniku reakcji cyklokondensacji otrzymano imid tego kwasu. Finalne produkty zsyntetyzowano w reakcji aminometylowania odpowiedniego imidu przy udziale formaldehydu, stosując jako komponentę zasadową 4-arylopiperazynę. Struktury otrzymanych połączeń potwierdzono analizą elementarną oraz badaniem widma ¹H-NMR, natomiast czystość i jednorodność przy użyciu chromatografii cienkowarstwowej (TLC) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Wstępne wyniki badań farmakologicznych zostały wykonane w Katedrze Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego CM UJ. Badania te wykazały, że odsunięcie o grupę metinową dwóch pierścieni fenyłowych w położeniu-3 pirolidyno-2,5-dionu powoduje zmniejszenie liczby aktywnych związków w badanej serii w porównaniu z wcześniej otrzymanymi pochodnymi.

1. Obniska J., Chlebek I., Kamiński K., Karolak-Wojciechowska J., „Arch. Pharm. Chem. Life Sci.”, 2013, 346, 71–82.

RADOSŁAW RYCHLAK, MAGDALENA WILCZYŃSKA,
PAWEŁ ROSTOFF, JADWIGA NESSLER

ŚREDNIA OBJĘTOŚĆ PŁYTKI KRWI (MPV) KORELUJE Z MAKSYMALNYM STĘŻENIEM TROPONINY I, AKTYWNOŚCIĄ KINAZY KREATYNOWEJ I JEJ FRAKCJI SERCOWEJ U CHORYCH Z OSTRYM ZAWAŁEM SERCA Z UNIESIENIEM ODCINKA ST (STEMI) LECZONYCH PIERWOTNĄ ANGIOPLASTYKĄ WIĘNCOWĄ

AFILIACJA: Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Oddział Kliniczny Choroby Wieńcowej i Niewydolności Serca, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Wstęp: Stężenie cTn w 3–4. dobie AMI odzwierciedla masę uszkodzonego miokardium. Wartości MPV są istotnie podwyższone u chorych z AMI. Niewiele jest prac oceniających związek między MPV a markerami nekrotycznymi u chorych z STEMI leczonych pPCI.

Cel: Ocena zależności między MPV a stężeniem cTnI oraz aktywnością CK i CK-MB u chorych z STEMI leczonych pPCI.

Materiał i metody: Włączono 348 kolejnych chorych z STEMI w wieku 33–89 lat (średnio $63,9 \pm 11,5$ lat), w tym 123 (35,3%) kobiety. Na podstawie wyznaczonych przedziałów tercylowych MPV wyodrębniono trzy grupy: I – $n=116$, w śr. wieku $64,7 \pm 11,7$ lat; II – $n=116$, w śr. wieku $63,2 \pm 10,9$ lat i III – $n=116$, w śr. wieku $64,0 \pm 11,9$ lat. W badanych grupach analizowano poziomy cTnI oraz aktywności CK i CK-MB oznaczone w surowicy przy przyjęciu i w trakcie hospitalizacji.

Wyniki: U chorych z STEMI leczonych pPCI wartości MPV istotnie korelują z maksymalnym stężeniem cTnI ($r=0,20$; $p=0,004$), maksymalną aktywnością CK ($r=0,20$; $p<0,001$) i CK-MB ($0,13$; $p=0,019$). Maksymalna aktywność CK była istotnie wyższa u chorych z grupy III w porównaniu do grupy I ($2073,6 \pm 2068,2$ v. $1360,4 \pm 1189,7$ U/L; $p=0,001$). Aktywność CK-MB była znamienne wyższa w grupie III niż w grupie I ($322,6 \pm 342,5$ v. $229,2 \pm 224,7$ U/L; $p=0,012$). Nie stwierdzono istotnego związku między MPV a cTnI oznaczoną przy przyjęciu do szpitala.

Wnioski: U chorych z STEMI leczonych pPCI: 1) wykazano istotny związek między MPV a maksymalnym stężeniem cTnI w surowicy oraz maksymalną aktywnością CK i CK-MB; 2) nie stwierdzono znamiennej zależności między MPV a poziomem cTnI oznaczanej przy przyjęciu chorego do szpitala.

RAFAL SADOWSKI*, MAGDALENA STRUS**, PIOTR B. HECZKO**,
WOJCIECH MACYK*

OCENA AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ POWŁOK FOTOKATALITYCZNYCH ZMODYFIKOWANĄ METODĄ ISO 27447:2009

AFILIACJA: * Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński;
** Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Porazytologii, Katedra Mikrobiologii,
Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W ostatnich latach obserwuje się wzrost udziału tworzyw sztucznych w branży medycznej. Powodem tego jest ich wszechstronność, wytrzymałość oraz niska cena. Produkty medyczne, w tym również te wykonane z tworzyw sztucznych, narażone są na tworzenie się na ich powierzchni biofilmu, uznawanego za jeden z istotnych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych. Ciekawą alternatywą dla konwencjonalnie stosowanych środków antybakteryjnych jest zastosowanie fotokatalitycznych powłok z ditlenku tytanu (TiO_2) do walki z tym problemem. Obecnie nie ma ustalonej jednoznacznej procedury pozwalającej ocenić aktywność przeciwbakteryjną powłok fotokatalitycznych osadzonych na tworzywach sztucznych. Aktualnie stosowana norma ISO 27447:2009 przeznaczona jest dla powłok wytworzonych na powierzchniach nieorganicznych.

Celem pracy była modyfikacja metody ISO 27447:2009 oraz określenie jej przydatności w badaniu aktywności przeciwbakteryjnej powłok ditlenku tytanu zsyntetyzowanych na tworzywach sztucznych. Komercyjnie dostępna folia polipropylenowa (PP) została poddana działaniu niskotemperaturowej plazmy tlenowej, a następnie pokryta koloidalnym roztworem nanokrystalicznego tlenku tytanu (IV) techniką zanurzeniową (*dip coating*). Zsyntetyzowane powłoki TiO_2 poddano sensybilizacji, stosując impregnację ligandami organicznymi, a następnie zbadano ich aktywność w kierunku fotodynamicznej inaktywacji mikroorganizmów: *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Badanie te prowadzono, stosując zmodyfikowaną procedurę ISO 27447:2009 zaadaptowaną do testowania materiałów fotokatalitycznych osadzonych na podłożu z tworzyw sztucznych.

Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

AGNIESZKA SAGAN, WOJCIECH MROWIECKI, TOMASZ MIKOŁAJCZYK,
MATEUSZ SIEDLIŃSKI, KAROL URBAŃSKI, GRZEGORZ FILIP,
BOGUSŁAW KAPELAK, TOMASZ MROWIECKI, TOMASZ J. GUZIK

INFILTRACJA KOMÓREK ZAPALNYCH A NADPRODUKCJA ANIONORODNIKA PONADTLENKOWEGO W ŚCIANIE TĘTNIAKÓW AORTY BRZUSZNEJ

AFILIACJA: Laboratorium Medycyny Translacyjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Wojewódzki Oddział Chirurgii Naczyń i Angiologii Szpitala J. Grandego w Krakowie

Wstęp: Patogeneza tętniaka aorty brzusznej (ang. *abdominal aortic aneurysm* – AAA) jest złożona i wciąż nie do końca poznana. Miejscowy stan zapalny i stres oksydacyjny odgrywają znaczącą rolę. Sugeruje się, że w różnych miejscach tętniaka procesy te przebiegają z różną intensywnością.

Celem badań jest ocena infiltracji komórek zapalnych oraz nadprodukcji anionorodnika nadadtlenkowego w trzech odrębnych obszarach ściany AAA: tzw. szyi tętniaka (ang. *neck area* – NA), części o maksymalnym poszerzeniu (ang. *maximal dilation* – MD) i w przejściowej strefie pomiędzy nimi (ang. *transitional area* – TA).

Metody: Fragment AAA pobrany był od 43 pacjentów poddanych naprawie tętniaka aorty brzusznej. W projekcie wykorzystano technikę trawienia enzymatycznego oraz metody cytometrii przepływowej, metodę chemiluminescencji zależnej od lucygeniny oraz *real time* RT-PCR.

Wyniki: (Mediana, Q1;Q3). Infiltracja leukocytów i limfocytów T w ścianie tętniaka jest znacznie zwiększona w stosunku do kontroli we wszystkich badanych obszarach: NA, TA oraz MD. Wynosi odpowiednio: dla leukocytów: 672 (273; 1299) kom/mg, 713 (344; 1500) kom/mg, 670 (280; 1333) kom/mg v. 16 (3; 113) kom/mg (AAA v. nonAAA; $p<0,001$); dla limfocytów T: 132 (47; 316) kom/mg, 185 (59; 491) kom/mg oraz 202 (50; 455) kom/mg v. 3(1; 10) kom/mg (AAA v. nonAAA; $p<0,001$). Część NA tętniaka charakteryzuje się zwiększoną produkcją anionorodnika nadadtlenkowego w porównaniu do TA i MD 115 (62; 193) RLU/s/mg v. 57 (17; 149) RLU/s/mg i 45 (16; 130) RLU/s/mg (NA v. TA, $p<0,05$; NA v. MD, $p<0,01$), a także zwiększoną ekspresję genów oksydazy NADPH: Nox2 oraz Nox5.

Wnioski: Naciek leukocytny jest porównywalny we wszystkich częściach AAA od miejsca najmniejszego do największego poszerzenia, natomiast stres oksydacyjny najdynamiczniej rozwija się w części początkowej powstającego tętniaka.

AGNIESZKA SARNECKA, MARCIN WALIGÓRA, MATEUSZ BRÓZDA,
GRZEGORZ KOPEĆ, MAGDALENA KOSTKIEWICZ, PIOTR PODOLEC

WIEDZA NA TEMAT OBJAWÓW I POSTĘPOWANIA W ZAWALE SERCA U PACJENTÓW Z CHOROBAŁĄ WIENĆCOWĄ

AFILIACJA: Klinika Chorób Serca i Naczyń, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Założenia: Skuteczne leczenie zawału serca (ZS) jest ograniczone zwłoką pacjenta w wezwaniu Pogotowia Ratunkowego.

Cele: Ocena wiedzy na temat objawów i postępowania w ZS pacjentów z chorobą wieńcową (ChW).

Metodologia: Badanie kwestionariuszowe losowo wybranych 544 chorych z ChW (w wieku $66,4 \pm 9,7$ lat, 64,7% mężczyzn, 257 – 47,2% po przebytych ZS), hospitalizowanych w wylosowanych oddziałach kardiologicznych województwa małopolskiego od października 2012 do grudnia 2013 roku. Respondentów poproszono o wskazanie objawów ZS (spośród sugerowanych 5), pierwszej czynności w przypadku podejrzenia ZS oraz numeru telefonu alarmowego.

Wyniki: Średnia liczba wskazanych objawów wyniosła $2,9 \pm 1,6$ i była wyższa u kobiet niż u mężczyzn ($3,3 \pm 1,5$ v. $2,7 \pm 1,6$; $p < 0,05$) oraz u osób po ZS niż u osób bez przebytego ZS ($3,2 \pm 1,5$ v. $2,7 \pm 1,6$; $p < 0,05$). Większość – 470 (86,4%) osób zadeklarowała wezwanie Pogotowia Ratunkowego w przypadku podejrzenia ZS, jednak 107 (19,7%) nie znało numeru telefonu alarmowego. Pacjenci po ZS częściej wskazywali każdy z objawów ZS niż osoby bez ZS: ból lub dyskomfort w klatce piersiowej 235 (91,4%) v. 236 (82,2%), $p < 0,05$; brak tchu (duszność): 189 (73,5%) v. 198 (70,0%), $p < 0,05$; osłabienie, zawroty głowy, omdlenie: 149 (58,0%) v. 147 (51,2%), $p < 0,05$; ból lub dyskomfort w ramionach, barku: 122 (47,5%) v. 99 (34,5%), $p < 0,05$; ból lub dyskomfort w żuchwie, szyi, plecach: 116 (45,1%) v. 97 (33,8%), $p < 0,05$. Zaledwie odpowiednio 66 (25,7%) i 50 (17,4%) osób wskazało wszystkie objawy ZS ($p < 0,05$). Nie obserwowano różnic w znajomości numeru telefonu alarmowego i postępowaniu w ZS w tych grupach.

Wnioski: Poprawa wiedzy na temat objawów i postępowania w ZS jest konieczna u osób z ChW, nawet jeśli przebyli już ZS.

ANNA SKALNIAK, JAKUB PIĄTKOWSKI, ALICJA HUBALEWSKA-DYDEJCZYK,
DOROTA PACH

CZY UKŁAD ZGODNOŚCI TKANKOWEJ MOŻE PREDYSPONOWAĆ NAS DO AUTOIMMUNOLOGICZNEGO ZAPALENIA TARCZYCY?

AFILIACJA: Katedra i Kliniki Endokrynologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jagielloński

Autoimmunologiczne zapalenie tarczycy – choroba Hashimoto (HT) oraz choroba Gravesa-Basedowa (GD), dotyka łącznie ok. 5% populacji. Podejmowano wiele prób znalezienia ich podłoża, analizując polimorfizmy genów odpowiedzialnych za regulację układu odpornościowego, w szczególności regionu kodującego antygeny zgodności tkankowej – HLA, który jak dotąd skorelowano już z wieloma innymi chorobami autoimmunologicznymi. W przeciwieństwie do GD wyniki dla HT są bardzo rozbieżne. Stwierdzono słabą asocjację rozwoju HT z typami HLA-DR3, -DR4 i -DR5, podczas gdy -DR1, -DR7, -DR8 i -DR13 mogą pełnić funkcję ochronną. Istnieją jednak badania, które nie potwierdzają tych korelacji czy nawet wykazują odwrotną zależność. Najnowsze prace tłumaczą to zjawisko tym, że do GD i HT predysponują nie tyle określone typy HLA-DR, ile specyficzne aminokwasy w obrębie sekwencji kieszeni wiążącej antygen. Różne aminokwasy w tym rejonie wpływają na zdolność i siłę prezentacji antygenów w kontekście HLA, a więc na jedną z podstawowych funkcji warunkujących prawidłową reakcję układu odpornościowego na własne i obce antygeny.

Celem zaprezentowanej pracy jest zweryfikowanie hipotezy, że jednocześnie występowanie aminokwasów Tyr26, Tyr30, Gln70, Lys71 i Arg74 predysponuje do występowania HT. Jednocześnie sprawdzono, jak w populacji małopolskiej przedstawiają się wcześniejsze powiązania typów HLA z tą chorobą.

Badanie składało się z następujących etapów: 1) Ocena powiązania typów HLA-DR z HT: typowanie metodą PCR z grupospecyficznymi starterami. 2) Ocena częstości występowania specyficznego układu aminokwasów w kieszeni wiążącej: sekwencjonowanie eksonu 2 genu HLA-DRB1, kodującego ten fragment białka.

Wyniki badania, poza weryfikacją nielicznych jak dotąd doniesień literaturowych o znaczeniu sekwencji kieszeni wiążącej antygen w rozwoju HT, umożliwią także doprecyzowanie czynników ryzyka zachorowania na HT dla populacji małopolskiej.

DOMINIK SKIBA*, RYSZARD NOSALSKI*, TOMASZ MIKOŁAJCZYK*,
RAFAŁ OLSZANECKI**, JACEK JAWIEN**, RYSZARD KORBUT**,
TOMASZ J. GUZIK*

PRZECIWMIAŁDŹYCOWY EFEKT AGONISTY RECEPTORA MAS NA Wczesnym ETAPIE ROZWOJU MIAŁDŹYCY. WPŁYW NA INFILTRACJĘ KOMÓREK T DO TKANKI TŁUSZCZOWEJ OKOŁOAORTALNEJ

AFILIACJA: * Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Farmakologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Celem pracy jest określenie, w jakim stopniu angiotensyna 1-7 oraz agonizm jej receptora Mas modulują zapalne mechanizmy wczesnego rozwoju miażdżycy. W celu poznania mechanizmów działania przeciwmiażdżycowego Ang-1-7 przeprowadziliśmy doświadczenie przy użyciu agonisty receptora Mas, którym jest substancja AVE0991 (Sanofi-Aventis). Eksperyment został przeprowadzony na dwunastotygodniowych myszach ApoE^{-/-} (Taconic) żywionych paszą „chow diet”, służących jako model wczesnej miażdżycy. Myszom ApoE^{-/-} jak i myszom z grupy kontrolnej (C57BL/6) podawano placebo lub substancję AVE0991 zmieszaną z paszą. Poziom infiltracji limfocytów T do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej został zmierzony przy użyciu cytometru przepływowego.

Wyniki: Analiza cytometryczna komórek wyizolowanych z tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej wykazała, iż infiltracja komórek T oraz poszczególnych subpopulacji limfocytów T: komórek CD4⁺ oraz CD8⁺, była zwiększona w tkance tłuszczowej okołonaczyniowej u myszy ApoE^{-/-} w porównaniu do tkanki wyizolowanej od myszy kontrolnych. Suplementacja paszy substancją AVE0991 przyczyniła się do znacznego spadku liczby komórek leukocytów, jak i limfocytów infiltrujących do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej u myszy ApoE^{-/-}. Aby wykluczyć wpływ endogennie produkowanej angiotensyny 1-7 na hamowanie infiltracji leukocytów do tkanki tłuszczowej, przeprowadzono analizę produkcji endogennej Ang-1-7 u myszy C57BL/6 oraz ApoE^{-/-} w tkance tłuszczowej okołonaczyniowej. Analiza nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. W celu wyjaśnienia mechanizmu infiltracji limfocytów do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej opracowano model stanu zapalnego w tkance tłuszczowej *in vitro*. Zastosowano linię komórkową preadipocytów

SW872 różnicowanych, a następnie stymulowanych TNF- α . Przeprowadzono analizę ekspresji genów prozapalnych.

Wnioski: Infiltracja limfocytów T do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej wzrasta na wczesnym etapie rozwoju miażdżycy. Agonizm receptora Mas dla Ang 1-7 przy pomocy AVE0991 efektywnie hamuje mechanizm rozwoju miażdżycy.

IRENA SMAGA, BEATA BYSTROWSKA, MAŁGORZATA FILIP

ZMIANA POZIOMÓW ENDOKANABINOIDÓW PO PODANIU LEKÓW PRZECIWDEPRESYJNYCH Z RÓWNOCZESNĄ BLOKADĄ RECEPTORÓW CB1

AFILIACJA: Katedra Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Depresja jako jedna z głównych chorób cywilizacyjnych XXI wieku stanowi poważny problem terapeutyczny w nowoczesnej farmakoterapii. Różne mechanizmy działania leków przeciwdepresyjnych sugerują, że nie interakcja leku z molekułą docelową odpowiada za skuteczność terapeutyczną, lecz raczej wtórny skutek tej interakcji. W ostatnich latach został podkreślony potencjalny udział układu endokanabinoidowego w patogenezie depresji i w działaniu leków przeciwdepresyjnych.

Celem tego badania była ocena wpływu ostrego lub chronicznego podania tianeptyny (10 mg/kg) lub escitalopramu (10 mg/kg) na poziom endokanabinoidów, tj. anandamidu (AEA) i 2-arachidonylglicerolu (2-AG), z równoczesną blokadą receptorów CB1 przez selektywnego antagonistę AM251 (1 mg/kg) w różnych strukturach mózgu szczura metodą LC-MS/MS.

Zmiany poziomu AEA i 2-AG obserwowane po chronicznych podaniach tianeptyny zostały odwrócone (przywrócone do poziomu kontrolnego) podczas równoczesnego podania antagonisty receptora CB1 w korze czołowej (2-AG), hipokampie (AEA) i prążkowiu (AEA i 2-AG). W przypadku chronicznych podań escitalopramu zmiany AEA zostały odwrócone podczas równoczesnego podania antagonisty receptora CB1 w hipokampie i prążkowiu, natomiast równoczesna blokada receptora CB1 nie wpłynęła na efekt wywołany podaniem escitalopramu na poziom 2-AG w tych strukturach, ale przywracała poziom 2-AG do poziomu kontrolnego w strukturach korowych.

Nasze dane wskazują na zaangażowanie receptorów CB1 w mechanizm działania tianeptyny i escitalopramu, ale konieczne jest prowadzenie dalszych badań nad specyficznością działania tych leków.

Badania były finansowane z grantu badawczego (UMO-2012/05/B/NZ7/02589) Narodowego Centrum Nauki w Krakowie oraz z badań statutowych (K/ZDS/001425) Uniwersytetu Jagiellońskiego.

DANUTA SMOLAĞ

ZNACZENIE WSPÓŁPRACY INTERDYSCYPLINARNEGO ZESPOŁU WCZESNEGO WSPOMAGANIA ROZWOJU DZIECKA W TERAPII – ZAŁOŻENIA A STAN RZECZYWISTY. NAMYSŁ NAD PROBLEMEM

AFILIACJA: Klinika Chirurgii Dziecięcej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Kompleksowa terapia oraz wspomaganie rozwoju dziecka niepełnosprawnego wymaga współpracy zespołu specjalistów, Dokonania fachowej diagnozy, ustalenia harmonogramu rehabilitacji oraz podziału zadań. Artykuł opisuje wstępną fazę pracy doktorskiej.

