

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 MUSIOL
UNIwersYTET JagIELLOŃSKI

PROF. BIDERAKERE E. RANGASWAMY
BAPUJI INSTITUTE OF ENGINEERING AND TECHNOLOGY, INDIA

PROF. DR HAB. JACEK SKŁADZIEN
UNIwersYTET JagIELLOŃSKI

PROF. DR HAB. LESZEK SOSNOWSKI
UNIwersYTET JagIELLOŃSKI

PROF. DR HAB. BOGDAN SZLACHTA
UNIwersYTET JagIELLOŃSKI

PROF. LUIGIA DI TERLIZZI
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BARI ALDO MORO

ZESZYTY NAUKOWE TOWARZYSTWA DOKTORANTÓW
UNIwersYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

NAUKI ŚCISŁE

NUMER 10 (1/2015)

V KONFERENCJA DOKTORANTÓW
COLLEGIUM MEDICUM UJ
28–29 MAJA 2015 ROKU, KRAKÓW



KRAKÓW 2015

Zeszyty Naukowe Towarzystwa Doktorantów UJ
ul. Czapskich 4/14, 31-110 Kraków

Redaktor naczelny:
Marcin Lubecki

Zastępca redaktora naczelnego:
Rafał Kur

Sekretarz redakcji:
Natalia Anna Michna

Redaktor prowadząca serii:
Klaudyna Śpiewak

Redaktor tomu:
Bartłomiej Jałocha

Komitet naukowy konferencji:
prof. dr hab. Katarzyna Kieć-Kononowicz
prof. dr hab. Andrzej Pająk
prof. dr hab. Tomasz Mach
prof. dr hab. Renata Jachowicz
prof. dr hab. Rafał Olszanecki
dr hab. Grażyna Bochenek, prof. UJ
dr hab. Marek Kuźniewski, prof. UJ
dr hab. Jan Bilski
dr hab. Marta Cześniakiewicz-Guzik
dr hab. Krzysztof Gil
dr hab. Danuta Owczarek
dr hab. Jerzy Tomik

Projekt i przygotowanie okładki:
Szymon Drobnik, Rafał Kur

Współpraca wydawnicza:
Wydawnictwo Nowa Strona

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

SPIS TREŚCI

Wykłady specjalne

Sławomir Kwiecień	9
-------------------------	---

Antyoksydacyjne i gastroprotecyjne współdziałanie tlenku azotu (NO) oraz aspiryny

Barbara Maławska	11
------------------------	----

Możliwość terapii choroby Alzheimera lekiem wielofunkcyjnym

Agata Ptak-Belowska	12
---------------------------	----

Fizjologiczna rola receptorów związanych z białkami G oraz ich znaczenie w farmakoterapii

Marek Sanał	13
-------------------	----

MikroRNA w regulacji ekspresji genetycznej: marker czy mechanizm choroby

Janusz Ryś	14
------------------	----

Badania aberracji chromosomowych i ekspresji wybranych genów w materiale tkankowym