Celem badania było dokonanie weryfikacji terenu badania, dopracowanie technik i narzędzi badawczych, wstępne określenie zmiennych modyfikujących. Badanie pilotażowe miało umożliwić określenie i opisanie realnych dysfunkcji, predysponujących do wspomagania oraz zjawisk wymagających interwencji i reorganizacji, które wpływają na jakość oraz dostępność zajęć w ramach Wczesnego Wspomagania Rozwoju Dziecka.

Badanie przeprowadzone zostało w województwie małopolskim w okresie listopad 2013–marzec 2014. Materiał badawczy pozyskano przy użyciu autorskich kwestionariuszy ankiety, posłużono się również metodą wywiadu. W badaniu wzięli udział rodzice dzieci w wieku 0–11 lat oraz specjaliści pediatrii i neonatologii, psychologowie i pedagodzy/pedagogi specjaliści – ogółem 250 osób. Dane uzyskane za pomocą kwestionariusza ankiet poddane zostały analizie statystycznej. W celu opracowania informacji posłużono się między innymi analizą funkcjonalną – określono „luki” i antynomie w regulacjach prawnych oraz założeniach systemu ochrony zdrowia, określono różnicę w zakresie zaleceń oraz czynności koniecznych podejmowanych w procesie leczenia i terapii pacjenta pediatrycznego, określono schemat zależności pomiędzy specjalistami i „ścieżki terapeutyczne”, które musi pokonać mały pacjent w procesie kompleksowego wspomagania. Założenia teoretyczne skonfrontowano ze stanem rzeczywistym. Uzyskany materiał wskazuje na luki i rozbieżności w przepisach prawnych oraz zasadach organizacji procesów rehabilitacji i wspomagania rozwoju dziecka. Ujawniono niedostatecznie sprawny system przepływu informacji i komunikacji pomiędzy badanymi. Poziom wiedzy na temat WWRD okazał się wśród rodziców zatrażająco niski. Poziom wiedzy specjalistów w zakresie wzajemnej

znajomości technik i metod pracy oraz zasad kierowania i działania WWRD również oceniono jako niski. W placówkach leczniczo-terapeutycznych nie wykazano ogólnie dostępnych materiałów dotyczących WWRD. Faza wstępna badania wykazała zasadność przeprowadzenia badania docelowego. Obszar badania okazał się terenem właściwym i adekwatnym do zbadania założeń fazy głównej.

AGNIESZKA SROKA*, TOMASZ GOSIEWSKI*, DOMINIKA SALAMON*,
MAGDALENA SZOPA**, MACIEJ MAŁECKI**, MAŁGORZATA BULANDA*

ANALIZA ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY CUKRZYCĄ TYPU 1 I 2 A ILOŚCIĄ GRZYBÓW Z RODZAJU *CANDIDA* Z WYKORZYSTANIEM METODY qRT-PCR

AFILIACJA: * Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Parazytologii, Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Pacjenci z cukrzycą typu 1 i 2 wykazują odmienny skład ilościowy grzybów z rodzaju *Candida* w przewodzie pokarmowym.

Cel pracy: Porównanie liczby grzybów *Candida* w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 i 2 oraz w grupie kontrolnej przy użyciu metody ilościowego PCR (qPCR).

Metodologia: Badaniem objęto 59 pacjentów Katedry i Kliniki Chorób Metabolicznych UJ CM. Podstawą zakwalifikowania było kliniczne stwierdzenie cukrzycy typu 1 (n=27) lub 2 (n=13). Obecność innych chorób stanowiło kryterium wykluczające. Do grupy kontrolnej włączono 19 zdrowych ochotników. Od każdego z pacjentów pobrano próbki kału. Próbkę ważono i izolowano DNA zgodnie z protokołem zestawu QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN). Otrzymane izolaty poddano amplifikacji qPCR -termocykler CFX96 (BioRad). W mieszaninie reakcyjnej zastosowano zestaw JumpStart ReadyMix (Sigma) oraz sondę TaqMan specyficzną dla *Candida*. Wyniki intensywności fluorescencji przeliczono na podstawie krzywej standardowej na masę 1 g kału, aby dokonać porównania między badanymi grupami. W analizie statystycznej zastosowano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa. Wartość $p > 0,05$ przyjęto za nieistotną statystycznie. Projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej UJ (KBET/81/B/2010) oraz był finansowany ze środków NCN (2011/03/D/NZ5/00551).

Wyniki: Ustalono, że w grupie ochotników średnia liczba grzybów wyniosła: $6,96 \times 10^2$ CFU/g, natomiast w grupach pacjentów z cukrzycą 1 i 2 odpowiednio: $4,35 \times 10^3$ CFU/g, $9,13 \times 10^4$ CFU/g. Zaobserwowane różnice ilościowe pomiędzy badanymi grupami były istotne ($p=0,025$).

Wnioski: W przewodzie pokarmowym pacjentów z cukrzycą typu 2 występuje istotnie większa liczba grzybów z rodzaju *Candida* niż u pacjentów z cukrzycą typu 1 i grupą kontrolną. Pacjenci z cukrzycą typu 1 również wykazują istotnie większą liczbę grzybów w stosunku do osób zdrowych.

MACIEJ STANEK, MATEUSZ RUBINKIEWICZ,
MICHAŁ NATKANIEC, MIKHAIL KISIALEUSKI

PROTOKÓŁ ERAS W OPIECE CHORYCH PO ZABIEGACH BARIATRYCZNYCH

AFILIACJA: II Katedra Chirurgii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Chorzy z otyłością olbrzymią to grupa pacjentów wysokiego ryzyka. Optymalizacja opieki okołoperacyjnej i skrócenie czasu powrotu do pełnej aktywności może przyczynić się do obniżenia odsetka powikłań związanych z zabiegiem operacyjnym.

Cel: Celem pracy jest analiza wyników leczenia chorych po zabiegach bariatrycznych, u których w opiece okołoperacyjnej stosowano protokół oparty na założeniach Enhanced Recovery After Surgery (ERAS).

Materiał: Analizą objęto 170 chorych (62 mężczyzn, 108 kobiet, śr. BMI 46,7 kg/m²), u których wykonano laparoskopowy zabieg bariatryczny, a w opiece okołoperacyjnej stosowano protokół ERAS. Analizowano tolerancję diety doustnej, szybkość uruchomienia po zabiegu, zapotrzebowanie na opioidy, czas hospitalizacji i odsetek ponownych przyjęć.

Wyniki: W pierwszej dobie pooperacyjnej doustną podaż płynnych pokarmów tolerowało 162 (95,3%) chorych. W ciągu 24 godzin od zabiegu 163 (95,9%) chorych było w pełni uruchomionych. U 44 (25,9%) pacjentów z uwagi na dolegliwości bólowe konieczne było zastosowanie opioidów. Podaż dożylną płynów zakończono w ciągu 24 godzin u 145 (85,3%) chorych. Odsetek powikłań wynosił 10,5% (głównie rabdomioliza, zaburzenia pasażu pokarmu). Średni czas hospitalizacji wynosił 2,9 dnia, a odsetek ponownych przyjęć 1,7%.

Podsumowanie: Wprowadzenie protokołu ERAS w naszym ośrodku było technicznie możliwe i bezpieczne dla pacjentów, a skrócenie średniego czasu hospitalizacji jest możliwe bez niebezpiecznego zwiększenia odsetka powikłań lub ponownych przyjęć do szpitala.

JOANNA STEFAN*, KATARZYNA KUŚ*, ANNA WIŚNIEWSKA*,
KAMIL KAMIŃSKI**, JUSTYNA TOTON-ŻURAŃSKA*,
KRZYSZTOF SZCZUBIAŁKA**, JACEK JAWIEŃ*,
MARIA NOWAKOWSKA**, RYSZARD KOR BUT*

WPLYW DEKSTRANU-GTMAC I PULLULANU-GTMAC – NOWYCH, KATIONOWO ZMODYFIKOWANYCH POLISACHARYDÓW, NA ROZWÓJ MIAŻDŻYCY ORAZ GOSPODARKĘ LIPIDOWĄ W DOŚWIADCZALNYM MODELU MIAŻDŻYCY U MYSZY APOE-KNOCKOUT

AFILIACJA: * Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Dekstran i pullulan – polisacharydy pochodzące ze źródeł naturalnych, na drodze chemicznej modyfikacji kationowej przeprowadzono w biokompatybilne polimery o dobrej biodostępności: dekstran-GTMAC i pullulan-GTMAC.

Celem pracy było zbadanie ewentualnego wpływu obu zmodyfikowanych polisacharydów na rozwój miażdżycy i gospodarkę lipidową z użyciem eksperymentalnego modelu miażdżycy u myszy apoE-knockout. Oba polisacharydy podawano zwierzętom *per os* w diecie w dawce 300 mg/kg/dobę przez 18 tygodni. Podczas stosowania polisacharydów nie zaobserwowano ich wpływu na masę ciała zwierząt. W porównaniu z kontrolą podawanie kationowych polisacharydów nie spowodowało też istotnych zmian w poziomie poszczególnych frakcji lipidów osocza. Równocześnie jednak w morfologicznej analizie powierzchni zmian miażdżycowych typu „cross-section” korzenia aorty wykazano, że w efekcie podawania pullulanu-GTMAC (w mniejszym stopniu dekstranu-GTMAC) dochodzi do statystycznie istotnego zmniejszenia progresji zmian miażdżycowych. W analizie typu „en face” wyniki okazały się mniej przekonujące. Dodatkowo przebadano wpływ badanych polimerów na agregację płytek krwi szczura *in vitro*. W badaniach wykazano, że pullulan-GTMAC w stężeniu do 500 µg/ml osocza nie wykazuje działania proagregacyjnego *per se*, ale potęguje agregację płytek krwi wywołaną kolagenem (12 µg/ml osocza). Wyniki przeprowadzonych eksperymentów wskazują na potencjalne przeciwmiażdżycowe własności 2 nowo zsyntetyzowanych kationowych polisacharydów.

DOMINIKA STETTNER*, GRZEGORZ JORDAN*,
MALGORZATA RADOŃ-POKRACKA*, MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ**,
AGNIESZKA WRÓBEL**

ELEKTROKARDIOGRAFIA PŁODOWA W ODPROWADZENIACH POŚREDNICH – ALTERNATYWA KARDIOTOKOGRAFII W MONITOROWANIU DOBROSTANU PŁODU

AFILIACJA: * Klinika Położnictwa i Perinatologii, Katedra Ginekologii i Położnictwa, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Ocena stanu wewnątrzmacicznego dziecka jest jednym z podstawowych zadań współczesnego położnictwa. Jedną z takich metod jest zapis kardiotokograficzny określany jako „złoty standard” w ramach opieki przed- i śródporodowej. Metoda ta pozwala na monitorowanie czynności serca płodu oraz czynności skurczowej macicy, jednak generuje duży odsetek wyników fałszywie dodatnich. Standardowy zapis KTG trwa 40 minut, w trakcie którego pacjentka musi leżeć. Brytyjski system MONICA jest zarejestrowany jako tzw. holter płodowy – rejestrujący sygnał EKG za pomocą elektrod brzusznych niezależnie od aktywności pacjentki. Obecnie ustalana jest przydatność tego urządzenia do praktyki klinicznej, gdyż kryteria komputerowej analizy zapisu KTG Dawesa i Redmana wydają się wymagać modyfikacji. W literaturze można odnaleźć pojedyncze doniesienia o wartości klinicznej 24-godzinnego lub dłuższego monitorowania stanu płodu zarówno w okresie prenatalnym, jak i śródporodowo.

Cel: Ocena płodowej elektrokardiografii pośredniej w monitorowaniu dobrostanu płodu oraz weryfikacja ewentualnego wewnątrzmacicznego zagrożenia płodu.

Metodologia: 24-godzinny zapis EKG płodowego u pacjentek w ciąży patologicznej w okresie prenatalnym, jak i śródporodowo.

Wyniki: Wykonano 20 zapisów płodowego EKG, które poddano komputerowej analizie sygnału dzięki karcie pamięci w urządzeniu. Poza wykresem płodowego EKG aparat rejestruje także aktywność skurczową mięśnia macicy, wykazując wyższą czułość w porównaniu do kardiotokografu. Średnia utrata sygnału wynosiła 10%.

Wnioski: Krótki czas badania oraz liczebność próby nie pozwalają na sformułowanie konkretnych wniosków. Poza kryteriami Dawesa i Redmana, nieobowiązującymi w trakcie porodu, brak międzynarodowych standardów pozwalających wykryć zagrożenie podczas ciągłego monitorowania akcji serca płodu. Ostatecznym celem badania jest sprecyzowanie takich kryteriów.

JAKUB STĘPNIEWSKI, PAWEŁ RUBIŚ, PIOTR PODOLEC

ROZPOWSZECHNIENIE CHOROÓB TOWARZYSZĄCYCH U PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA PRZYJMOWANYCH W TRYBIE PILNYM DO REFERENCYJNEGO OŚRODKA KARDIOLOGICZNEGO W KRAKOWIE Z POWODU ZAOSTRZENIA NIEWYDOLNOŚCI SERCA

AFILIACJA: Klinika Chorób Serca i Naczyń, Instytut Kardiologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Wprowadzenie: Hospitalizacje z powodu zaostrzenia przewlekłej niewydolności serca (PNS) są związane z dużą śmiertelnością. Wiedza na temat chorób współistniejących i odpowiednie ich leczenie może mieć znaczenie w poprawie rokowania w tej grupie chorych.

Cel: Ocena rozpowszechnienia chorób współistniejących u pacjentów z PNS hospitalizowanych z powodu zaostrzenia z uwzględnieniem różnic w zależności od etiologii PNS.

Metodologia: Przeanalizowano dane 138 chorych z PNS w wieku 61 ± 14 lat (82% mężczyzn) hospitalizowanych z powodu zaostrzenia. Porównano częstość występowania nadciśnienia tętniczego (HA), cukrzycy (DM), dyslipidemii (DYS), migotania przedsionków (AF), anemii, przewlekłej choroby nerek (PNN), przewlekłej choroby płuc (PChP) i uszkodzenia wątroby (LD) w zależności od etiologii PNS.

Wyniki: PNS o etiologii niedokrwiennej (ICM) występowała u 54%, a niedokrwiennej (DCM) u 46% chorych. U prawie wszystkich (94%) obecna była choroba towarzysząca. HA obecne u 66%, DM u 38%, DYS u 54% częściej występowały u chorych z ICM niż z DCM (odpowiednio 82% v. 45%, $p=0,001$; 53% v. 23%, $p=0,003$; 70% v. 35%, $p=0,001$). AF było obecne u 36%, u 28% z ICM i 44% z DCM ($p=0,09$). Anemia występowała u 40%, równie często u chorych z ICM i DCM (odpowiednio 46% v. 32%; $p=0,1$). 29% miało PNN (38% [ICM] v. 20% [DCM]; $p=0,04$). 10 pacjentów miało PChP (5 z ICM). Cechy LD obserwowano u 38% (34% [ICM] v. 43% [DCM]; $p=0,3$).

Wnioski: Częstość rozpowszechnienia chorób towarzyszących u pacjentów z zaostrzeniem PNS jest duża. U ponad 1/3, niezależnie od etiologii, współistnieją AF, PNN, anemia i LD, które mogą mieć niekorzystny wpływ na rokowanie w tej grupie chorych.

ANNA STOCHEL-GAUDYN*, HALINA MROWIEC**,
STANISŁAW WALAS**, PAWEŁ KOŚCIELNIAK**, KRZYSZTOF FYDEREK*

STĘŻENIE ŻELAZA WE WŁOSACH ORAZ SUROWICY KRWI DZIECI Z NOWO ROZPOZNANĄ ZAPALNĄ CHOROBAJELIT W PORÓWNANIU Z GRUPĄ KONTROLNĄ – DONIESIENIE WSTĘPNE

AFILIACJA: * Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Dzieci, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Niedokrwistość niedoborowa należy do jednych z najczęstszych powikłań układowych u dzieci z nieswoistą zapalną chorobą jelit (n.z.ch.j.).

Cel pracy: Analiza stężenia żelaza we włosach oraz surowicy krwi dzieci z nowo rozpoznaną n.z.ch.j. w porównaniu z grupą kontrolną.

Pacjenci i metody: Grupę badaną stanowiło 41 dzieci z nowo rozpoznaną n.z.ch.j. oraz 20 dzieci zdrowych. Średnia wieku w obu grupach wynosiła 11 lat (2–17). Od każdego z pacjentów pobrano próbkę włosów z okolicy potylicy oraz próbkę surowicy krwi. Oznaczeń dokonano przy pomocy spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS) oraz atomowej spektrometrii fluorescencyjnej z generacją wodorków (HG-AFS).

Wyniki: Stężenie Fe w surowicy dzieci z n.z.j. było istotnie statystycznie niższe niż w grupie kontrolnej (mediany: 1,02 oraz 1,37 mg/l) ($p < 0,05$). Paradoksalnie we włosach dzieci chorych stężenie to było nieznacznie wyższe niż u dzieci zdrowych (mediany: 25,05 oraz 23,05 ug/g). Porównując oddzielnie grupę dzieci z chorobą Leśniowskiego-Crohna (CD) oraz colitis ulcerosa (UC) z grupą kontrolną stwierdzono w obu przypadkach niższe stężenie żelaza w surowicy krwi dzieci chorych ($p < 0,05$). W przypadku włosów największe stężenie stwierdzono w grupie dzieci z UC, a najmniejsze w grupie dzieci zdrowych (mediany: 30 oraz 23 ug/g).

Wnioski: Zmniejszone stężenie Fe w surowicy dzieci chorych prawdopodobnie odzwierciedla aktualnie toczący się proces zapalny w jelitach, jak i znaczne utraty tego pierwiastka z krwawiącej śluzówki. Różnic tych nie obserwuje się we włosach, które z uwagi na swoje tempo wzrostu (ok. 1 cm/miesiąc) pokazują wartość uśrednioną stężenia pierwiastka w dłuższym przedziale czasowym, co wskazywałoby na bieżące zużywanie zapasów Fe w momencie największej aktywności choroby.

MACIEJ SUŁKOWSKI*, BOGNA BADYRA*,
PRZEMYSŁAW PŁONKA**, MARCIN MAJKA*

RÓŻNICOWANIE INDUKOWANYCH PLURIPOTENCJALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH (IPS) DO KOMÓREK PRODUKUJĄCYCH DOPAMINĘ I MELANINĘ

AFILIACJA: * Zakład Transplantologii, Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Indukowane pluripotentjalne komórki macierzyste (iPS) są nieograniczonym źródłem pozyskiwania prawie wszystkich typów komórek dorosłego organizmu. Dzięki ich unikalnym właściwościom mogą znaleźć zastosowanie nie tylko w aspekcie klinicznym, ale również jako modele chorób w hodowlach *in vitro*. Jednym z najważniejszych typów komórek, jakie można otrzymać, różnicując komórki iPS, są komórki produkujące dopaminę. Komórki te są szczególnie podatne na degenerację w wielu chorobach układu nerwowego, a w szczególności w chorobie Parkinsona (PD). Komórki produkujące dopaminę mogą stanowić nie tylko doskonały model do badań farmakologicznych *in vitro*, ale także do zrozumienia procesów patogenezy występujących w chorobie Parkinsona. Różnicowanie neuronalne to procedura wieloetapowa. Najpierw komórki iPS rosnące na warstwie odżywczej przeniesiono do hodowli w zawieszynie. W kolejnym kroku neuronalne komórki progenitorowe (*Neuronal Progenitor Cells*, NPC) selekcionowano i namnażano w bezsurowiczym medium. W ostatnim etapie komórki NPC ostatecznie wyróżnicowano do neuronów dopaminergicznych. Na każdym etapie różnicujące komórki scharakteryzowano poprzez wykazanie ekspresji specyficznych markerów (neuronalnych – nestyna, Tuj-1, TH, DAT, tyrozynaza, oraz embrionalnych) na poziomie zarówno mRNA (RT-PCR), jak i białka (immunocytochemia). Produkcję dopaminy przez zróżnicowane komórki potwierdzono metodą HPLC, a zawarty w nich czarny pigment zidentyfikowano jako melaninę poprzez badanie EPR i barwienie Fontana-Massona. Przedstawiony przez nas protokół umożliwia różnicowanie komórek iPS do komórek produkujących dopaminę oraz melaninę. Uzyskany przez nas model może być wykorzystany w badaniach farmakologicznych zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, a także może okazać się znaczący w zrozumieniu mechanizmów patogenezy w chorobach neurodegeneracyjnych.

JOANNA SURAJ, MARIA WALCZAK

PORÓWNANIE TRAWIENIA ENZYMATYCZNEGO I CHEMICZNEGO ENDOTELINY-1 Z WYKORZYSTANIEM TECHNIKI NANOLC-NANOESI-FT/MS. OKREŚLENIE WPŁYWU DWUETAPOWEGO TRAWIENIA ENZYMATYCZNEGO PEPTYDU NA EFEKTYWNOŚĆ POWSTAJĄCYCH FRAGMENTÓW

AFILIACJA: * Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Farmakokinetiki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Dynamiczny rozwój zaawansowanych technik analitycznych oraz wysokorozdzielczej spektrometrii mas przyczynił się do rozwoju proteomiki jako wiodącego narzędzia w naukach biomedycznych i biologii molekularnej. Obecne badania proteomiczne zaliczane są do najbardziej skutecznych metod oceny i identyfikacji nowych potencjalnych biomarkerów jako wczesnych wskaźników rozwoju dysfunkcji narządowej.

Do przeprowadzenia zaplanowanych badań jako peptyd testowy wykorzystano endotelinę-1 (ET-1) zbudowaną z 21 aminokwasów i posiadającą dwa mostki disiarczkowe. Związek ten zaliczany jest do grupy najsilniejszych mediatorów obkurczających naczynia krwionośne i określany jest jako jeden z głównych biomarkerów dysfunkcji śródbłónka.

Celem pracy było porównanie trawienia chemicznego i enzymatycznego wzorcowego roztworu peptydu-ET-1, wykorzystując do tego CNBr jako czynnik chemiczny i przykładowe substancje enzymatyczne, takie jak tripsyna świńska i Lys-C endoproteinaza. Kolejnym krokiem było określenie wpływu zastosowania dwuetapowego trawienia enzymatycznego endoteliny-1, wykorzystując tripsynę świńską, na efektywność powstawania teoretycznie oczekiwanych fragmentów peptydu.

W niniejszej pracy otrzymane fragmenty ET-1 sprawdzono za pomocą techniki nanoLC-nanoESI-FT/MS. W tym celu zastosowano połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Dionex Ultimate 3000) sprzężonej z wysokorozdzielczym spektrometrem masowym (LTQ Orbitrap XL) wykorzystującym jako źródło jonów naneoelectrospray.

Wyniki wskazały na brak możliwości jednoznacznego określenia powstawania takich samych fragmentów endoteliny-1 w wyniku każdorazowego trawienia enzymatycznego. Powodem takiego zachowania peptydu może być zarówno jego złożona budowa, jak i modyfikacje potranslacyjne związku czy specyficzne środowisko zachodzących reakcji enzymatycznych. Badania potwierdziły lepszą efektywność trawienia peptydu, wykorzystując trypsynę świńską jako czynnik trawiący w porównaniu z Lys-C endoproteinazą i CNBr. Podwójny etap trawienia ET-1 podkreślił większą trwałość i częstość powstawania jednego z fragmentów peptydu, (E10CVYF14)H⁺ (m/z=716 Da) i (E10CVYF14)H₂⁺ (m/z=359 Da) nad innymi teoretycznie wygenerowanymi strukturami.

Badania były współfinansowane przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (POIG.01.01.02-00-069/09).

JOANNA SZAFRANIEC, MAŁGORZATA JANIK,
JOANNA ODROBIŃSKA, SZCZEPAN ZAPOTOCZNY

OD AMFIFILOWYCH KOPOLIMERÓW SZCZEPIONYCH DO NOWOCZESNYCH NOŚNIKÓW LEKÓW. BADANIA MODELOWE

AFILIACJA: Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Rozwój technik projektowania i produkcji nośników do kontrolowanego dostarczania leków to jeden z ważniejszych obszarów współczesnej nauki. Tradycyjne nośniki leków są nieefektywne ze względu na częściową degradację i przekraczanie dawek terapeutycznych w następstwie braku kontroli stężenia. Powoduje to wzrost kosztów, dyskomfort pacjenta oraz szereg efektów ubocznych. Wszystko to sprawia, że konieczne staje się zastępowanie starych technik nowymi, bardziej efektywnymi, tańszymi i lepiej zdefiniowanymi.

Idealny nośnik leku powinien być obojętny dla organizmu, biokompatybilny, biodegradowalny, nietoksyczny, odporny mechanicznie, łatwy do otrzymania i pozwalający na efektywne ładowanie, transport i uwalnianie substancji czynnych. Polimery spełniają te wymogi i mogą z powodzeniem być wykorzystywane do zastosowań biomedycznych.

Celem pracy jest otrzymanie i scharakteryzowanie mikro- i nanokapsuł na ciekłych rdzeniach, które wykorzystywane będą do kontrolowanego podawania leków o charakterze lipofilowym. Dotychczasowe badania skupione były na syntezie i charakteryzacji amfifilowych kopolimerów szczepionych, które służą jako modelowy związek w projektowaniu kapsuł o ciekłych rdzeniach stabilizowanych przez biopolimery. Istotnym aspektem jest sam sposób stabilizacji emulsji za pomocą amfifilowych polielektrolitów, niewymagający dodatku surfaktantów. Dzięki wytworzeniu wielowarstwowych pokryć kapsuł techniką „Layer-by-Layer”, tj. naprzemiennej adsorpcji przeciwnie naładowanych elektrolitów, możliwa jest zmiana szybkości uwalniania związków aktywnych z wnętrza kapsuły.

Przeprowadzone dotychczas badania pozwoliły na określenie wpływu budowy makrocząsteczki na stabilność i wielkość kapsuł. Potwierdzono także wysoką wydajność enkapsulacji hydrofobowych barwników fluorescencyjnych oraz nienaruszenie ich właściwości w procesie ładowania do kapsuł.

Podziękowania: Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej |w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

PRZEMYSŁAW SZAFRĄSKI, GRZEGORZ DYCZKO, MAREK CEGŁA

ROZDZIAŁ KINETYCZNY: SKUTECZNA METODA SYNTEZY OPTYCZNIE CZYSTYCH AZYDOALKOHOLI

AFILIACJA: Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Hydrolityczny rozdział kinetyczny (HKR) z wykorzystaniem enzymów jest metodą syntetyczną szeroko stosowaną do otrzymywania optycznie czystych alkoholi. Dla chemii leków dwoma wartymi uwagi klasami tych związków są amino- i azydoalkohole. Wśród tych pierwszych znaleźć można szereg substancji biologicznie czynnych i leczniczych, takich jak adrenalina czy β -blokery. Azydoalkohole są natomiast ważnymi prekursorami w syntezie aminoalkoholi, a także użytecznymi substratami katalizowanej miedzią cykloaddycji Huisgena, sztandarowej reakcji w zaproponowanej w 2001 roku przez K. B. Sharplessa strategii *click chemistry*. Strategia oraz wspomniana reakcja cykloaddycji przyniosły w ostatnim dziesięcioleciu owoce w postaci tysięcy nowych związków chemicznych, znajdujących zastosowanie w naukach medycznych, biologicznych i nie tylko. Stosowane do rozdziału kinetycznego lipazy są enzymami szczególnie dogodnymi w użytkowaniu dzięki szerokiemu spektrum hydrolizowanych przez nie substratów, a także możliwości ich stosowania w środowisku zawierającym dodatek rozpuszczalnika organicznego takiego jak acetonitryl lub etanol czy nawet w rozpuszczalnikach niemieszających się z wodą, jak dichlorometan, toluen czy etery. Lipazy pozwalają na prowadzenie procesów hydrolizy w bardzo łagodnych warunkach, spełniających nawet część kryteriów *click chemistry*, co czyni je dogodnymi narzędziami w syntezie stereoselektywnej.

Przedmiotem niniejszej prezentacji są badania nad stereoselektywną syntezą poszczególnych enancjomerów 2- i 3-azydocykloheksanolu z wykorzystaniem enzymatycznego hydrolitycznego rozdziału kinetycznego (HKR). Pozwoliły one na opracowanie efektywnych metod syntezy poszczególnych enancjomerów wspomnianych związków o wysokiej lub bardzo wysokiej czystości optycznej.

MICHAŁ SZUBIGA*, AGNIESZKA GRABOWSKA*,
ANNA MADETKO-TALOWSKA*, MIROSLAW BIK-MULTANOWSKI*,
MONIKA RUDZIŃSKA**, ANDRZEJ SZKUDLIK**

WYKORZYSTANIE MIKROMACIERZY DO SELEKCJI GENÓW ULEGAJĄCYCH RÓŻNICOWEJ EKSPRESJI U CHORYCH NA DYSTONIĘ-MIOKLONIĘ JAKO WSTĘP DO POSZUKIWANIA GENÓW KANDYDATÓW ODPOWIEDZIALNYCH ZA PATOMECHANIZM CHOROBY

AFILIACJA: * Pracownia Genetyki Molekularnej, Zakład Genetyki Medycznej, Katedra Pediatrii, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Zespół dystonia-mioklonia (MDS, DYT11) jest jednym z zespołów dystonia plus charakteryzujących się dużą różnorodnością fenotypową z objawami dystonii-mioklonii w górnej połowie ciała. Dziedziczenie jest autosomalnie dominujące, u 30–50% chorych objawy są skutkiem heterozygotycznych mutacji w obrębie epsilon-sarkoglikanu (SGCE) na chromosomie 7q21. Mikromacie-rze ekspresyjne pozwalają na jednoczesne badanie aktywności 28 869 genów. Wraz z dedykowanym oprogramowaniem bioinformatycznym (Partek Genomic Suite) oraz powszechnie dostępnymi bazami danych (David KEGG) dają możliwość tworzenia list genów o różnicowej ekspresji między badanymi grupami oraz ich przyporządkowywania do ścieżek metabolicznych.

Cel badania: Wyznaczenie profilu ekspresji wraz ze szlakami sygnałowymi charakterystycznymi dla pacjentów chorych na MDS.

Materiał i metody: Do badania włączono 20 osób: 10 osób chorych na MDS z 4 polskich ośrodków neurologicznych oraz 10 zdrowej grupy kontrolnej. W analizie ekspresji wykorzystano system mikromacierzy Affymetrix w oparciu o mRNA wyizolowane z leukocytów krwi obwodowej. Listy genów o różnicowej ekspresji zostały wygenerowane z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych, stosując wartość FDR (*false discovery rate*) oraz krotność zmiany minimum 1,5 (fold change $\geq 1,5$).

Wyniki: W grupie chorych wykryto istotny statystycznie (EASE score = 0,1) wzrost ekspresji genów biorących udział w proteolizie zależnej od ubikwityny oraz spadek ekspresji genów odpowiadających za metabolizm seleno-amino

kwasów, replikację DNA, mechanizmy naprawy przez wycięcie nukleotydu a także interakcję receptor-ECM (macierz zewnątrzkomórkowa) w porównaniu do grupy kontrolnej.

Wnioski: Mikromacierze ekspresyjne wydają się obiecującym narzędziem do preselekcji genów oraz szlaków sygnałowych mogących mieć wpływ na patomechanizm choroby. Na szczególną uwagę zasługują geny interakcji receptor-ECM, gdyż są powiązane funkcyjnie z genem SGCE, co mogłoby wskazywać na mięśniową etiologię MDS.

MAŁGORZATA SZURGOT, WALENTYNA BALWIERZ

ANALIZA CZYNNIKÓW ROKOWNICZYCH U DZIECI ZE ZWOJAKIEM ZARODKOWYM WSPÓŁCZULNYM

AFILIACJA: Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Zwojak zarodkowy współczulny (NBL) należy do najczęstszych nowotworów (7–10%) wieku dziecięcego. Różnorodność obrazu i przebiegu klinicznego zależy od wielu czynników. Pomimo postępów w terapii wyleczalność dzieci w grupie wysokiego ryzyka jest niezadowalająca. W celu poprawy wyników leczenia NBL konieczne jest lepsze poznanie biologii choroby i poprawa stratyfikacji pacjentów do odpowiednich grup terapeutycznych.

Cel: Ocena znanych i poszukiwanie nowych czynników prognostycznych u dzieci z NBL.

Materiał i metody: Analiza retrospektywna dotyczy 158 dzieci z NBL leczonych w Krakowie w latach 1991–2012. Badaniem prospektywnym objętych będzie około 30 dzieci z NBL rozpoznanych w latach 2013–2015. W analizach uwzględniono: dane demograficzne, lokalizację guza pierwotnego, stopień zaawansowania, rodzaj przerzutów, typ budowy histologicznej, markery biochemiczne i genetyczne oraz badania obrazowe. Na podstawie przeprowadzonych analiz zdefiniowane zostaną nowe niekorzystne czynniki rokownicze w NBL.

Wyniki: Wśród 158 dzieci analizowanych retrospektywnie (średni wiek 2,8 lat) więcej było chłopców (58,2%) i dzieci powyżej 1. roku życia (66,5%). Stopnie zaawansowania 1., 2., 3., 4. i 4s stwierdzono odpowiednio u 12 (7,6%), 16 (10,1%), 45 (28,5%), 71 (44,9%) i 14 (8,9%) dzieci. Guz pierwotny najczęściej występował w jamie brzusznej (68,3%). Wśród 135 ocenionych guzów amplifikację genu MYCN stwierdzono w 20 (14,8%), najczęściej (25%) w 4. stopniu. Spośród 113 ocenionych guzów 44 miały korzystną, 69 niekorzystną budowę histopatologiczną. W badanej grupie zmarło 56 dzieci (35,4%), wznowa choroby wystąpiła u 41 (25,9%).

Podsumowanie: Zbadana dotychczas grupa pacjentów zróżnicowana była pod względem czynników klinicznych, biologicznych i histologicznych. Wstępne analizy wskazują, że częstość niekorzystnych czynników rokowniczych w badanej populacji jest porównywalna z danymi z piśmiennictwa.

MARTYNA ŚNIEGOCKA, MARTYNA KRZYKAWSKA-SERDA,
PRZEMYSŁAW M. PŁONKA, KRYSTYNA URBAŃSKA

WPLYW SPOSOBU SZCZEPIENIA KOMÓREK NOWOTWOROWYCH B16F10 DO MYSZY C57BL/6J NA ICH ZDOLNOŚĆ DO PRZERZUTOWANIA

AFILIACJA: Zakład Radiobiologii i Radiospektroskopii Nowotworów, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Celem pracy jest sprawdzenie, czy miejsce szczepienia, liczba podanych komórek lub zawieszenie komórek w różnych roztworach (PBS lub matrigel) ma wpływ na zdolność do tworzenia przez komórki kolonii wtórnych u myszy C57Bl/6J.

Metody: Mysiom C57Bl/6J podawano komórki mysiej melanomy skórnej B16F10 w następujących wariantach: 0,5 mln lub 1 mln komórek zawieszonych w PBS szczepiono śródskórnio; 0,5 mln lub 1 mln komórek zawieszonych w PBS szczepiono podskórnio; 0,5 mln lub 1 mln komórek zawieszonych w matrigelu szczepiono śródskórnio. Badano kinetykę wzrostu guza pierwotnego i gdy ten osiągnął rozmiar równy 10% masy ciała zwierzęcia, mysz poddawano eutanazji. Następnie przeprowadzono analizę histologiczną kluczowych organów, tj. węzłów chłonnych, płuc, wątroby i śledziony, w celu potwierdzenia lub wykluczenia obecności przerzutów.

Wyniki: Nie zaobserwowano przerzutów w żadnym organie u myszy, którym podano komórki zawieszone w PBS, bez względu na ich liczbę czy miejsce szczepienia. Większa ilość komórek (1 mln) zawieszonych w matrigelu skutkowała pojawieniem się komórek B16F10 w węzłach chłonnych myszy, natomiast po podaniu 0,5 mln komórek powstały przerzuty w wątrobie. Najprawdopodobniej jest to spowodowane faktem, że matrigel usprawnia formowanie naczyń krwionośnych, co ułatwia wyjście komórek z guza pierwotnego.

Wnioski: W celu zwiększenia ilości pojawiających się przerzutów należy poprawić unaczynienie guza i spowolnić jego wzrost na przykład przez podanie mniejszych ilości komórek nowotworowych.

ALEKSANDER TRĄBKA-ZAWICKI*, BARTŁOMIEJ GUZIK*,
PAWEŁ MATUSIK**, KRZYSZTOF ŻMUDKA*

WPLYW TERAPEUTYCZNEJ HIPOTERMII NA STAN KLINICZNY ORAZ PARAMETRY MORFOTYCZNE I BIOCHEMICZNE KRWI OBWODOWEJ U PACJENTÓW PO NAGŁYM ZATRZYMANIU KRAŻENIA

AFILIACJA: * Klinika Kardiologii Interwencyjnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Wstęp: Hipotermia terapeutyczna (MTH) poprawia rokowanie neurologiczne pacjentów po pozaszpitalnym zatrzymaniu krążenia (OHCA). Celem badania było określenie wpływu MTH na stan kliniczny, parametry morfotyczne i biochemiczne krwi obwodowej.

Metodologia: Badaniu poddano pacjentów z OHCA o prawdopodobnej etiologii sercowo-naczyniowej, u których zastosowano MTH lub standardową terapię medyczną (grupa kontrolna). Krew obwodową oraz stan kliniczny oceniano przy przyjęciu oraz w kolejnych odstępach czasowych.

Wyniki: Do badania zakwalifikowano 22 pacjentów (20 mężczyzn, w wieku 58 ± 12 lat), u których zastosowano MTH. Grupę kontrolną stanowiło 13 pacjentów nieróżniących się pod względem płci i wieku (mężczyźni, w wieku 65 ± 16 lat; NS). Korzystny wynik neurologiczny (Cerebral Performance Category-CPC = 1) uzyskało 45% chorych w grupie MTH oraz 38% pacjentów kontrolnych. Zaobserwowano stałą tendencję wzrostową poziomu fibrynogenu tylko w grupie kontrolnej. W okresie 12–24 godz. od przyjęcia poziom fibrynogenu w grupie kontrolnej wynosił $3,8 \pm 1$ g/l, natomiast w grupie MTH $2,9 \pm 0,9$ g/l ($p=0,053$). U pacjentów poddanych angioplastyce wieńcowej poziom płytek krwi (PLT) oraz hemoglobiny wykazał trend spadkowy w ciągu 72–84 godzin od przyjęcia. W liczniejszej podgrupie, w której zastosowano MTH, poziom PLT w tym okresie okazał się istotnie niższy w stosunku do wartości wyjściowych (183 ± 50 v. 120 ± 44 tys./ μ l; $p=0,01$; $n=12$). Nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniu hemoglobiny (NS) oraz częstości występowania zapalenia płuc w trakcie hospitalizacji (55% v. 31%; $p=0,3$) odpowiednio w grupie MTH i grupie kontrolnej.

Wnioski: W okresie MTH po nagłym zatrzymaniu krążenia może występować zmniejszone krzepnięcie krwi. Nie wykazano istotnego wpływu MTH na zmiany ilości PLT i stężenia hemoglobiny, które jednak wykazują tendencje spadkowe we wczesnym okresie po nagłym zatrzymaniu krążenia u chorych poddanych angioplastyce wieńcowej.

MARCIN WALIGÓRA, ANNA TYRKA, GRZEGORZ KOPEĆ,
ANNA DYRAŁA, PIOTR PODOLEC

JAKOŚĆ ŻYCIA U PACJENTÓW Z TĘTNICZYM NADCIŚNIENIEM PŁUCNYM

AFILIACJA: Klinika Chorób Serca i Naczyń, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Wstęp: Tętnicze nadciśnienie płucne (PAH) jest postępującą chorobą związaną z objawami, które mogą w istotny sposób wpływać na jakość życia pacjentów (QoL). Celem badania było porównanie wybranych domen QoL w dwóch różnych populacjach PAH: u pacjentów z zespołem Eisenmengera (ES) oraz u pacjentów z idiopatycznym PAH (IPAH).

Metody: Do badania włączono kolejnych pacjentów z ES oraz IPAH, u których wcześniej nie stosowano leczenia swoistego dla PAH. Rekrutacja prowadzona była od sierpnia 2009 do października 2013 roku. QoL została oceniona za pomocą wystandaryzowanych kwestionariuszy, które uzyskały walidację dla populacji polskiej: 36-item Short Form Health Survey (SF-36) oraz Nottingham Health Profile (NHP). W analizie oceniono takie domeny jak funkcjonowanie fizyczne, funkcjonowanie społeczne, odczuwanie bólu, reakcje emocjonalne oraz ogólne poczucie zdrowia.

Wyniki: Do badania włączono 49 pacjentów: 31 z IPAH oraz 18 z ES. Pacjenci z IPAH byli starsi niż pacjenci z ES ($54,9 \pm 12,6$ v. $42,9 \pm 14,4$ lat; $p=0,02$). Grupy nie różniły się pod względem struktury płci (11 mężczyzn z IPAH v. 10 w grupie ES; $p=0,28$). Domena funkcjonowania fizycznego była bardziej upośledzona u pacjentów z IPAH niż w ES zarówno w NHP ($2,9 \pm 2,21$ v. $1,39 \pm 1,38$; $p=0,02$) oraz w SF-36 ($30,26 \pm 11,97$ v. $20,78 \pm 10,68$; $p=0,006$). Ponadto pacjenci z IPAH w porównaniu do ES deklarowali wyższe odczuwanie bólu w NHP ($1,61 \pm 1,75$ v. $0,67 \pm 1,33$; $p=0,027$) oraz w SF-36 ($4,00 \pm 2,66$ v. $2,06 \pm 2,21$; $p=0,014$). Nie zaobserwowano różnic w odczuwaniu reakcji emocjonalnych (NHP: odpowiednio $1,9 \pm 1,94$ v. $1,44 \pm 1,95$; $p=0,35$; SF-36: odpowiednio $5,65 \pm 6,92$ v. $4,44 \pm 5,91$; $p=0,66$), funkcjonowaniu społecznym (NHP: odpowiednio $0,32 \pm 0,7$ v. $0,39 \pm 0,7$; $p=0,59$; SF-36: odpowiednio $2,35 \pm 2,27$ v. $1,67 \pm 2,08$; $p=0,28$) oraz ogólnym poczuciu zdrowia (SF-36: odpowiednio $12,03 \pm 2,6$ v. $12,28 \pm 2,54$; $p=0,48$) pomiędzy grupami.

Wnioski: QoL u pacjentów z IPAH jest bardziej upośledzona niż u chorych z ES w aspekcie aktywności fizycznej oraz odczuwania bólu.

ANNA WASIELEWSKA, MONIKA RUDZIŃSKA, ANDRZEJ SZCZUDLIK

ZESPOŁY BÓLOWE W CHOROBY PARKINSONA

AFILIACJA: Klinika Neurologii, Szpital Uniwersytecki, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Choroba Parkinsona (PD) jest chorobą zwyrodnieniową układu nerwowego, charakteryzującą się zaburzeniami głównie ruchowymi, jak bradykineza, sztywność, drżenie oraz zaburzenia postawy. W PD wyróżniamy 5 kategorii bólu: mięśniowo-szkieletowy, neuropatyczny, dystoniczny, ośrodkowy lub psychogeny. Około 50% pacjentów z parkinsonizmem z towarzyszącym bólem stosuje leczenie przeciwbólowe przynajmniej raz w miesiącu. To jednak świadczy dużym i niezbadanym problemie, jakim jest ból w chorobie Parkinsona.

Cele badania: Ocena częstości występowania i charakterystyki różnych rodzajów przewlekłego bólu w chorobie Parkinsona. Ocena współistnienia zaburzeń czucia powierzchniowego i głębokiego oraz zmian w zakresie potencjałów somatosensorycznych w obszarze lokalizacji bólu i ich związku z bólem. Ocena zależności występowania i nasilenia bólu od stadium i nasilenia choroby Parkinsona oraz od leczenia lewodopą. Ocena zależności występowania i nasilenia bólu od obecności i nasilenia objawów depresyjnych i lękowych.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono u chorych z rozpoznaniem PD leczonych w Poradni lub Oddziale Klinicznym Kliniki Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Zebrano wywiad dotyczący PD oraz leczenia lewodopą i innymi lekami przeciwparkinsonowskimi, DBS i leczenia chirurgicznego PD. Zebrano wywiad dotyczący bólu pod kątem: lokalizacji, czasu trwania, nasilenia, jego charakteru w stanach *on* i *off* w PD. Każdego chorego zbadano neurologicznie z oceną zaburzeń czuciowych. Zaburzenia ruchowe oceniono za pomocą skali UPDRS, a zaburzenia bólowe skalami VAS i LANSS. Każdego pacjenta zbadano metodą wywołanych potencjałów somatosensorycznych (SEP). Objawy depresyjne oceniono testem Hamiltona. W celu wykluczenia zaburzeń obwodowego układu nerwowego wykonano badanie EMG.

Wyniki: Zbadano 100 osób z PD i z towarzyszącym bólem oraz 19 z PD bez bólu. Zdecydowana większość osób skarżyła się na ból mięśniowo-szkieletowy. Pozostali zgłaszali głównie ból dystoniczny i centralny.

ANNA WASIK*, ANNA PARTYKA*, MAGDALENA JASTRZĘBSKA-WIĘSEK*,
MONIKA MARCINKOWSKA*, GRZEGORZ KAZEK*,
MARCIN KOŁACZKOWSKI*/**, MACIEJ PAWŁOWSKI*, ANNA WESOŁOWSKA*

PRZECIWDEPRESYJNA AKTYWNOŚĆ ADN-1319, NOWEGO ANALOGU ARYPIPAZOLU, W TEŚCIE WYMUSZONEGO PŁYWANIA U MYSZY

AFILIACJA: * Zakład Farmacji Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Firma Farmaceutyczna Adamed sp. z o.o., Czosnów k/Warszawy

Mimo intensywnie rozwijającej się opieki medycznej farmakoterapia chorób psychiatrycznych, tj. schizofrenii, depresji, lęku, jest nieefektywna u 30% pacjentów. Dodatkowym czynnikiem obniżającym efektywność leczenia jest współistnienie objawów dwóch lub więcej jednostek nozologicznych. Zaburzenia afektu w przebiegu schizofrenii stanowią wyzwanie dla poszukiwania skutecznych i bezpiecznych neuroleptyków, posiadających dodatkową aktywność przeciwdepresyjną. Jedną z możliwych dróg poszukiwania takich leków jest opracowanie związków o multireceptorowym profilu działania (D2, 5-HT1A, 5-HT2A, 5-HT6, 5-HT7). Związkiem o powyższym mechanizmie działania jest ADN-1319. W badaniach powinowactwa metodą radioreceptorową ADN-1319 wykazuje wysokie powinowactwo do receptorów D2, 5-HT1A, 5-HT2A, 5-HT6 (wartości K_i odpowiednio: 1,3 nM, 0,8 nM, 3,2 nM, 0,4 nM) oraz umiarkowane do receptorów 5-HT7 ($K_i=67$ nM). Aktywność przeciwdepresyjną oszacowano w teście Porsolta u myszy i porównano z działaniem arypiprazolu, atypowego neuroleptyku zastosowanego jako związek referencyjny. ADN-1319 w dawce 2,5 mg/kg powodował istotną (o 25%) w stosunku do kontroli redukcję czasu bezruchu u myszy, podczas gdy arypiprazol zastosowany w dawkach 0,03 i 0,06 mg/kg nie wykazał działania w tym teście. Łączne podanie ADN-1319 w subefektywnej dawce 1,25 mg/kg z imipraminą w dawce podprogowej (5 mg/kg) wywołało efekt synergistyczny w postaci skrócenia czasu bezruchu u myszy w porównaniu do kontroli (o 25%). Analogiczny efekt obserwowano podczas łącznego podania subefektywnych dawek arypiprazolu (0,03 i 0,06 mg/kg) z imipraminą (5 mg/kg), tj. skrócenie czasu bezruchu u myszy odpowiednio o 33% i 45%. ADN-1319 ze względu na swój multireceptorowy profil działania i potencjalną aktywność przeciwdepresyjną u myszy ma szansę znaleźć zastosowanie w leczeniu schizofrenii i/lub depresji.

MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ, AGNIESZKA WRÓBEL,
DOMINIKA STETTNER

OCENA DERMOSKOPOWA AKRALNYCH ZMIAN MELANOCYTOWYCH

AFILIACJA: Katedra i Klinika Dermatologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Streszczenie: Dermoskopia jest nieinwazyjną metodą umożliwiającą szybką diagnostykę różnicową zmian melanocytowych wymagających wycięcia chirurgicznego od zmian łagodnych poddawanych okresowej kontroli. W okolicach akralnych budowa anatomiczna skóry determinuje unikalny wygląd obrazów dermoskopowych zmian melanocytowych. Wzorce dermoskopowe okolic akralnych dzieli się na wzorce charakterystyczne dla zmian łagodnych: równoległy, typu kratka, włókienkowy oraz złośliwych: równoległy pogrubiały i typu rozlanej pigmentacji.

Cel pracy: Analiza porównawcza obrazów wzorców dermoskopowych występujących w okolicach akralnych u pacjentów badanych w Klinice Dermatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Materiał i metody: Analizie poddano obrazy dermoskopowe zmian melanocytowych występujących na podeszwach stóp oraz na dłoniach pacjentów rasy kaukaskiej. Zbadano rodzaje wzorców, częstość występowania, zależność typu od lokalizacji na skórze podeszew stóp.

Wyniki: Na podeszwach stóp najczęściej występowały kolejno następujące wzorce dermoskopowe: typu kratka, włókienkowy, równoległy. Wzorzec włókienkowy występował najczęściej w okolicy niosącej ciężar, wzorzec typu kratka w okolicy łuku, wzorzec równoległy w okolicach innych. Dodatkowo wykryto wzorce przemawiające za złośliwym charakterem zmian. Na dłoniach wyniki były następujące: najczęstszy był wzorzec typu kratka, kolejny wzorzec równoległy oraz siateczkowaty. Większość zmian melanocytowych (2/3) zlokalizowana była na skórze powierzchni dłoni, 1/3 na skórze powierzchni dłoniowej palców.

Wnioski: W badanej populacji najczęściej występującymi wzorcami są wzorce typu kratka i równoległy. Przeważająca większość analizowanych akralnych zmian melanocytowych wykazywała cechy zmian łagodnych. Wykazano zależność pomiędzy występowaniem wzorca a lokalizacją zmiany melanocytowej na podeszwie stopy i dłoniach.

BARBARA WIDLIŃSKA, MARCIN WALIGÓRA, ANNA TYRKA,
GRZEGORZ KOPEĆ, PIOTR PODOLEC

ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY WYDOLNOŚCIĄ FIZYCZNĄ A STRUKTURĄ I FUNKCJĄ PRAWEJ KOMORY SERCA U PACJENTÓW Z ZAKRZEPOWO-ZATOROWYM NADCIŚNIENIEM PŁUCNYM (CTEPH)

AFILIACJA: Klinika Chorób Serca i Naczyń, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Cel: Nadciśnienie płucne jest związane z kompensacyjnym przerostem i zmniejszeniem kurczliwości prawej komory serca. Celem pracy była ocena zależności między masą i funkcją skurczową prawej komory a wydolnością wysiłkową u pacjentów z przewlekłym zakrzepowo-zatorowym nadciśnieniem płucnym (CTEPH).

Metodologia: Do badania włączono 10 kolejnych chorych (6 kobiet i 4 mężczyzn) z CTEPH. Masę i frakcję wyrzutową prawej komory serca oceniano badaniem rezonansu magnetycznego. Do oceny wydolności fizycznej pacjentów użyto 6-minutowego testu marszu oraz testu ergospirometrycznego.

Wyniki: Średni wiek pacjentów wynosił 58,5 lat (53–73). U wszystkich pacjentów funkcja skurczowa lewej komory była prawidłowa (EF 59,5%, mediana 51–69). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy czynnością skurczową i masą lewej komory a wydolnością fizyczną ($p > 0,05$). Średnia masa RV 79,5 g (29–90), maksymalne zużycie tlenu na szczycie wysiłku ($V_{O_{2max}}$) wynosiło 11,15 ml/kg/min (7,9–12,7). Średni dystans marszu wynosił 315 m (252–384). Wykazano istotną korelację pomiędzy $V_{O_{2max}}$ i masą RV ($r = -0,62$; $p = 0,05$), a także frakcją wyrzutową prawej komory ($r = 0,8$; $p < 0,05$). Nie stwierdzono związku między dystansem w teście 6-minutowego marszu a masą i objętością prawej komory ($p > 0,05$).

Wnioski: Przerost prawej komory oraz jej zmniejszona frakcja wyrzutowa są związane ze zmniejszoną wydolnością fizyczną u pacjentów z CTEPH.

ALEKSANDRA WIECZOREK

WPLYW PSYCHOTERAPII WGLĄDOWEJ NA POSTRZEGANIE WIĘZI WCZESNODZIECIĘCEJ U PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI OSOBOWOŚCI

AFILIACJA: Zakład Terapii Rodzin, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Szpital im. J. Babińskiego w Krakowie

Badanie przeprowadzone zostało przy użyciu kwestionariuszy, m.in.: Parental Bonding Instrument, Ustrukturyzowanego Wywiadu SCID-II oraz Ankiety Życiorysowej, wśród pacjentów z kliniczną diagnozą zaburzeń osobowości leczonych w Ośrodku Psychoterapii Dorosłych Dzieci Alkoholików Krakowskiego Centrum Terapii Uzależnień (OP DDA) oraz w Oddziale Leczenia Zaburzeń Osobowości i Nerwic Szpitala Specjalistycznego im. J. Babińskiego w Krakowie (OLZOiN).

Główne pytania badawcze: 1. Czy istnieje specyficzny obraz więzi w badanej populacji? 2. Czy psychoterapia wglądowa ma wpływ na ten obraz? 3. Czy istnieją różnice pomiędzy różnymi grupami pod względem diagnozy i formy terapii? Pożądany obraz więzi wg PBI to: niska kontrola i wysoka opieka.

Wnioski: 1. Uzyskany w obu badanych grupach wzorzec kształtuje się podobnie: przewaga kontroli nad opieką u obu rodziców, ale oba parametry w przypadku ojca są o kilka punktów niższe. 2. U pacjentów leczonych w OP DDA terapia wpływa na postrzeganie przez nich więzi z rodzicami, natomiast w OLZOiN nie. Wśród pacjentów OP DDA w postrzeganiu relacji z matką wzrasta poczucie kontroli, a spada postrzeganie opieki i uzyskują oni te same wartości co pacjenci w OLZOiN. Postrzeganie relacji z ojcem jest bardziej stabilne i w obu badanych grupach nie ulega zmianie. 3. Badane grupy różnią się pomiędzy sobą, a zmiana obrazu więzi zależy od formy terapii oraz od diagnozy. Istotnie statystycznie zmiany stwierdzono w jednej z podgrup OP DDA, w tzw. grupie wyjazdowej, oraz wśród pacjentów z diagnozą nieokreślonych zaburzeń osobowości wg SCID-II.

AGNIESZKA WOJTANOWSKA-KROŚNIAK

TEST TOLERANCJI INSULINY W DIECIE Z DUŻĄ ZAWARTOŚCIĄ FRUKTOZY

AFILIACJA: Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Fruktoza, czyli cukier owocowy, uważana była za substytut cukru dla diabetyków między innymi z powodu niskiego indeksu glikemicznego i większej siły słodzącej niż glukoza. Jednakże wyniki badań naukowych dowodzą, iż fruktoza przyczynia się do wzrostu insulinooporności, a tym samym cukrzycy. Badania eksperymentalne na szczurach wskazują na wysokie prawdopodobieństwo wywołania insulinooporności u zwierząt po podaniu fruktozy w diecie.

Celem przeprowadzonego eksperymentu było sprawdzenie, czy zwiększy się i po jakim czasie wzrośnie insulinooporność oraz poziom glukozy we krwi u szczurów rasy Wistar, co świadczyć będzie o początkowym stadium cukrzycy.

Metodologia: Szczury rasy Wistar otrzymywały do picia 10% roztwór fruktozy przez 8, 10 i 11 tygodni. Dzień przed badaniem połowa szczurów była głodzona, a druga otrzymywała pokarm i fruktozę do picia. W dniu eksperymentu wszystkie szczury otrzymały dożołądkowo 50% roztwór glukozy. Dodatkowo w każdej z grup połowa szczurów otrzymywała dootrzewnowo insulinę w dawce 2 U/kg masy ciała. Następnie zmierzono poziom glukozy we krwi pobranej z ogona po czasie 0, 30, 60, 120, 180 i 240 min. przy użyciu glukometru. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie.

Wyniki: Statystyczny wzrost poziomu glukozy we krwi oraz insulinooporności wystąpił po 11 tygodniach podawania fruktozy.

Wnioski: Potwierdzono możliwość wykorzystania fruktozy do wywoływania insulinooporności i cukrzycy u szczurów rasy Wistar dla potrzeb planowanego eksperymentu. Minimalny czas potrzebny do statystycznego wywołania wzrostu poziomu glukozy we krwi oraz insulinooporności wynosi 11 tygodni.

AGNIESZKA WRÓBEL, JACEK SKŁADZIEN, KRZYSZTOF OLEŚ,
DOMINIKA STETTNER, MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ

IgG4 RELATED DISEASE – DIAGNOSTYKA I LECZENIE GUZÓW OCZODOŁU

AFILIACJA: Katedra i Klinika Otolaryngologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

IgG4 related disease jest ostatnio zidentyfikowanym schorzeniem układu immunologicznego, charakteryzującym się odczynem zapalnym w zaatakowanych organach. Schorzeniu często towarzyszy wzrost IgG4 w surowicy. Przyczyna tego schorzenia pozostaje nieznana. IgG4-RD pozostaje trudna do zdiagnozowania z powodu braku jej znajomości przez klinicystów, radiologów, patomorfologów oraz mnogość narządów, które może zaatakować.

Cel pracy: Rozpoznanie „IgG4-RD” u pacjentów operowanych z powodu guzów oczodołu w Klinice Laryngologii w Krakowie oraz ocena skuteczności leczenia konwencjonalną sterydoterapią.

Materiał i metoda: Przeanalizowano zarówno retrospektywnie, jak i prospektywnie na przestrzeni ostatnich 11 lat chorych operowanych w naszej Klinice z powodu guzów oczodołu, oceniając możliwość występowania choroby IgG4-zależnej w obrębie oczodołu.

Wyniki: Analizowaną grupę wyjściową stworzono spośród 167 pacjentów cierpiących na izolowane choroby naciekowo-guzowate w obrębie oczodołu, leczonych w Klinice ORL CM UJ w Krakowie. Ze wszystkich badanych i analizowanych pacjentów ostatecznie wyselekcjonowano 3 podstawowe grupy, które poddano diagnostyce w kierunku choroby IgG4-zależnej. U wszystkich pacjentów z rozpoznaniem guzem rzekomym potwierdzono IgG4 RD, u ok. połowy pacjentów z chłoniakiem typu MALT stwierdzono kryteria spełniające rozpoznanie IgG4 RD, natomiast u żadnego z pacjentów z rozpoznaniem naciekiem limfocytarno-plazmatycznym nie potwierdzono rozpoznania IgG4 RD.

Wnioski: Najczęściej rozpoznawanymi łagodnymi zmianami w obrębie oczodołu są psuedoguzy. Występowanie pseudoguzów zapalnych skorelowane jest z IgG4RD. IgG4RD może służyć jako tło do rozwoju chłoniaka typu MALT, nie jest powiązane natomiast z naciekiem limfocytarno-plazmatycznym w obrębie oczodołu. Rozpoznanie IgG4RD jest istotne, gdyż wymaga włączenia sterydoterapii na odpowiednio wczesnym etapie choroby, a u pacjentów wykazujących sterydooporność leczenia rituksymabem. Konwencjonalna sterydoterapia tylko u nielicznych pacjentów daje pożądane efekty leczenia.

AGNIESZKA ZABIEGAŁA, RADOSŁAW ŚPIEWAK

ANALIZA ŚRODOWISKOWYCH CZYNNIKÓW RYZyka ROZWOJU ALERGII KONTAKTOWEJ NA SKŁADNIKI KOSMETYKÓW

AFILIACJA: Zakład Dermatologii Doświadczalnej i Kosmetologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Alergia kontaktowa występuje u 10–40% wszystkich dorosłych i 13–25% dzieci. Czynniki uczulającymi na drodze bezpośredniego kontaktu ze skórą są substancje chemiczne o małej masie cząsteczkowej (hapteny). Wydaje się, że kosmetyki należą do najważniejszych źródeł środowiskowego narażenia na uczulające hapteny.

Celem pracy było oszacowanie skali narażenia na uczulające hapteny z kosmetyków.

Materiał i metoda: Poddaliśmy analizie deklarowany skład 1846 produktów kosmetycznych dostępnych w okresie od sierpnia do listopada 2013 roku w marketach oraz drogeriach na terenie Krakowa. Analizowane preparaty podzieliśmy na preparaty przeznaczone dla dzieci oraz dorosłych, a ponadto na preparaty *leave-on* (pozostawiane na skórze, np. balsamy, oliwki) oraz *rinse-off* (spłukiwane po użyciu, np. szampony). Na podstawie baz danych Cosing, Cosmetic Analysis oraz Environmental Working Group (EWG) Skin Deep Cosmetic Database dokonaliśmy analizy funkcji poszczególnych składników preparatów. Zidentyfikowane składniki produktów kosmetycznych przeanalizowaliśmy pod kątem znanego z literatury działania uczulającego na podstawie kwerendy w bazach bibliograficznych PubMed, Embase, Scopus, Google Scholar, Web of Knowledge. Na podstawie przeprowadzonej analizy ustaliliśmy częstość występowania składników o znanym potencjale uczulającym w analizowanych grupach kosmetyków.

Wyniki: Do najczęściej występujących w kosmetykach składników zapachowych o znanym działaniu uczulającym należy geraniol, obecny w 19,3 % analizowanych produktów *leave-on*, 9,7 % produktów *rinse-off*, 14,5 % produktów dla dorosłych, 2,3 % produktów dla dzieci, a następnie lilial (odpowiednio 22,4%, 26,5%, 30,9%, 2,5%), limonen (35,2%, 39,9%, 45,9%, 8,2%) i salicylan benzylu (14,4%, 15,3%, 18,2%, 2%). Analizy pozostałych kategorii składników

kosmetyków (konserwanty, barwniki, filtry słoneczne itd.) jeszcze się nie zakończyły.

Wnioski: Kosmetyki są istotnym czynnikiem narażenia środowiskowego na uczulające hapteny.

IWONA ZACZYK

OCENA JAKOŚCI ŻYCIA LUDZI STARSZYCH OBJĘTYCH OPIEKĄ PIELĘGNIARKI ŚRODOWISKOWEJ – ANALIZA PORÓWNAWCZA ŚRODOWISKA DUŻEGO I ŚREDNIEJ WIELKOŚCI MIASTA NA PRZYKŁADZIE KRAKOWA I NOWEGO SĄCZA

AFILIACJA: Zakład Socjologii Medycyny, Katedra Epidemiologii i Medycyny Zapobiegawczej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Zachodzące zmiany w strukturze ludności Polski i w innych krajach europejskich implikują wzrost popytu na kompleksową opiekę medyczną, której odbiorcami są osoby starsze, w szczególności na świadczenia pielęgnacyjno-opiekuńcze.

Cel: Ocena jakości życia ludzi starszych korzystających z opieki pielęgniarki środowiskowej oraz jej porównanie w dwóch odmiennych środowiskach dużego i średniej wielkości miasta na przykładzie Krakowa i Nowego Sącza.

Materiał i metody: Badaniem objęto grupę 122 osób w wieku 75 i więcej lat, korzystających z opieki pielęgniarki środowiskowej w swoim miejscu zamieszkania w ciągu ostatnich sześciu miesięcy. 43 osoby pochodziły z Krakowa, a 79 z Nowego Sącza. W przeprowadzonych wywiadach posłużono się kwestionariuszem WHOOL-BREF.

Wyniki. Wśród badanych były 83 kobiety (68%) i 39 mężczyzn (32%). Średnia arytmetyczna wieku badanych wyniosła 81,4 lat. Badani ocenili swoją jakość życia na poziomie średnim. Najwyższe wyniki respondenci uzyskali w wymiarze relacji ze środowiskiem, a najniższe w wymiarze psychologicznym ($SD=15,6$ v. $SD=12,8$). We wszystkich ocenianych wymiarach wyższe wyniki uzyskali mężczyźni, jak również pacjenci z Nowego Sącza. Również wyższą ogólną ocenę jakości życia oraz ogólne zadowolenie ze zdrowia deklarowali mieszkańcy Nowego Sącza. Wykazano, że wraz z wiekiem istotnie statystycznie zmniejsza się ogólna jakość życia badanych oraz ogólne zadowolenie ze zdrowia. Zaobserwowano również istotną statystycznie różnicę w zależności od stopnia samodzielności w życiu codziennym w relacjach ze środowiskiem.

Wnioski. Wykazano, iż jakość życia osób starszych zmienia się w zależności od wieku, stanu zdrowia oraz stopnia samodzielności. Również płeć stanowi istotny predyktor pomyślnej oceny jakości życia, co oznacza, że starsi mężczyźni deklarują lepszą ocenę swojego życia.

WALDEMAR ZAWADA

SPRAWNOŚĆ NARZĄDU RUCHU A UPADKI U CHORYCH GERIATRYCZNYCH Z NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA

AFILIACJA: Oddział Chorób Wewnętrznych i Toksykologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Populacja ludzi starszych cechuje się największą śmiertelnością oraz niepełnosprawnością w następstwie upadków. Częstość występowania niewydolności serca wzrasta wraz z wiekiem oraz zwiększoną przeżywalnością osób leczonych z powodu chorób prowadzących do rozwoju niewydolności krążenia, jak choroba niedokrwienna i zawał serca, nadciśnienie tętnicze. Stwierdzony w przebiegu niewydolności serca wzrost stężenia cytokin prozapalnych może przyczyniać się do upośledzenia czynności narządu ruchu.

Celem pracy jest ocena, czy niewydolność serca – bezpośrednio lub pośrednio, poprzez sprawność narządu ruchu – istotnie wpływa na częstość upadków wśród chorych na nią pacjentów.

Badaniem zostało objętych 29 chorych (docelowo około 60) ze zdiagnozowaną niewydolnością serca, bez upadku w roku poprzedzającym badanie. Po upływie jednego roku badanie zostanie powtórzone. U każdego z pacjentów przeprowadzono wywiad zawierający podstawowe dane, m.in. informacje na temat przebiegów i aktualnych chorób, stosowanych leków oraz aktualnych dolegliwości, a także dane szczegółowe co do rozpoznania niewydolności serca, sprawności funkcjonalnej pacjenta (skale oceny podstawowych i złożonych czynności życia codziennego – ADL i IADL) oraz jego nastawienia psychicznego. Sprawność fizyczną oceniano przy pomocy Skali Berga, Get Up and Go Test, Testu Marszu 6-minutowego oraz oceny aktywności fizycznej przy użyciu krokomierza. Metodą oceny siły mięśniowej była Skala Lovetta oraz Ocena Siły Uścisku Dłoni (Hand-Grip). Do oceny równowagi zostanie użyta Platforma Balansowa. Do szczegółowej analizy chodu zostanie zastosowany BTS Smart System. Monitorowanie częstości upadków prowadzone jest na bieżąco.

Wstępne wyniki badań pokazują istotny wpływ niewydolności serca na sprawność narządu ruchu i w konsekwencji częstsze incydenty upadków u pacjentów. Ostateczne wyniki i wnioski mogą być zaprezentowane po zaplanowanych badaniach oceny równowagi i trójwymiarowej analizy chodu.

ABSTRAKTY

– *suplement* –

MONIKA CEMPA

EPIDEMIOLOGIA I PREWENCJA BORELIOZY Z LYME WYWOŁANEJ PRZEZ KRĘTKI BORRELIA SP. PRZENOSZONEJ PRZEZ KLESZCZE NA TERENIE OJCOWSKIEGO PARKU NARODOWEGO

AFILIACJA: Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cel pracy: Określenie związku pomiędzy świadomością zagrożenia zakażeniem boreliozą mieszkańców i pracowników OPN a rzeczywistym ryzykiem ekspozycji na ukąszenia przez kleszcze na terenie Parku.

Problemy badawcze: 1. określenie aktualnej średniej liczebności kleszcza *Ixodes ricinus* na terenie OPN; 2. określenie tendencji liczby ukąszeń na terenie OPN (rosnąca lub malejąca) w latach 2011–2013; 3. określenie czynników podnoszących ryzyko ukąszeń przez kleszcze; 4. określenie zależności pomiędzy stanem wiedzy a zachowaniami prewencyjnymi; 5. określenie efektów działań prewencyjnych.

Metody: sondaż diagnostyczny (arkusz ankiety), metoda pól badawczych (liczebność kleszczy).

Wyniki: 1. Średnia liczebność kleszcza z gatunku *Ixodes ricinus* jest różna w zależności od wybranego pola badawczego (kleszcze rozmieszczone nierównomiernie, łowione w wiosennych i jesiennych szczytach aktywności, najwyższe wyniki: Dolina Zachwytu 74 osobników/100m², Dolina Sąpowska 69 osobników/100m²). 2. Istnieje tendencja wzrostowa ukąszeń przez kleszcze na terenie OPN (istotne różnice pomiędzy latami 2010, 2011 i 2012). 3. Istotnym czynnikiem ryzyka jest praca w bezpośrednim kontakcie z przyrodą. Brak zależności pomiędzy płcią, wiekiem a ukąszeniami przez kleszcze. Istnieje zależność pomiędzy zdiagnozowaniem boreliozy a byciem pracownikiem OPN (leśnicy, przewodnicy). 4. Nie stwierdza się zależności pomiędzy poziomem wiedzy na temat boreliozy/kleszczy a stosowanymi zachowaniami prewencyjnymi. 5. Istnieje zależność pomiędzy sprawdzaniem ciała pod kątem ukąszenia przez kleszcza a częstością ukąszeń. Brak zależności między stosowanymi zachowaniami prewencyjnymi a częstością ukąszeń.

Wnioski: 1. Wzrost średniej liczebności kleszczy i ich ukąszeń na terenie OPN. 2. Podejmowane zachowania prewencyjne nie zapewniają ochrony przed ukąszeniami kleszczy. 3. Poziom wiedzy na temat zagrożenia ukąszeniami kleszczy i ryzykiem zakażenia boreliozą jest najczęściej określany jako niski/średni. Jest to poziom niewspółmierny do ryzyka ekspozycji i ryzyka ukąszenia. Obawa przed zachorowaniem na boreliozę jest istotnie zależna statystycznie od poziomu wiedzy na jej temat.

KATARZYNA PACZKOWSKA, HONG HUAT HOH, KATARZYNA PIĄTEK,
ADRIANNA BECZEK

REMODELING KOMÓRKOWY I MACIERZY ZEWNĄTRZ-KOMÓRKOWEJ W BLASZKACH MIAŻDŻYCOWYCH MYSZY *APOE/LDLR-DOUBLE KNOCKOUT* KARMIONYCH DIETĄ NISKOWĘGLOWODANOWĄ I WYSOKOBIAŁKOWĄ ORAZ DIETĄ ZACHODNIĄ

AFILIACJA: Katedra Histologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Żywienie ma znaczący wpływ na rozwój miażdżycy. Celem pracy było zbadanie różnic składu komórek i macierzy zewnątrzkomórkowej w blaszkach miażdżycowych myszy z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E i receptora LDL (*apoE/LDLR-double knockout*), karmionych dietą niskowęglowodanową, wysokobiałkową (LCHP) oraz dietą zachodnią.

Materiały i metody: Czteromiesięczne myszy *apoE/LDLR-double knockout* karmiono: 1. dietą -AIN-93G, normalną (AIN; n=6), 2. dietą LCHP (węglowodany – 17%, białka – 52%, tłuszcze – 21%; n=6), 3. dietą zachodnią (węglowodany – 50%, białka – 20%, tłuszcze – 21%; n=6). Sześciomiesięczne myszy zabito. Wypreparowane serca z aortą wstępującą poddano szybkiemu mrożeniu (*snap-freezing*). W seryjnych, 10µm skrawkach aorty wybarwiono: lipidy – czerwienią oleistą O, kolagen – czerwienią syriuszową, proteoglikany – błękitem alcjańskim, włókna elastyczne – rezorcyną-fuksyną i depozyty mineralne – czerwienią alizarynową. Wykonano barwienia immunohistochemiczne: CD68 na makrofagi, aktyny gładkomięśniowej na mięśnie gładkie, dodatkowo – osteopontynę i kolagen typu II. Całkowity obszar zajęty przez tłuszcze i włókna kolagenowe oraz liczba makrofagów w blaszkach miażdżycowych posłużyły do zdefiniowania miażdżycy. Obszary określonych komórek i macierzy zewnątrzkomórkowej oceniono, stosując odpowiednie oprogramowanie komputerowe.

Wyniki: Barwienia ujawniły zaawansowaną miażdżycę u myszy karmionych dietą zachodnią i jeszcze bardziej rozwiniętą u myszy na diecie LCHP. Nie zaobserwowano różnic w zawartości i dystrybucji mięśni gładkich, depozytów mineralnych czy włókien elastycznych neointymy. Charakterystyczne ukształtowanie włókien elastycznych – typowe dla blaszek niestabilnych występowało

we wszystkich badanych grupach. Zawartość proteoglikanów była wyższa w grupie kontrolnej. Brak różnic w dystrybucji kolagenu typu II i osteopontyny pomiędzy grupami.

Wnioski: Badanie wykazało strukturalne odmienności w składzie blaszek miażdżycowych u myszy *apoE/LDLR-double knockout* poddanych terapii doksycyliną. Zaobserwowane różnice korelują z wcześniejszymi badaniami, ukazującymi istotny wpływ leczenia żywieniowego w miażdżycy.

MARTA OLSZEWSKA, MAŁGORZATA KOPEĆ, DARIA ROUBO,
KATARZYNA BO CZAR, MAŁGORZATA WÓJCIK, JERZY STARZYK

WPLYW SUBSTYTUCJI/FARMAKOTERAPII LUDZKIM REKOMBINOWANYM HORMONEM WZROSTU NA GOSPODARKĘ LIPIDOWĄ U DZIECI

AFILIACJA: * Studenckie Koło Naukowe, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński;
** Klinika Endokrynologii Dzieci i Młodzieży, Katedra Pediatrii, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: W przeciwieństwie do endogennego hormonu wzrostu (GH), wpływ postaci egzogennej (rhGH) na metabolizm lipidów nie został do tej pory w pełni przebadany. Dane literaturowe są sprzeczne i nie obejmują łącznej analizy ani porównania leczenia substytucyjnego i farmakoterapii w różnych grupach pacjentów.

Cel pracy: Ocena wybranych parametrów gospodarki lipidowej u dzieci z somatotropinową niedoczynnością przysadki (IGHD), wielohormonalną niedoczynnością przysadki (MPHD), zespołem Turnera (TS) i zespołem Pradera-Williego (PWS) w trakcie podawania rhGH.

Metody: Analiza retrospektywna dokumentacji medycznej 98 pacjentów (średni wiek $9,21 \pm 3,6$) leczonych rhGH w latach 2004–2012.

Wyniki: W pierwszym roku terapii zaobserwowano znaczący wzrost wartości SDS dla wzrostu u pacjentów z TS ($-3,62 \pm 1,13$ v. $-2,38 \pm 1,16$; $p < 0,001$), IGHD ($-4,02 \pm 1,32$ v. $-2,82 \pm 0,96$; $p < 0,001$) oraz MPHD ($-3,91 \pm 1,18$ v. $-1,85 \pm 1,24$; $p < 0,001$). Średnie stężenie cholesterolu frakcji HDL zwiększyło się znacząco w PWS ($1,31 \pm 0,08$ v. $1,48 \pm 0,06$) oraz TS ($1,52 \pm 0,42$ v. $1,68 \pm 0,38$). Po dwóch latach stwierdzono istotny spadek wartości cholesterolu całkowitego dla całej badanej grupy ($4,22 \pm 0,7$ v. $4,49 \pm 0,91$; $p = 0,04$) oraz znaczny spadek cholesterolu frakcji LDL w IGHD ($2,54 \pm 0,63$ v. $2,23 \pm 0,65$; $p = 0,04$). rhGH nie wpłynął znacząco na stężenia trójglicerydów. Zaobserwowano wzrost stężenia glukozy w IGHD ($4,35 \pm 0,92$ v. $4,89 \pm 2,32$; $p = 0,01$) i MPHD ($3,55 \pm 0,98$ v. $4,36 \pm 0,39$; $p = 0,02$), a także istotny spadek fT4 w IGHD ($15,41 \pm 2,25$ v. $13,97 \pm 2,83$; $p = 0,02$).

Wnioski: rhGH powoduje poprawę profilu lipidowego, głównie cholesterolu frakcji HDL i LDL, bez wpływu na poziom trójglicerydów. Należy jednak zwrócić szczególną uwagę na potencjalnie niekorzystny wpływ rhGH na metabolizm glukozy i hormonalną czynność tarczycy.

ELŻBIETA WEŁNA, MONIKA WIĘCKOWSKA, KARINA SZMYD,
ROXANNA CHASZCZYŃSKA, KLAUDIA LUSTYK

AKTYWNOŚĆ PRZECIWARYTMICZNA NOWYCH POCHODNYCH PIPERAZYNY W WYBRANYCH MODELACH ARYTMII

AFILIACJA: Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Zaburzenia rytmu serca wciąż pozostają jedną z podstawowych przyczyn nagłych zgonów wśród pacjentów cierpiących na choroby układu krążenia w krajach rozwiniętych. Ograniczona skuteczność oraz liczne działania niepożądane stosowanych leków antyarytmicznych, w tym szczególnie ich niebezpieczny potencjał proarytmiczny, są powodem ciągłego poszukiwania nowych potencjalnych leków.

Cel pracy: Celem badania było określenie właściwości antyarytmicznych dwóch nowych pochodnych piperazyny: HBK-16 i HBK-17 w wybranych modelach arytmii – indukowanej adrenaliną, chlorkiem baru oraz chlorkiem wapnia. Oba związki we wcześniejszych badaniach wykazały istotne powinowactwo do receptorów α_1 -adrenergicznych.

Metody: Aby określić profilaktyczne właściwości przeciwaritmiczne testowanych związków, badano ich aktywność w zaburzeniach rytmu serca indukowanych adrenaliną (20mg/kg i.v.), chlorkiem baru (32mg/kg i.v.) i chlorkiem wapnia (140mg/kg i.v.) oraz sprawdzono ich wpływ na prawidłowy elektrokardiogram u szczura *in vivo* po podaniu dootrzewnowym.

Wyniki: Przebadane związki: HBK-16 i HBK-17 wykazały profilaktyczną aktywność przeciwaritmiczną w arytmii indukowanej adrenaliną (HBK-16 – $ED_{50}=0,17$, HBK-17 – $ED_{50}=0,16$) silniejszą od karwedilolu ($ED_{50}=0,69$). Oba związki dodatkowo zmniejszały śmiertelność w modelu arytmii adrenergicznej. Żaden z testowanych związków nie wpływał na prawidłowy elektrokardiogram u szczura *in vivo* po podaniu dootrzewnowym. Ani związek HBK-16, ani HBK-17 nie wykazały aktywności antyarytmicznej w arytmii indukowanej chlorkiem baru oraz chlorkiem wapnia.

Wnioski: Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, iż oba testowane związki wykazują profilaktyczną aktywność przeciwaritmiczną w modelu arytmii adre-nalinowej silniejszą niż karwedilol i stanowią tym samym mocną podstawę do kontynuowania eksperymentów nad HBK-16 i HBK-17, pozwalających określić ich pełny profil farmakologiczny oraz bezpieczeństwo stosowania przy wielo-krotnym podaniu.

EDYTA STODÓLKIEWICZ, KRZYSZTOF ŻMUDKA,
ANTON CHRUSTOWICZ, MARCIN RZESZUTKO,
WOJCIECH SZCZEKLIK

AKTYWNOŚĆ PRZECIWARYTMICZNA NOWYCH POCHODNYCH PIPERAZYNY W WYBRANYCH MODELACH ARYTMII

AFILIACJA: * Katedra Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Klinika Kardiologii Interwencyjnej, Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Celem angioplastyki (PCI) w ostrym zawale serca (AMI) jest przywrócenie przepływu krwi w naczyniu dozawałowym. Pozostałe istotnie zwężone naczynia wieńcowe kwalifikuje się do odroczonej rewaskularyzacji. Dotychczas nie opracowano jednoznacznych wytycznych dotyczących optymalnego czasu zaopatrzenia pozostałych istotnie zwężonych naczyń w chorobie wielonaczyniowej (MVD).

Cel: Analiza poziomów leukotrienów (LTE4) i tromboksanu (TXB2), mediatorów prozakrzepowych i prozapalnych, uczestniczących w destabilizacji blaszki miażdżycowej i powstawaniu zakrzepu w naczyniu wieńcowym u pacjentów z AMI, w aspekcie kolejnego etapu rewaskularyzacji po pilnej angioplastyce w AMI.

Metody: LTE4 i TXB2 oznaczano z próbek moczu przy przyjęciu oraz po 1 i 12 miesiącach metodą spektrometrii masowej. U wszystkich pacjentów wykonano pilną PCI w AMI. U chorych z MVD wykonano rewaskularyzację pozostałych naczyń w odstępie czasowym.

Wyniki: Analizowano 73 pacjentów z AMI (52% STEMI), średni wiek 66 ± 11 lat, 74% stanowili mężczyźni, 19% chorzy z cukrzycą, 64% z nadciśnieniem, 68% to palacze. Mediana (25,75 percentyl) poziomu LTE4 przy przyjęciu wynosiła 84 pg/mg kreatyniny (43,167), TXB2 1846 pg/mg kreatyniny (944,3337). Kolejny etap rewaskularyzacji w odstępie czasowym wykonano u 17 chorych (30%), średni czas do kolejnego etapu PCI wynosił 36 ± 8 dni (12–60 dni). U pacjentów z MVD, którzy czekali na kolejny etap PCI, wykazano wyższy poziom LTE4 ($p=0,02$) i TXB2 ($p=0,05$) podczas AMI. Poziomy te korelowały ze stopniem uszkodzenia mięśnia sercowego w obserwacji długoterminowej.

Wnioski: U pacjentów z AMI i MVD oczekujących na kolejny etap angioplastyki wykazano wyższy poziom mediatorów prozapalnych i prozakrzepowych w porównaniu do choroby niedonaczyniowej. Wyniki te wskazują na większe ryzyko powikłań. Uzasadnione są dalsze badania w celu określenia właściwego czasu wykonania kolejnego etapu PCI.

ALICJA LACHOWSKA, KINGA MICHALEWSKA, ADAM POLAK,
JAKUB KENIG, MICHAŁ ROMANISZYN

TEMPUS SENTICUM EST. WPŁYW DNIA ZABIEGU NA CZAS HOSPITALIZACJI

AFILIACJA: III Katedra Chirurgii Ogólnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie i cel: Wpływ czasu na wyniki leczenia jest od dawna przedmiotem badań, a wnioski, które z nich płyną, bywają często zaskakujące. Celem pracy było sprawdzenie wpływu dnia tygodnia, w którym wykonywany jest zabieg, na długość hospitalizacji.

Metody: Przeprowadziliśmy retrospektywną analizę danych z oddziału chirurgii ogólnej z lat 2005–2013. Na podstawie mediany czasu pobytu w szpitalu po zabiegu wyszczególniliśmy trzy największe grupy pacjentów: z 2-, 3- i 4-dniową standardową długością hospitalizacji (sDH). Przeanalizowaliśmy rozkłady czasu hospitalizacji pacjentów operowanych w różne dni tygodnia (eksploracyjna analiza danych) i sprawdziliśmy istotność statystyczną zaobserwowanych efektów (test chi-kwadrat oraz regresja logistyczna). Podobnej analizie poddaliśmy kilka spośród najczęściej wykonywanych zabiegów: planowe cholecystektomie, ostre appendektomie, operacje przepukliny pachwinowej i wycięcie żylaków.

Wyniki: Pacjenci po zabiegu z 2-dniową sDH ($n=9558$) operowanie w piątki są rzadziej wypisywani w ciągu pierwszych 3 dni po zabiegu (OR: 2,03; $p<0,0001$). Podobnie dzieje się dla sDH wynoszącej 3 dni ($n=912$), pacjentów operowanych w czwartki, wypisów w ciągu 4 dni (OR: 2,57; $p<0,0001$), oraz dla sDH równej 4 dni ($n=1224$), pacjentów środowych, 5 dni po operacji (OR: 1,77; $p=0,016$). Efekt ten zachodzi dla cholecystektomii laparoskopowej oraz appendektomii otwartej, nie jest obserwowany w przypadku appendektomii laparoskopowej, żylaków i przepuklin.

Wnioski: Spodziewaliśmy się, że brak wypisów w niedzielę spowoduje, że pacjenci, którzy powinni zostać wypisani tego dnia, opuszczą szpital w poniedziałek. Dla znaczącej liczby pacjentów opóźnienie jest jednak dłuższe niż jeden dzień – zostają w szpitalu do wtorku i dzieje się to tym częściej, im poważniejszy jest zabieg.

OLGA KACZMARCZYK, MATEUSZ FIEMA

PRZYDATNOŚĆ BADAŃ LABORATORYJNYCH W OCENIE AKTYWNOŚCI CHOROBY LEŚNIEWSKIEGO-CROHNA

AFILIACJA: Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Choroba Leśniowskiego-Crohna należy do grupy nieswoistych chorób zapalnych jelit o niewyjaśnionej etiologii. Układ immunologiczny pełni istotną funkcję w przebiegu choroby. Obecnie najczęściej stosowaną skalą do oceny aktywności choroby jest wskaźnik aktywności Leśniowskiego-Crohna (Crohn's Disease Activity Index-CDAI).

Markery stanu zapalnego takie jak białko C-reaktywne (CRP), ferrytyna i fibrynogen są związane z ostrym procesem zapalnym. Oczekujemy wzrostu ich wartości w czasie nawrotu choroby. Także liczba płytek krwi (PLT) oraz leukocytów (WBC) może być użytecznym wskaźnikiem procesu zapalnego.

Cel: Celem pracy jest wykazanie korelacji zachodzącej pomiędzy wynikami badań laboratoryjnych a zaostrzeniem choroby Leśniowskiego-Crohna ocenianej za pomocą wskaźnika CDAI. Rodzaj korelacji pozwoli ocenić przydatność tych badań w praktyce klinicznej.

Metody: Dokonano retrospektywnej analizy pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna przyjętych do Kliniki Gastroenterologii i Hepatologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w okresie od stycznia 2013 do lutego 2014 roku. U każdego chorego obliczono wskaźnik CDAI i do badania włączono pacjentów z wynikiem 150 punktów i więcej. Badaniem objęto 42 pacjentów. Wyniki badań laboratoryjnych takie jak CRP, ferrytyna, fibrynogen, WBC, PLT, średnia objętość płytek krwi, hematokryt płytkowy (PCT) i wskaźnik anizocytozy płytek krwi zostały oznaczone w dniu przyjęcia chorych. Wyniki badań laboratoryjnych zostały porównane ze wskaźnikiem CDAI. Do analizy użyto programu Statistica 10.

Wyniki: Nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji pomiędzy wynikami badań laboratoryjnych a wskaźnikiem aktywności choroby CDAI. Analiza wariancji ujawniła, że pomiędzy poszczególnymi wynikami badań laboratoryjnych zachodzi wysoka korelacja. Macierz korelacji ukazuje dodatnią korelację pomiędzy CRP, WBC, PLT oraz PCT. Najsilniejsza zależność zachodzi pomiędzy

CRP a PLT ($r=0,44$). Analiza statystyczna wykazała podwyższony poziom CRP (średnia=42,76; SD=51,94) i PLT (średnia=353,68; SD=103,42).

Wnioski: Wzrost wartości białka C-reaktywnego i liczby płytek krwi jest związany z zaostrzeniem choroby. Nie istnieje zależność pomiędzy wynikami badań laboratoryjnych a aktywnością choroby. W praktyce klinicznej markery stanu zapalnego powinny być rozważane wspólnie do określenia aktywności choroby.

MARTYNA GOMULSKA, PIOTR GWIZDAK, GABRIELA RUSIN

CZĘSTOTLIWOŚĆ MUTACJI CCR5-DELTA32 U PACJENTÓW ASTMATYCZNYCH I BEZ ASTMY II KATEDRY CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH UJ CM

AFILIACJA: Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Receptor CC chemokin typu 5 (CCR5) jest kodowany przez gen CCR5 znajdujący się na ramieniu krótkim chromosomu 3. Receptor CCR5 ulega ekspresji przede wszystkim na limfocytach T (zwłaszcza CD4+), makrofagach, komórkach dendrytycznych i mikrogleju. Jego ligandami są m.in. MIP-1-alfa, MIP-1-beta i RANTES. Na chwilę obecną nie zbadano roli receptora CCR5 w rozwoju stanu zapalnego w przebiegu astmy. Astma to przewlekła choroba oskrzeli o pochodzeniu alergicznym lub idiopatycznym. Chorobowość w populacji polskiej wynosi ok. 5,4%. Mutacja CCR5-delta32 to delecja 32 nukleotydów, której skutkiem jest przesunięcie ramki odczytu i powstanie niefunkcjonalnego receptora. Częstość jej występowania w populacji europejskiej waha się między 4 a 16% (częstotliwość homozygot to 1%).

Cel: Celem badania była ocena częstotliwości występowania tej mutacji u pacjentów z astmą oraz możliwego wpływu na rozwój astmy.

Materiały i metody: Badanie zostało przeprowadzone na grupie 254 pacjentów II Katedry Chorób Wewnętrznych UJ CM. U 125 z nich zdiagnozowano astmę, co pozwoliło zaliczyć ich do grupy badawczej. Grupa kontrolna liczyła 129 osób. Wyizolowane DNA pacjentów zostało poddane reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) przy udziale starterów flankujących region delecji. Produkty reakcji PCR poddano elektroforezie w żelu agarozowym celem ich genotypowania.

Wyniki: W grupie kontrolnej znajdowało się 37 kobiet i 92 mężczyzn, natomiast grupa badawcza składała się z 87 kobiet i 38 mężczyzn. Rozkład genotypów w grupie kontrolnej przedstawiał się następująco: 105 osobników homozygotycznych bez mutacji, 21 heterozygotycznych i 3 homozygotycznych pod względem badanej mutacji, natomiast w grupie badawczej odpowiednio: 103, 21 i 1. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy tymi grupami. Czę-

stotliwość mutacji w badanej populacji wynosiła 9,84%, a osobnicy homozygotyczni stanowili 1,5%. Badana grupa była w równowadze Hardy'ego-Weinberga.

Wnioski: Badanie wykazało brak istotnej zależności pomiędzy obecnością mutacji CCR5-delta32 a występowaniem astmy. Należy przyjąć, że mutacja CCR5-delta32 ani nie zapobiega astmie, ani stanowi czynnika ryzyka jej rozwoju.

SUPPLEMENT

DOMINIKA SZOT

(POLITECHNIKA KRAKOWSKA)

POZYSKIWANIE BARWNIKÓW BETALAINOWYCH Z BIOMASY DLA CELÓW PRZEMYSŁU SPOŻYWCZEGO

STRESZCZENIE

Betalainy są naturalnymi barwnikami stosowanymi w przemyśle spożywczym. Jak dotąd ich synteza jest nieopłacalna, dlatego na skalę przemysłową pozyskiwane są metodą ekstrakcji z odpowiednio przygotowanej biomasy roślinnej. Jako źródła betalain o największym potencjale komercyjnym wymienić należy: buraki ćwikłowe (*Beta vulgaris* L.), kwiaty i nasiona kilku odmian szarłat (*Amaranthus* L.) oraz owoce niektórych gatunków kaktusów jak *Opuntia ficus-indica*. Barwniki spożywcze dostępne w handlu muszą spełniać wymagania określone prawem legislacyjnym i być dopuszczone do użytku przez Wspólną Komisję WHO i FAO do spraw dodatków do żywności.

SŁOWA KLUCZOWE

betalainy, betanina, barwniki, przemysł spożywczy, naturalne dodatki do żywności

INFORMACJE O AUTORCE

Dominika Szot
Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej
Katedra Chemii Analitycznej, Instytut C-1
Politechnika Krakowska
e-mail: dszot@chemia.pk.edu.pl

WPROWADZENIE

Zdecydowana większość produktów żywnościowych dostępnych na rynku zawiera rozmaite chemiczne lub naturalne dodatki. Produkty spożywcze są w nie wzbogacane w trakcie procesu technologicznego przetwarzania żywności.

Dodatki do żywności spełniają wiele korzystnych funkcji zarówno z punktu widzenia konsumenta, jak i producenta żywności. Stosowane są między innymi w celu zapewnienia trwałości produktów, czyli ograniczenia działania drobnoustrojów, enzymów oraz takich czynników jak tlen atmosferyczny, które przyczyniają się do zapoczątkowania procesów psucia się żywności. Ponadto, specjalne dodatki chronią mniej trwałe składniki odżywcze, takie jak na przykład witaminy. Dodatki do żywności mają również za zadanie zapobiegać niekorzystnym zmianom jakościowym (między innymi zmiany barwy, smaku, zapachu, konsystencji), do których dochodzi w trakcie procesu przetwórczego oraz późniejszego magazynowania. Tym samym mają zapewniać powtarzalność odpowiedniej jakości produktu. Kolejnym ważnym zadaniem dodawanych substancji jest zwiększenie atrakcyjności i ułatwienie użytkowania danych produktów konsumentom, a w rezultacie zachęcenie do kupna.

Nowe dodatki do żywności, które zastępują stosowane wcześniej substancje, umożliwiają otrzymywanie nowych produktów spożywczych, na przykład o zmniejszonej lub zwiększonej kaloryczności, oraz pozwalają na eliminację pewnych składników, nietolerowanych przez ludzi w niektórych schorzeniach (między innymi glutenu, wybranych białek lub cukrów prostych)¹.

Z technologicznego punktu widzenia zwiększenie rozmiarów produkcji i przejście na linie ciągle zwiększa statyczność operacji jednostkowych, co utrudnia zmiany w założonym procesie przetwórczym. W tego typu produkcji stosowanie dodatków umożliwia bardziej elastyczne modyfikowanie produktu końcowego. Dzięki nim możliwe jest uproszczenie i zwiększenie efektywności produkcji, polepszenie wydajności i minimalizacja energochłonności procesu wytwarzania żywności. Warto również wspomnieć, że wzrost trwałości produktów niesie ze sobą większą łatwość obchodzenia się z towarem². Ponadto, handel i dystrybucja zyskują na stosowaniu dodatków do żywności, ponieważ następuje szybka rotacja produktów rynkowych i zwiększenie obrotów.

Zgodnie z zasadami przyjętymi przez Unię Europejską dodatki do żywności można sklasyfikować pod względem funkcji technologicznej na: zapobiegające zepsuciu (konserwanty, regulatory kwasowości, przeciwutleniacze, stabilizatory), dodatki sensoryczne (aromaty, barwniki, substancje słodzące oraz wzbogacające smak i zapach), teksturotwórcze (emulgatory, zagęstniki, substancje żelujące, przeciwbrylające, spulchniające, zwiększające masę, utrzymujące wilgoć)

¹ A. Rutkowski, *Dodatki do żywności*, [w:] *Chemia żywności*, red. Z. E. Sikorski, Warszawa 2007, s. 107–111, 118–120.

² Ibidem.

oraz substancje pomocnicze (enzymy, gazy wypiekające, polepszacze mąki, rozpuszczalniki, substancje glazurujące, środki pianotwórcze, a także przeciwpienące)³.

BARWNIKI

Spośród wymienionych rodzajów dodatków do żywności na szczególną uwagę zasługują barwniki, ponieważ barwa ma kluczowe znaczenie przy ocenie jakości i przydatności danego produktu do spożycia. Wzrok, jako dominujący zmysł ludzki, determinuje odczucia potencjalnego konsumenta. Intensywna, atrakcyjna barwa produktu sugeruje często apetyczny smak i zapach oraz sprawia, że żywność jest oceniana jako świeża. Natomiast nieestetyczne zabarwienie na tyle zniechęca konsumentów, że rezygnują oni z kupna danego produktu, nie zwracając uwagi na jakiekolwiek inne jego właściwości (na przykład zapach lub konsystencję). Niejednolite bądź nienaturalne zabarwienie jest często sygnałem psucia się żywności i tak jest kojarzone przez konsumenta.

Barwniki do żywności są stosowane od tysięcy lat. Już w starożytnym Egipcie używano kurkumy i koszenili, które dziś oznaczane jako E 100 i E 120 odpowiadają za pomarańczowe i czerwone zabarwienie niektórych produktów. Rozwój syntezy organicznej na początku XIX wieku zaowocował wieloma nowymi barwnikami, między innymi z grupy związków terowych. Jednak ostateczne znalazły one zastosowanie w przemyśle tekstylnym, po tym, jak z tragicznym skutkiem próbowano je dodawać do produktów spożywczych. Ówczesnie barwione nimi napoje gazowane i słodyczne powodowały bowiem silne zatrucia. Przyczyniło się to do społecznej obawy przed dodawaniem jakiegokolwiek sztucznych dodatków do żywności. Dlatego dalszy rozwój chemii w przemyśle spożywczym nastawiony był raczej na syntezę substancji naturalnie występujących w roślinach jadalnych i dzięki temu niebudzących zastrzeżeń zdrowotnych. W ten sposób w XX wieku zaczęto produkować syntetyczny β -karoten (E 160ii), który stanowił odpowiednik barwnika występującego w marchwi.

Dziś kwestia substancji do barwienia żywności podlega Rozporządzeniu Ministra Zdrowia i prawu Unii Europejskiej, a każda nowa substancja musi być zalegalizowana przez Wspólną Komisję WHO (World Health Organization) i FAO (Food and Agriculture Organization) do spraw dodatków do żywności – JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)⁴.

Barwników używa się w przemyśle spożywczym w kilku przypadkach. Po pierwsze, do nadawania barwy bezbarwnym produktom, jak na przykład sztuczne napoje orzeźwiające, a także do wzmacniania barwy słodczy i deserów oraz skoncentrowanych płynów przeznaczonych do rozcieńczania, jak syropy owo-

³ Ibidem.

⁴ Ibidem.

cowe. Żywność niejednorodną pod względem koloru barwi się w celu ujednolicienia i zapewnienia identycznej barwy każdej kolejnej wyprodukowanej partii. Barwniki służą również do odtworzenia pierwotnej barwy wówczas, gdy naturalnie występujące barwniki uległy degradacji w procesie przetwórstwa żywności, jak w przypadku kompotów z truskawek.

Barwniki żywności dzieli się na barwiące części roślin jadalnych (które same są żywnością), barwniki naturalne, barwniki organiczne syntetyczne identyczne z naturalnymi, barwniki organiczne syntetyczne oraz barwniki nieorganiczne. Warto tutaj zauważyć, że barwniki syntetyczne, mimo wielu zalet, takich jak jednorodność chemiczna, trwałość, odporność na wahania warunków środowiskowych oraz określona, standardowa moc barwienia, budzą obawy konsumentów w kwestii ich wpływu na zdrowie. Dlatego rośnie zainteresowanie coraz szerszym wykorzystaniem naturalnych barwników, których źródłem jest biomasa roślinna, przez co budzą one znacznie mniej zastrzeżeń. Rosnące zapotrzebowanie wymusza dostosowywanie metod ich efektywnego pozyskiwania, a także poszukiwanie nowych naturalnych barwników w celu poszerzenia gamy dostępnych odcieni. Związki naturalne nie są jednak tak stabilne jak te uzyskiwane syntetycznie. Ze względu na swoją budowę wiele z nich bardzo łatwo ulega degradacji pod wpływem takich czynników jak temperatura, niskie lub wysokie pH środowiska, działanie tlenu, enzymów czy też światła.

Do barwników naturalnych stosowanych w przemyśle spożywczym zaliczane są: karotenoidy, flawonoidy, betalainy i porfiry. Ze względu na trwałość najbardziej eksploatowaną grupą barwników spożywczych są karotenoidy wraz z należącymi do nich ksantofilami. Ostatnio zauważa się wzrost zainteresowania naturalnymi barwnikami, zwłaszcza ze względu na ich prozdrowotne właściwości. Ma to również swoje odzwierciedlenie w rozwoju badań naukowych w tym kierunku.

BARWNIKI BETALAINOWE

Pojęcie betalainy (łac. *beta* – ‘burak’) pojawiło się po raz pierwszy w 1968 roku w odniesieniu do żółtych i czerwono-fioletowych N-heterocyklicznych barwników występujących w owocach niektórych gatunków kaktusów i w korzeniu buraka ćwikłowego. Swoje zabarwienie betalainy zawdzięczają temu, że zawierają specyficzny układ chromoforowy trzech podwójnych sprzężonych wiązań – układ 1,7-diazoheptametnowy. W latach 1963–1964 poznano pierwsze struktury betalain: były to betanina z buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) i indykaksantyna z owoców opuncji. Rok później nazwa „kwas betalamowy” została zaproponowana dla ich wzajemnego prekursora w biosyntezie⁵.

⁵ F. C. Stinzling, R. Carle, *N-heterocyclic Pigments: Betalains*, Ed. Socaciu C., [w:] *Food Colorants. Chemical and Functional Properties*, Boca Raton 2008, s. 87–93, 169–170.

Betalainy reprezentują iminowe pochodne kwasu betalainowego, różniące się strukturą przestrzenną oraz obecnością i rodzajem podstawnika glikozydowego, który jest niekiedy acylowany. Dzielą się one na dwie główne grupy związków: czerwono-fioletowe betacyjaniny i żółte betaksantyny. Betalainy występują jedynie u dziesięciu rodzin rzędu goździkowców (*Caryophyllales*), między innymi u szarłatkowatych, do których należy burak ćwikłowy, portulakowatych i kaktusowatych. W roślinach barwniki lokują się w wakuolach w tkankach epidermy oraz subepidermy i pełnią kilka istotnych funkcji, na przykład ułatwiają zapylenie roślin przez owady, podtrzymują potencjał antyoksydacyjny i chronią przed szkodliwym promieniowaniem UV⁶.

Co ciekawe, antocyjaniny i betalainy wykluczają się wzajemnie. Nigdy nie stwierdzono ich obecności w tej samej roślinie. Ponadto Vogt przedstawił dowody, że ewolucyjnie betalainy pojawiły się po antocyjaninach⁷. Ten fakt wskazuje na to, że antocyjaniny i betalainy zastępują się nawzajem w odniesieniu do pełnionych ról w tkankach roślin.

Podstawowy barwnik betalainowy stanowi betanina, której głównym źródłem jest burak ćwikłowy (*Beta vulgaris* L.); stanowi ona 75–95% ogółu betalain. W burakach zawarta jest także izobetanina (15S-stereoizomer betaniny) oraz formy zestryfikowane, a także wulgaksantyna I i II należące do żółtych barwników – betaksantyn.



Ryc. 1. Burak ćwikłowy (*Beta vulgaris* L.)

Źródło: materiały własne.

⁶ A. Rutkowski, op. cit., s. 107–111, 118–120; F. C. Stinzinger, R. Carle, op. cit., s. 87–93, 169–170.

⁷ T. Vogt, *Substrate specificity and sequence analysis define a polyphyletic origin of betanidin 5- and 6-O-glucosyltransferase from Dorottheanthus bellidifolius*, "Planta" 2002, No. 214, s. 492.

Betanina ma zastosowanie komercyjne jako naturalny barwnik żywności (E 162 – czerwień buraczana), który jest rozpuszczalny w wodzie. Ze względu na niską stabilność i ryzyko rozkładu, a w konsekwencji zmianę barwy, nie może być ona używana w produktach poddawanych działaniu światła, czynników utleniających oraz jonów metali, jak też ogrzewanych w wysokich temperaturach. Nie może również służyć do barwienia żywności o wysokiej kwasowości. Najczęściej betaninę dodaje się więc do jogurtów, galaretek, zimnych napojów.

Badania potwierdziły, że barwniki betalainowe, w tym również betanina, posiadają właściwości prozdrowotne. Dowiedziono, że wykazują aktywność antyoksydacyjną, dzięki czemu mają zdolność hamowania peroksydacji lipidów oraz w pewnym stopniu wpływają hamująco na niektóre rodzaje nowotworów⁸.

POZYSKIWANIE NATURALNYCH BARWNIKÓW BETALAINOWYCH Z BIOMASY

Ze względu na to, że biotechnologiczna produkcja naturalnych barwników betalainowych jest wciąż ekonomicznie nieopłacalna, przemysł spożywczy ukierunkował się na ekstrakcję pigmentów z biomasy roślinnej. Czynniki ekonomiczne wymagają wysokiej wydajności tego procesu, na co składa się duża początkowa zawartość danego barwnika w biomasie, wysoka stabilność barwnika podczas procesu produkcyjnego i optymalizacja procesu ekstrakcji pod tym kątem. Ponadto, sam barwnik musi spełniać pewne warunki, aby jego pozyskiwanie było opłacalne. Powinien cechować się wysokim statusem higienicznym, neutralnym smakiem i zapachem oraz nie wykazywać negatywnego wpływu na zdrowie ludzkie. Pod uwagę muszą również być brane warunki legalizacji danej substancji.

Głównym komercyjnym źródłem barwników betalainowych jest korzeń buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.). Na rynku naturalnych barwników betalainy rozpowszechnione są pod postacią ciekłego koncentratu soku buraczanego lub sproszkowanego preparatu uzyskanego w wyniku suszenia w suszarni rozpyłowej z zastosowaniem maltodekstryny jako nośnika. Wykorzystanie soku z czerwonego buraka jako barwnika zapoczątkowały badania von Elbego we wcze-

⁸ J. Escribano, M. A. Pedreño, F. García-Carmona, R. Muñoz, *Characterization of the Antiradical Activity of Betalains From Beta vulgaris L. Roots*, "Phytochemical Analysis" 1998, No. 9, s. 124–127; J. Kanner, S. Harel, R. Granit, *Betalains – a new class of cationized antioxidants*, "Journal of Agricultural and Food Chemistry" 2001, No. 49, s. 5178–5185; G. J. Kapadia, M. A. Azuine, R. Sridhar, Y. Yoko, A. Tsuruta, E. Ichiishi, T. Mukainake, M. Takasaki, T. Konoshima, H. Nishino, H. Tokuda, *Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot*, "Pharmacological Research" 2003, Vol. 47, No 2, s. 141–148.

nych latach siedemdziesiątych XX wieku⁹. Jest to typowe rozwiązanie, wciąż stosowane w technologii barwienia żywności, które jest autoryzowane w Europie i Ameryce Północnej.

TECHNOLOGIA PRODUKCJI BARWNIKÓW NATURALNYCH Z BURAKA ĆWIKŁOWEGO

Zawartość barwników betalainowych oraz stosunek betacyjanin do betaksantyn zależy od odmiany buraków i warunków hodowli. Generalnie najbardziej pożądanym surowcem do ekstrahowania betalain są niezbyt duże korzenie buraka ćwikłowego, gdyż zawierają one największą ilość tych związków. Zazwyczaj przetwarzane są całe, nieobrane buraki, ponieważ ponad 30% barwnika traci się przez usuwanie skórki. Warto przy tym zwrócić uwagę, iż oksydaza polifenolowa – enzym, który powoduje degradację zarówno betacyjanin, jak i betaksantyn – w największej ilości znajduje się właśnie w skórce.

Pierwszym etapem w technologii produkcji barwników z biomasy buraków ćwikłowych jest wstępne blanszowanie, stanowiące metodę dezaktywacji enzymów. Teoretycznie enzym oksydaza polifenolowa aktywuje swoje właściwości utleniające i hydroksylujące wobec mono- lub difenolowych struktur. W betaksantynach i betacyjaninach struktury te spotyka się tylko wtedy, gdy betalainy uprzednio poddane są hydrolizie pod działaniem enzymu β -glukozydazy. Dlatego dla enzymatycznej degradacji betalain niezbędne jest skoordynowane działanie polifenoloksydazy i peroksydazy oraz hydrolizującego enzymu β -glukozydazy, odcinającego glukozyd¹⁰.

Rozdrabnianie tkanek roślinnych jest zazwyczaj przeprowadzane przez mielenie. Następnie zakwasza się powstałą masę przez dodanie kwasu cytrynowego aż do osiągnięcia pH 4. Niskie pH uniemożliwia działanie oksydazy polifenolowej. Peroksydazy mogą być nadal aktywne w takich warunkach, ale dezaktywują się w następnym etapie, w którym uzyskany po przefiltrowaniu sok jest ogrzewany do temperatury przekraczającej 75°C. Dzięki zakwaszeniu nie jest potrzebne ogrzewanie do wysokich temperatur. Dlatego też barwniki są mniej narażone na degradację termiczną. W celu sterylizacji stosuje się pasteryzację, co wystarcza, by zabezpieczyć produkt końcowy przed drobnoustrojami.

Przyjęte są różne sposoby filtracji. Oprócz filtracji komorowej stosuje się też ultrafiltrację. Nowsze metody wykorzystujące pulsujące pole elektryczne w ekstrakcji barwników nie mają jeszcze zastosowania w praktyce przemysłowej.

Przefiltrowany sok z buraków po zagęszczeniu może trafić do sprzedaży jako gotowy barwnik (co zaznaczono na schemacie 2) lub zostać poddany suszeniu

⁹ J. H. von Elbe, I. Y. Maing., C. H. Amundson, *Colour stability of betanin*, "Journal of Food Science" 1974, Vol. 39, s. 334–337.

¹⁰ F. C. Stinzing, R. Carle, op. cit., s. 87–93, 169–170.

rozpyłowemu z dodatkiem maltodekstryny jako nośnika. W rezultacie otrzymuje się preparat o stężeniu 0,3–1% betaniny. Zwiększenie zawartości betaniny (5–7-krotne) można osiągnąć przez fermentację soku buraczanego z udziałem drożdży *Candida utilis* lub *Saccharomyces*. Niemniej jednak wysoka absorpcja molaowa betaniny sprawia, że już przy stężeniu 50 mg/dm³ kolor barwionego produktu jest wystarczająco intensywny.

W celu oczyszczenia ekstraktu z buraków poza wymienionymi metodami biologicznymi można także zastosować kolumny chromatograficzne.



Ryc. 2. Schemat procesów produkcji barwnika E 162

Źródło: F. C. Stinzing, R. Carle, *N-heterocyclic Pigments: Betalains*, Ed. Socaciu C., [w:] *Food Colorants. Chemical and Functional Properties*, Boca Raton 2008.

Oprócz rozwoju badań skoncentrowanych głównie na aspekcie stabilności barwników naturalnych w latach osiemdziesiątych XX wieku zaczęto hodować specjalne wysokopigmentowe odmiany buraków do stosowania w produkcji barwników. Nadal stosunkowo niewiele badań było prowadzonych w kierunku znalezienia nowych, alternatywnych źródeł betalain. Jest to tym bardziej zaskakujące, że przetwory buraka czerwonego posiadają nieco nieprzyjemny posmak,

pochodzący od związków pochodnych geosminy i metoksypirazy¹¹. Ponadto, posiadają także zbyt wysoką zawartość azotanów. Istnieje również ryzyko przeniesienia bakterii z gleby. Z drugiej strony wykorzystanie buraków czerwonych jest ekonomicznie opłacalne, ponieważ roczna podaż biomasy to 50–70 ton z każdego hektara upraw, z czego uzyskuje się 40–200 mg betaniny (barwnik E 162) na 100 g biomasy, czego nie można osiągnąć, wykorzystując inne naturalne źródła betalain.

Istotną kwestią jest dokładne rozróżnienie barwników pochodzących z naturalnych źródeł, dla których wymagana jest zgodność z numeracją E (na przykład E 162 dla betaniny – głównego barwnika buraka czerwonego), od barwników zawartych w produktach żywnościowych. Podyktowane jest to obowiązującym nowym prawodawstwem, dążącym do dokładnego oznakowania produktów żywnościowych. W przypadku drugiego typu barwników dozwolona jest jedynie nieselektywna fizyczna ekstrakcja oparta na wodzie lub oleju, po której dokonuje się zateżenia przez ogrzewanie. Tak uzyskane ekstrakty z owoców i warzyw mogą być zastosowane, by wzbogacać określone barwy żywności, zgodnie z zasadą *quantum stasis*, co oznacza, iż daną substancję stosuje się w dawce najniższej niezbędnej do osiągnięcia zamierzonego efektu technologicznego, zgodnie z dobrą praktyką produkcyjną. Takie ekstrakty charakteryzują się typowym smakiem i zapachem roślin uprawnych, z których pochodzą. Oznacza się je jako składniki, na przykład ekstrakt z czerwonych buraków (a nie barwnik E 162). Z drugiej strony, jeżeli w celu usunięcia cukrów kolorowy ekstrakt zostanie poddany procesowi fermentacji z wykorzystaniem drożdży, co służy uzyskaniu większej siły barwienia poprzez 5–7-krotne zateżenie aż do momentu osiągnięcia 65°Bx¹², uzyskany produkt uznawany jest za barwnik naturalny. Po usunięciu cukrów, soli oraz związków fenolowych naturalnie pozyskany barwnik będzie jednak wymagał oznakowania symbolem E¹³.

INNE ŹRÓDŁA BETALAIN

Przewiduje się, że alternatywnymi źródłami barwników betalainowych mogą zostać ziarna i liście roślin z rodziny *Amaranthaceae* (na przykład szarłat). Posiadają one duży potencjał odżywczy oraz barwiący. Barwnik zawarty w liściach szarlatu jest wykorzystywany do barwienia napojów alkoholowych w Boliwii, Ekwadorze i północno-zachodniej Argentynie. W Meksyku oraz południowo-wschodniej części Stanów Zjednoczonych dodaje się go dla uzyskania charakterystycznego koloru ciasta kukurydzianego.

¹¹ Ibidem.

¹² Zawartość cukrów w skali Briksa: jeden stopień w skali Briksa odpowiada stężeniu 100 g roztworu, w którym rozpuszczono 1 g sacharozy.

¹³ F. C. Stinzing, R. Carle, s. 87–93, 169–170.

Szarłat jest dopuszczony jako surowiec do produkcji barwników naturalnych w Chinach. W zainicjowanym w 1996 roku w Chinach programie uprawy i selekcji przebadano 388 genotypów z 37 gatunków w 8 odmianach. Gatunki poddane kultywacji wykazywały większą zawartość barwnika od dziko rosnących gatunków, a całkowita zawartość betacyjanin wahała się pomiędzy 46 a 199 mg na 100 g świeżej biomasy roślinnej. Dzięki dużej zawartości acylowanych betacyjanin osiągnięto bardzo zadowalającą stabilność tych barwników w preparatach suszonych rozpyłowo. Z powodu większych zdolności adaptacyjnych roślin z rodziny *Amaranthaceae* w porównaniu z burakiem czerwonym w tamtym regionie zaproponowano, aby to one służyły jako nowe źródło naturalnych barwników. Z drugiej strony zawartość saponin sięgająca 0,1% suchego surowca oraz zawartość dopaminy na poziomie 6 mg/g świeżej masy surowca sprawia, że należy dokładnie przeanalizować sens ich zastosowania przed wdrożeniem¹⁴.

Od 1998 roku przedmiotem zainteresowania w kwestii produkcji barwników betalainowych stały się również owoce opuncji (*Opuntia* sp.). Stanowiąc źródło przede wszystkim betaksantyn, owoce opuncji dają szansę na poszerzenie wąskiej gamy odcieni barwników produkowanych z buraka czerwonego. Właściwości chromatyczne opuncji (*O. ficus-indica*) odmiany „Rossa” okazały się porównywalne z właściwościami buraka czerwonego. W połączeniu z pomarańczowymi owocami innej odmiany opuncji udało się uzyskać więcej barwników o zróżnicowanych odcieniach. Początkowo proces produkcji na skalę półprzemysłową był oparty o ekstrakcję żółto-pomarańczowego barwnika z opuncji *O. ficus-indica* odmiany „Gialla” w postaci soku z owoców. Tę technologię rozszerzono potem o produkcję suszonych proszków oraz koncentratów koloryzujących. Odnotowano także próby przetwarzania w skali laboratoryjnej czerwono-purpurowej odmiany opuncji, podczas których dowiedziono konkurencyjności głębokiej, czerwonej barwy koncentratu pozyskiwanego z odmiany *O. stricta* w stosunku do koszenili, czerwonych buraków i handlowych ekstraktów antocyjanin. Chociaż obecnie uzyskiwane stężenie pigmentów waha się w skali pomiędzy 15 a 70 mg na 100 g suchego surowca, nowe hybrydowe gatunki owoców wykazują obiecujące stężenie, sięgające nawet 100 mg/100 g. Stąd przewiduje się, że zwiększenie wysiłków włożonych w hodowlę wpłynie istotnie na znaczenie opuncji w produkcji fioletowych, czerwonych oraz żółto-pomarańczowych barwników, ponieważ najpewniej mają one wiele zastosowań¹⁵.

STABILNOŚĆ PREPARATÓW BETALAINOWYCH

Jedynie niewielka liczba badań związanych ze stabilnością betalain została przeprowadzona w barwionych produktach żywnościowych. W większości przypadków skupiano się na badaniu oczyszczonych i nieoczyszczonych roztworów

¹⁴ Ibidem.

¹⁵ Ibidem.

pigmentów oraz soków pod kątem stabilności koloru pod wpływem ogrzewania, światła, różnej aktywności wody, obecności jonów metali i tlenu. Zasadniczo betalainy są uznawane za najbardziej stabilne w warunkach zbliżonych do neutralnych w produktach pozbawionych siarczanów, chronione przed ekspozycją na światło i tlen oraz przechowywane przez krótki czas w niskich temperaturach. Stąd też typowe produkty żywnościowe, takie jak produkty mleczne, nadzienia owocowe, wyroby piekarnicze, przyprawy, produkty instant, słodczyce, substytuty mięsa i kielbasy, bywają barwione betalainami¹⁶.

LEGISLACJA

Wszystkie stosowane barwniki syntetyczne przechodzą skomplikowany proces legislacyjny i muszą zostać zatwierdzone. W niektórych przypadkach, gdy uznano je za toksyczne, zakazano ich stosowania, tak jak na przykład w 1977 roku, kiedy cofnięto zezwolenia dla sześciu związków azowych w Niemczech. Z tego względu nie ma mowy o ich jakimkolwiek negatywnym wpływie na ludzkie zdrowie, jednak wciąż brakuje akceptacji w oczach konsumentów. Coraz częściej są one odrzucane i postrzegane jako szkodliwe dla zdrowia. Ponadto istnieją przesłanki, że sztuczne barwniki mogą powodować niekorzystne reakcje fizjologiczne, co także przyczyniło się do ograniczenia ich zastosowania. Dlatego też systematycznie zwiększa się nacisk w środowiskach przemysłowych oraz akademickich na badania w celu poszukiwania naturalnych substytutów. Obecnie wzrasta akceptacja psychologiczna naturalnych i alternatywnych związków pochodzenia naturalnego poprzez promowanie ich dobrej jakości oraz prozdrowotnych właściwości.

Barwienie jedzenia jest ograniczone przez prawo i odpowiednie ustawy, chroniące konsumentów przed nadużyciami producentów oraz wprowadzaniem ich w błąd. Unia Europejska w 1994 roku wprowadziła wytyczne dotyczące barwienia produktów żywnościowych, w rozumieniu barwienia żywności jako potrzeby technologicznej. Dyrektywa Europejska 94/36/EC Parlamentu Europejskiego jasno wymienia listę barwników oraz ich zastosowania w produkcji żywności. Dyrektywa Komisji Europejskiej 95/45/EC zawiera dokładne kryteria czystości barwników w żywności, na przykład maksymalna zawartość ołowiu to 20 ppm¹⁷.

Ze względu na to, że regulacje prawne państw Unii Europejskiej różnią się między sobą, a także pomiędzy regulacjami obowiązującymi w Stanach Zjednoczonych, Azji i Ameryce Południowej, kwestia zgodności legislacji dotyczącej barwienia żywności, kosmetyków oraz leków jest jednym z najważniejszych aspektów dla producentów. W Europie barwnik spożywczy, będący sam w sobie

¹⁶ Ibidem.

¹⁷ Ibidem.

żywnością, choć nie jest to prawnie zdefiniowane, uważa się za produkt pochodzenia roślinnego stosowany do barwienia żywności, jak na przykład koncentrat lub proszek z buraków, marchwi lub czarnego bzu, ponieważ jest on uzyskiwany wyłącznie przy pomocy procesów fizycznych. Jeśli jednak zastosuje się proces selektywnej ekstrakcji, uzyskany produkt uznawany jest za tak zwany barwnik naturalny i wymaga oznakowania znakiem Unii Europejskiej, na przykład E 162 dla buraka czerwonego czy E 163 dla antocyjanin. W związku z tym środki określone jako naturalne barwniki żywności sklasyfikowane jako żywność mogą być stosowane międzynarodowo, aczkolwiek wymagane jest ich odpowiednie oznakowanie. Przepis Federalny Stanów Zjednoczonych (CFR) 21.73.250/260 obejmuje stosowanie warzyw i owoców do barwienia żywności. Wspólna Organizacja ds. Żywnienia i Rolnictwa (FAO), World Health Organization (WHO), Komitet ekspertów ds. Dodatków do Żywności FAO stanowi najważniejszy instrument prawodawczy dla producentów żywności oraz dodatków do żywności.

PODSUMOWANIE

Barwienie żywności jest potrzebą technologiczną wychodzącą naprzeciw wymaganiom konsumentów. Obecnie, kiedy panuje moda na zdrowy styl życia i dbałość o dietę, stanowi to ważny jej aspekt. Syntetyczne barwniki organiczne tracą na znaczeniu. Rośnie zainteresowanie substancjami pozyskiwanymi z natury, które oprócz właściwości barwiących wykazują dobroczynny wpływ na zdrowie. Stąd korzystne właściwości antyoksydacyjne betalain podnoszą ich rangę wśród dodatków do żywności, a badania nad tymi związkami nabierają coraz większego znaczenia. Wciąż jednak istnieje potrzeba poszukiwania nowych i polepszania trwałości już stosowanych barwników betalainowych.

OBTAINING OF NATURAL BETALAIN COLORANTS FROM BIOMASS FOR FOOD INDUSTRY

ABSTRACT

Betalains are natural pigments, which are used as colorants in food industry. Synthesis of these pigments is unprofitable, therefore they are obtained by extraction from a plant biomass in industrial scale. The most beneficial source of betalains are red beet root (*Beta vulgaris* L.), flowers and seeds of several species of *Amarantus* as well as fruits of selected plant among *Cactaceae* family like *Opuntia ficus-indica*. Food colorants, which are commercially available have to meet the legislative requirements of the law and be approved for use by the WHO (World Health Organization) and FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) commission for the food additives.

KEY WORDS

betalains, betanin, colorants, food industry, natural food additives

BIBLIOGRAFIA

1. von Elbe J. H., Maing I. Y., Amundson C. H., *Colour stability of betanin*, "Journal of Food Science" 1974, Vol. 39, s. 334–337.
2. Escribano J., Pedreño M. A., García-Carmona F., Muñoz R., *Characterization of the Antiradical Activity of Betalains From Beta vulgaris L. Roots*, "Phytochemical Analysis" 1998, No. 9, s. 124–127
3. Kanner J., Harel S., Granit R., *Betalains – a new class of cationized antioxidants*, "Journal of Agricultural and Food Chemistry" 2001, No. 49, s. 5178–5185
4. Kapadia G. J., Azuine M. A., Sridhar R., Yoko Y., Tsuruta A., Ichiishi E., Mukainake T., Takasaki M., Konoshima T., Nishino H., Tokuda H., *Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot*, "Pharmacological Research" 2003, Vol. 47, No. 2, s. 141–148
5. Rutkowski A., *Dodatki do żywności*, [w:] *Chemia żywności*, red. Z. E. Sikorski, Warszawa 2007, s. 107–111, 118–120.
6. Stinzing F. C., Carle R., *N-heterocyclic Pigments: Betalains*, Ed. Socaciu C., [w:] *Food Colorants. Chemical and Functional Properties*, Boca Raton 2008, s. 87–93, 169–170.
7. Vogt T., *Substrate specificity and sequence analysis define a polyphyletic origin of betanidin 5- and 6-O-glukosyltransferase from Dorottheanthus bellidiformis*, "Planta" 2002, No. 214, s. 492.

DOMINIKA SZOT*, KAROLINA STARZAK, ANNA SKOPIŃSKA,
SŁAWOMIR WYBRANIEC

(CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY)

REDUCTION OF SELECTED BETACYANINS

ABSTRACT

Betacyanins are conjugates of betalamic acid and glycosylated cyclo-DOPA which bring about the creation of a specific chromophoric system, the 1,7-diazaheptamethin chain. Betanin, a betacyanin pigment from red beet (*Beta vulgaris* L.), as well as its decarboxylated derivatives were subjected to reduction with the use of NaBH_4 . The pigment structures contain a vinyl linker which is postulated to be protonated during reaction with NaBH_4 . In this study, 17-decarboxy-betanin and 2,17-bidecarboxy-betanin were obtained from betanin, which had been previously isolated from red beet root (*Beta vulgaris* L.). Purified pigments were tested in the presence of the reduction reagent while looking for the products of the reaction identified by LC-MS.

KEY WORDS

betanin, decarboxy-betacyanins, reduction, 1,7-diazaheptamethin, chromophore, LC-MS

* Dominika Szot
Cracow University of Technology, Poland
e-mail: dszot@chemia.pk.edu.pl

INTRODUCTION

Betanin is a natural pigment approved as a colorant for food. It is obtained from red beet root (*Beta vulgaris* L.)¹, but can be found in many plant species of the *Caryophyllales* order. Natural pigments from betacyanins group have a lot of advantages in comparison with artificial food colorants. They not only are non-toxic but also have a proved antioxidant activity². Therefore, they are prone to degradation leading to creation of decarboxy-derivatives or total decomposition with betalamic acid and cyclo-DOPA release. The decarboxy-derivatives of betanin from red beet were extensively studied. Their formation, initiated by many factors such as oxygen, high temperature and low pH, was reported by Herbach et al.³ Mono-, di- and tridecarboxybetacyanins were obtained, for instance, by heating acidified aqueous as well as ethanolic solutions at a temperature not exceeding 85°C⁴. One of the routes of betanin decarboxylation is presented in Figure 1.

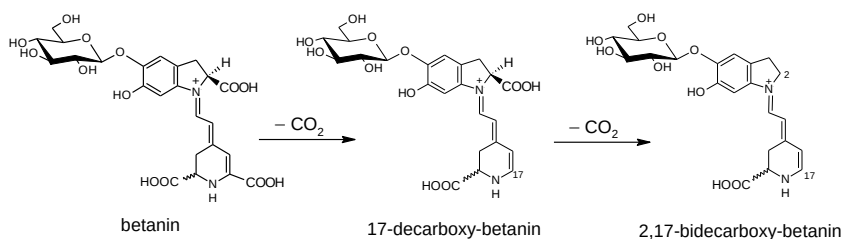


Figure 1. One of betanin decarboxylation routes

A reduction reaction using NaBH₄ has never been performed with betanin nor with its decarboxylated derivatives. However, a protonation of the vinyl linker was reported in previous studies as a presumable result of an inside molecular disproportionation⁵.

¹ B. Nemzer, Z. Pietrkowski, A. Spórna, P. Stalica, W. Thresher, T. Michałowski, S. Wybraniec, Betalainic and Nutritional Profiles of Pigment-enriched Red Beet Root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts, *Food Chem.* 2011, 127, 42–53.

² M. R. Castellar, F. Solano, J. M. Obón, Betacyanin and Other Antioxidants Production During Growth of *Opuntia stricta* (Haw.) Fruits, *Plant Foods Hum. Nutr.* 2012, 67, 337.

³ K. M. Herbach, F. C. Stintzing, R. Carle, Betalain Stability and Degradation – Structural and Chromatic Aspects, *J. Food Sci.* 2006, 71, 4, 42–44.

⁴ S. Wybraniec, Formation of Decarboxylated Betacyanins in Heated Purified Betacyanin Fraction from Red Beet Root (*Beta vulgaris* L.) Monitored by LC-MS/MS, *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 3483–3487.

⁵ T. J. Mabry, H. Wyler, I. Parikh, A. S. Dreiding, The Conversion of Betanidin and Betanin to Neobetainin Derivatives, *Tetrahedron* 1967, 23, 3117.

MATERIAL AND METHODS

Isolation of betanin

Betanin was isolated from juice of red beet root (*Beta vulgaris* L.) by a sequence of chromatographic techniques. Firstly, preliminary purification using a C18 cartridge was carried out. The betanin-rich fractions were eluted by aqueous solution of 30% acetone, 2% formic acid (v/v). Next, a Flash chromatography was used with gradient system: 5% A in B at 0 min; gradient to 35% A in B at 30 min (A, acetone; B, 2% formic acid in water). Afterwards, a preparative HPLC system with HPLC PUMP 64 (Knauer, Germany) was applied. The semi-preparative column was Bischoff C18 (Bischoff Chromatography, Germany) 250 mm x 30 mm i.d., 10 μ m, C₁₈, with a 10 mm x 10 mm i.d. guard column with the same material. An applied gradient system was 6% A in B at 0 min; gradient to 10% A in B at 30 min (A, acetone; B, 1% formic acid in water). In each case, the injection volume was 100 mL and the flow rate was 3 mL/min. The signal detection was performed at 505 nm by a UV-Vis detector (Knauer, Germany). The temperature during chromatographic isolation was ambient.

Semi-synthesis of betanin derivatives

17-decarboxylated-betanin and 2,17-bidecarboxy-betanin were obtained by heating of betanin aqueous solution acidified with formic acid for 30 min at 85°C. The final isolation of decarboxylated pigments was carried out by the same procedure of semi-preparative HPLC as for betanin.

UV-Vis spectra measurement

The reaction was monitored by collecting UV-Vis spectra for 0.6 h using a microplate reader. For this purpose, 10 μ L of each pigment was dispensed into 6 wells with buffer solutions in a pH range of 3–8. Immediately before measurement, 170 μ L of NaBH₄ aqueous solution (0.85 mM) were added to each well. The spectra were recorded in the range of 350–650 nm at 25°C within a 0,6 h period. The calculated optical path-length for a volume of 200 μ L in a microplate well was 0,53 cm.

LC-DAD-MS analysis

The reaction products were identified by means of positive ion electrospray mass spectra as recorded on ThermoFinnigan LCQ Advantage (electrospray voltage 4,5 kV; capillary 250°C; sheath gas: N₂) with a ThermoFinnigan LC Surveyor pump. An ONYX monolithic column 100 x 4.6 mm i.d. with a guard column (Phenomenex, Torrance, CA, USA) thermostated at 35°C was used. The

injection volume was 10 μL , the flow rate was 0.5 mL/min and the applied gradient system was: 95% A with 5% B at 0 min; gradient to 70% A with 30% B at 40 min (A, 1% (v/v) formic acid; B, acetonitrile). The controlling software, ThermoFinnigan Xcalibur (San Jose, CA, USA), was used for total ion chromatograms and mass spectra recording. The relative collision energies for the CID experiments were set at 30% (according to a relative energy scale). Helium was used as the collision gas for the CID experiments.

RESULTS AND DISCUSSION

UV-VIS spectra of betanin, 17-decarboxy-betanin and 2,17-bidecarboxy-betanin during reaction with NaBH_4 , presented in Figure 2, were measured for 0,6 h at different pH. In acidic solutions (pH 3–5), no significant changes were observed. Meanwhile, at pH 6, a second minor band in the range of 350–370 nm appears for each studied pigment which is more evident at higher pH. An even stronger effect for 17-decarboxy-betanin (17-dBt) is observed at pH 8 (Figure 2H). The new band may suggest the formation of a reduction product.

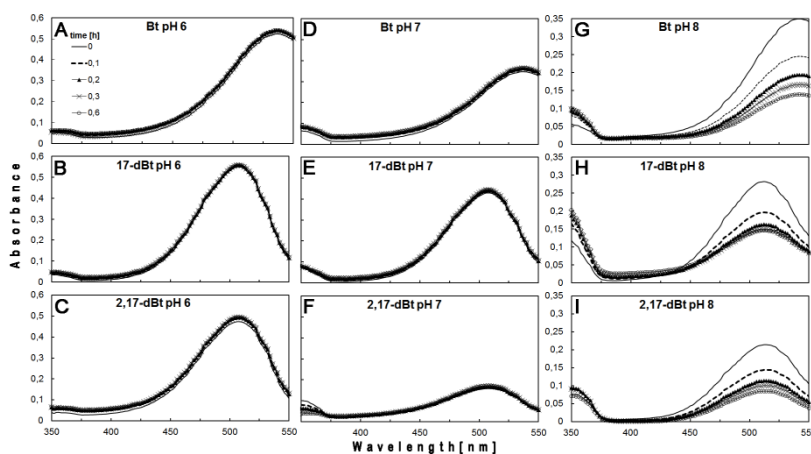


Figure 2. UV-VIS spectra measured during reaction of betanin (Bt), 17-decarboxy-betanin (17-dBt) and 2,17-bidecarboxy-betanin (2,17-dBt) with NaBH_4

The LC-MS data are presented in Figures 3–6 as well as in Table 1 including all measured details. The spectra recorded over LC-DAD-MS analysis prove arising of new absorption maxima in the range of 290–340 nm for each of the pigments (Figure 3, for 17-dBt). After experiment (Figure 3b) a distinct diminishing of absorption maxima at 505 nm of 17-decarboxy-betanin in agreement with an observation of a fading sample colour is shown. In the case of betanin and 2,17-bidecarboxy-betanin, similar results were noticed.

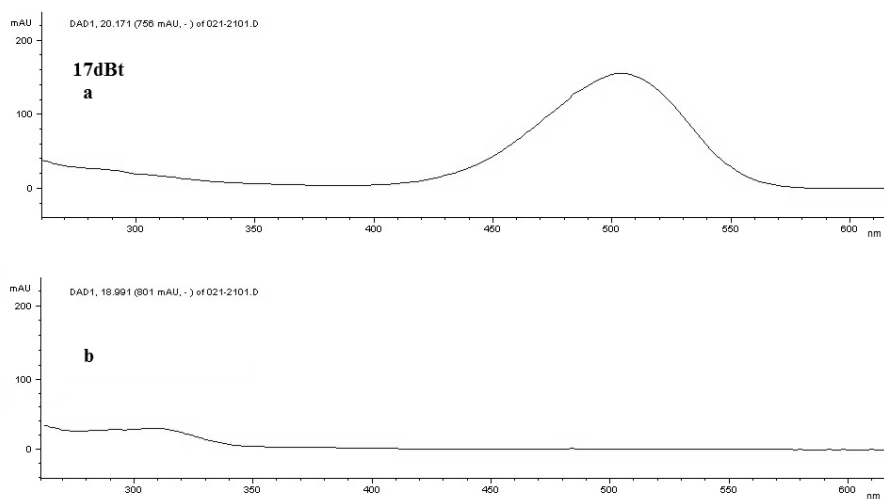


Figure 3. LC-DAD-MS spectra of 17-decarboxy-betanin (a) and 17-decarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betanin, the product of reduction (b)

Table 1. Chromatographic and mass-spectrometric data of analysed pigments subjected to reduction

No.	Compound	R_t [min]	m/z [M+H] ⁺	m/z from MS/MS of [M+H] ⁺
1a	betanin	19,9	551	389
1b	11,12,17,18-tetrahydro-betanin ^a	19,1	555	393
2a	17-decarboxy-betanin	20,3	507	345
2b	17-decarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betanin ^a	19,1	511	349
3a	2,17-bidecarboxy-betanin	22,2	463	301
3b	2,17-bidecarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betanin ^a	10,7	467	305

^a Tentatively identified

In LC-MS data for betanin after reduction by NaBH_4 in comparison to reference betanin (retention time R_t 19,9 min, m/z of protonated ion 551, Figure 4a), there are traces of two coeluting compounds at R_t 19,1 min, m/z of $[\text{M}+\text{H}]^+$ 555 (Figure 4b). This indicates a product of 4 hydrogen atoms addition to betanin. The fragmentation ion at m/z 393 confirms deglycosylation of the compound ($\Delta m/z$: $555 - 393 = 162$), which proves a 4 H addition into aglycone of betanin.

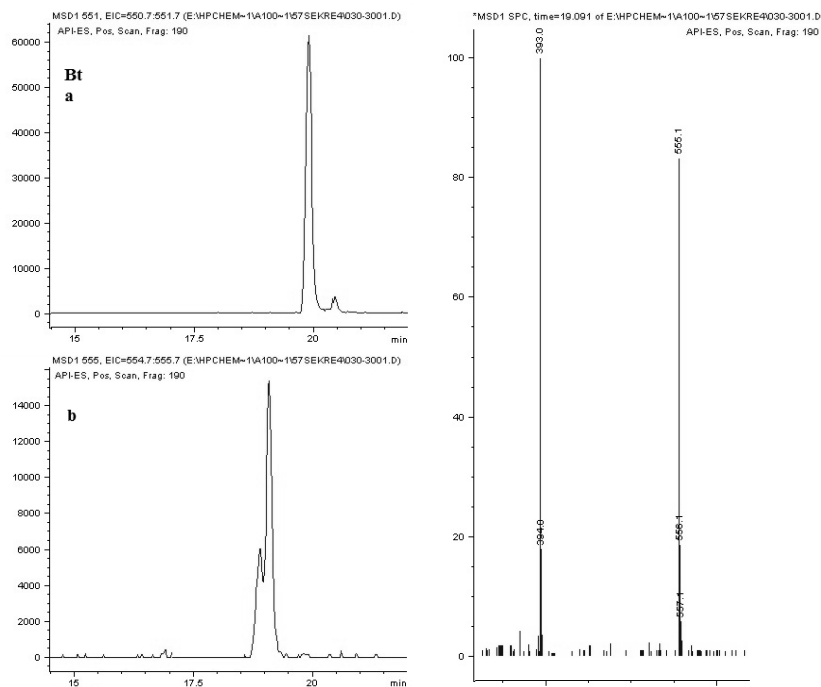


Figure 4. Chromatographic traces of betanin (a), 11,12,17,18-tetrahydro-betanin^a (b) and MS spectrum of 11,12,17,18-tetrahydro-betanin^a (c)

In the case of the product of a 17-decarboxy-betanin reduction, a single peak at R_t 19,1 is present (Figure 5b). Its protonated molecular ion is also increased by about a 4 hydrogen atoms mass. The fragmentation ion at 349,1 in comparison with corresponding ion $m/z = 345.1$ of reference ion is increased as well (Figure 5c). This suggests a similar position of a reduction in the structure of betanin and 17-decarboxy-betanin.

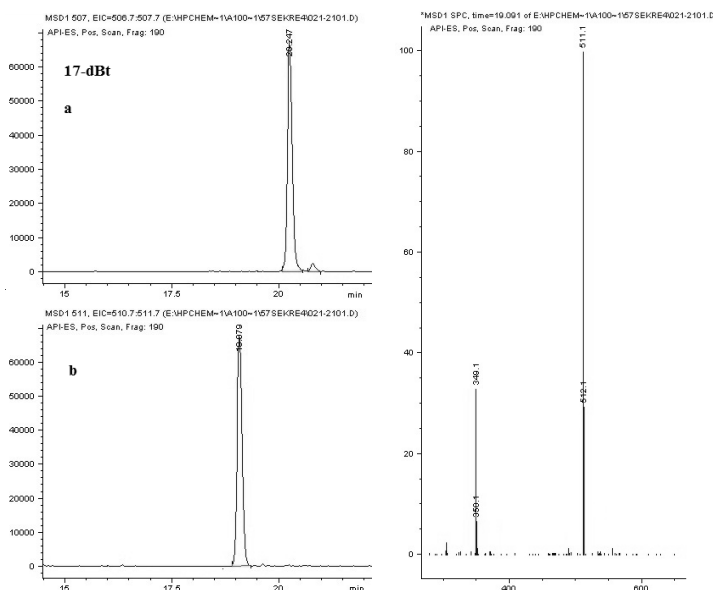


Figure 5. Chromatographic traces of 17-decarboxy-betainin (a), 17-decarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betainin^a (b) and MS spectrum of 17-decarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betainin (c)

For 2,17-bidecarboxy-betainin, a similar addition of 4 hydrogens is noted (Table 1). Interestingly, the product of 2,17-bidecarboxy-betainin reduction differs from that of betainin and 17-decarboxy-betainin, because of the shorter retention time, R_t 10.7 min (Figure 6), which may suggest a higher polarity. Further investigation is necessary to explain the fact.

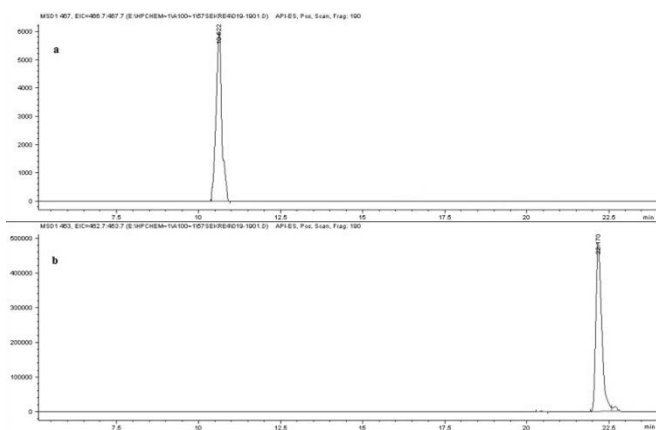


Figure 6. Chromatographic traces of 2,17-bidecarboxy-betainin (a) and 2,17-bidecarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betainin (b)

CONCLUSIONS

Presumably, the positions of the addition of hydrogen atoms over the reduction by NaBH_4 are C11 and C12 in the vinyl linker as well as C16 and C17. This suggestion, based on the previous study of Mabry et al., is shown in Figure 7⁶. Thus reduction of betacyanin pigments resulted in the destruction of 1,7-diazaheptamethin chromophoric system in their structures, which is proved by decreasing of the main absorption maxima. The proposed products of betanin, 17-decarboxy-betanin and 2,17-bidecarboxy-betanin are: 11,12,17,18-tetrahydro-betanin, 17-decarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betanin and 2,17-bidecarboxy-11,12,17,18-tetrahydro-betanin (Figure 7), respectively.

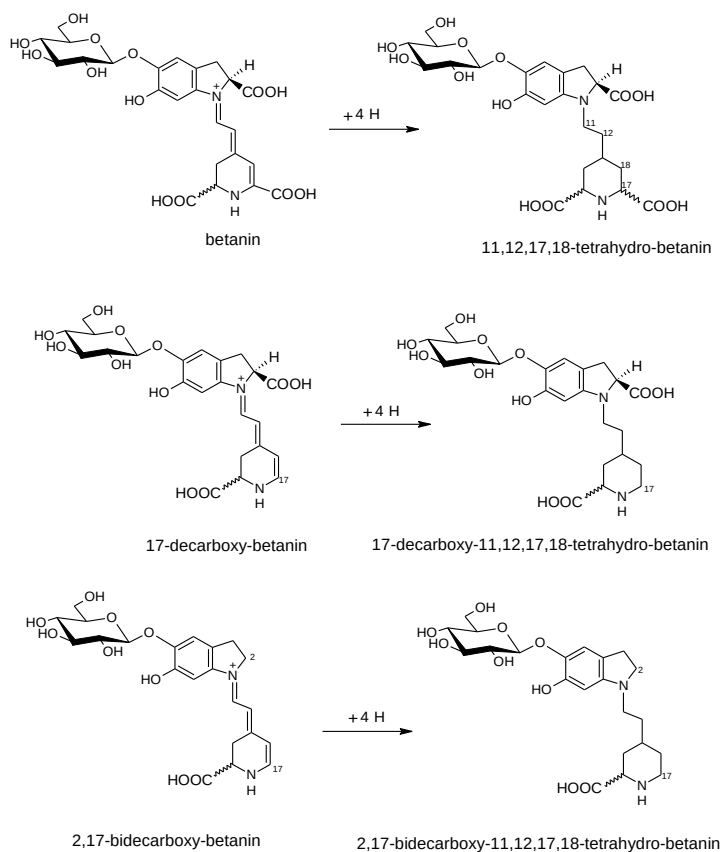


Figure 7. The presumable products of tested pigments reduction by NaBH_4

⁶ Ibidem.

REFERENCES

1. Castellar M. R., Solano F., Obón J. M., Betacyanin and Other Antioxidants Production During Growth of *Opuntia stricta* (Haw.) Fruits, *Plant Foods Hum. Nutr.* 2012, 67, 337.
2. Herbach K. M., Stintzing F. C., Carle R., Betalain Stability and Degradation – Structural and Chromatic Aspects, *J. Food Sci.* 2006, 71, 4, 42–44.
3. Mabry T. J., Wyler H., Parikh I., Dreiding A. S., The Conversion of Betanidin and Betanin to Neobetanin Derivatives, *Tetrahedron* 1967, 23, 3117.
4. Nemzer B., Pietrzkowski Z., Spórna A., Stalica P., Thresher W., Michałowski T., Wybraniec S., Betalainic and Nutritional Profiles of Pigment-enriched Red Beet Root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts, *Food Chem.* 2011, 127, 42–53.
5. Wybraniec S., Formation of Decarboxylated Betacyanins in Heated Purified Betacyanin Fraction from Red Beet Root (*Beta vulgaris* L.) Monitored by LC-MS/MS, *J. Agric. Food Chem.* 2005, 53, 3483–3487.

ZESZYTY NAUKOWE TOWARZYSTWA DOKTORANTÓW UJ NAUKI ŚCISŁE

Czasopismo naukowe wydawane od 2010 roku jako półrocznik przez Towarzystwo Doktorantów Uniwersytetu Jagiellońskiego. W ramach serii ścisłej Zeszytów Naukowych TD UJ publikowane są teksty z różnych dyscyplin mieszczących się w ramach nauk ścisłych, głównie medycyny, chemii, fizyki, biologii, informatyki. Na łamach czasopisma publikujemy:

- artykuły naukowe,
- opracowania będące wynikiem badań empirycznych,
- raporty i komunikaty,
- recenzje i omówienia tekstów ważnych dla danej dyscypliny,
- sprawozdania z konferencji, sympozjów, sesji naukowych, warsztatów.

Teksty publikowane na łamach Zeszytów Naukowych poddawane są procedurze recenzowania opisanej na stronie internetowej www.doktoranci.uj.edu.pl/zeszyty/pliki-do-pobrania, ponadto informuje się, że Redakcja zgodnie z wytycznymi Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego prowadzi działania antyghostwritingowe.

Osoby zainteresowane opublikowaniem tekstu w Zeszytach Naukowych TD UJ proszone są o nadsyłanie materiałów w językach polskim, angielskim, niemieckim, francuskim lub innym kongresowym. Do druku przyjmowane są wyłącznie prace oryginalne, wcześniej niepublikowane. Materiały powinny zawierać dodatkowo streszczenia w języku polskim i angielskim, słowa kluczowe w języku polskim i angielskim oraz bibliografię, a także notę o Autorze wraz z afiliacją i adresem mailowym. Redakcja zastrzega sobie prawo do wprowadzania zmian w tekście. Na ostatnim etapie przygotowywania publikacji przewidziana jest także korekta autorska i autoryzacja.

Kontakt z redakcją: scislezntduj@gmail.com

Adres redakcji: ul. Czapskich 4/14, 31-110 Kraków