Abstrakty	19
-----------------	----

Suplement

Przemysław Gajda-Morszewski, Klaudyna Śpiewak	177
--	-----

Laktoferyna – białko multipotencjalne

Dominika Szot, Karolina Starzak, Anna Skopińska, Sławomir Wybraniec	189
--	-----

Mass Spectrometric Detection of New Betalains in Mammillaria Flowers

WYKŁADY SPECJALNE

DR HAB. SŁAWOMIR KWIECIEN

ANTYOKSYDACYJNE I GASTROPROTEKCYJNE WSPÓLDZIAŁANIE TLENKU AZOTU (NO) ORAZ ASPIRYNY

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

Aspiryna (kwas acetylosalicylowy) jest najstarszym i najpopularniejszym niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym (NLPZ). Od dawna znane są też efekty uboczne jej stosowania, prowadzące do powstawania uszkodzeń błony śluzowej żołądka: nadżerek, a nawet wrzodów. Szkodliwe działanie aspiryny na śluzówkę żołądka ma miejsce nie tylko od strony światła żołądka, ale może być też konsekwencją działania aspiryny już wchłoniętej i przedostającej się do żołądka drogą krwi. Główny mechanizm działania aspiryny polega na blokowaniu cyklooksygenazy (COX). Efekty zastosowania aspiryny mogą wynikać z jej bezpośredniego działania cytotoksycznego, z zahamowania produkcji prostaglandyn. Interesujące jest dwoiste działanie aspiryny w organizmie w aspekcie generowania wolnych rodników tlenowych. Z jednej strony mamy cytotoksyczne działanie aspiryny: aspiryna w żołądku indukuje chemotaksję neutrofilii, produkujących wolne rodniki tlenowe. Z drugiej strony aspiryna ulega zmetabolizowaniu do kwasu salicylowego. Kwas salicylowy posiada zaś zdolność inaktywowania wolnych rodników tlenowych, czego konsekwencją jest osłabienie intensywności powstawania nadtlenków lipidów. Nasz organizm prawdopodobnie posiada zdolność adaptacji do długotrwałego stosowania aspiryny. Wielokrotne podawanie aspiryny powoduje adaptację błony śluzowej żołądka, przejawiającą się zmniejszeniem liczby uszkodzeń. Zjawisko to tłumaczy się acetylacją indukowalnej cyklooksygenazy (COX-2). Tak zmodyfikowany enzym otwiera kaskadę produkcji lipoksyn. Lipoksyny zaś hamują naciek tkanek przez neutrofile, zmniejszając tym samym oksydacyjne uszkodzenie tkanek. Gastroprotekcyjne działanie lipoksyn mediowane jest najprawdopodobniej przez NO. Efekty działania NO uzależnione są od jego ilości w tkankach. Małe ilości NO, na poziomie niskim, fizjologicznym, produkowane przez konstytutywną syntazę NO, wykazują działanie ochronne, gastroprotekcyjne. Wynika ono ze zwiększenia żołądkowego przepływu krwi, jak również neutralizacji wolnych rodników tlenowych. Natomiast duże ilości NO, produkowane przez indukowalną syntazę NO, obecną w makrofagach, wywołują efekt cytotoksyczny. Ze względu na efekty uboczne działania aspiryny obiektem badań stała się pochodna kwasu acetylosalicylowego, połączona wiązaniem kowalencyjnym z cząsteczką NO poprzez dołą-

czenie reszty nitroksybutylowej: NO-aspiryna. Substancja ta ma łączyć cechy inhibitora COX z właściwościami donora NO, a przez to wykazywać mniejsze skutki uboczne swego działania. Zastosowanie NO-aspiryny, w przeciwieństwie do aspiryny, zmniejsza liczbę uszkodzeń śluzówki żołądka między innymi dzięki zmniejszeniu nasilenia działania wolnych rodników tlenowych i wzrostowi aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Mechanizmy zależnej od NO gastroprotekcji związane są ze wzrostem żołądkowego przepływu krwi, zmiatania wolnych rodników tlenowych, hamowania napływu neutrofilów i ich interakcji z płytkami krwi. Wymienione efekty wzmacniają integralność bariery śluzówkowej żołądka.

PROF. DR HAB. BARBARA MALAWSKA

MOŻLIWOŚĆ TERAPII CHOROBY ALZHEIMERA LEKIEM WIELOFUNKCYJNYM

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

Alarmujące prognozy obrazujące nieustanny wzrost chorych dotkniętych niszczącą, neurodegeneracyjną chorobą Alzheimera wymagają poszukiwania skutecznych sposobów jej leczenia. Aktualnie w terapii tej choroby stosowane są jedynie leki o działaniu objawowym, trzy będące inhibitorami cholinioesteraz oraz antagonistą receptorów NMDA. Od 2003 roku nie został zarejestrowany żaden nowy lek.

W poszukiwaniu potencjalnego leku przeciwko chorobie Alzheimera brana jest pod uwagę wielka liczba odkrytych celów terapeutycznych i różne strategie leczenia. Cele terapeutyczne w leczeniu choroby Alzheimera mogą być związane z leczeniem jej objawów lub przyczyn powstawania. Te ostatnie wiążą się z neurotoksycznym działaniem białek beta amyloidu, tau oraz neuroprotekcją. Złożoność choroby Alzheimera oraz poznanie wielu potencjalnych celów biologicznych spowodowały w ostatnich latach zastosowanie do poszukiwania nowego leku w chorobie Alzheimera strategii projektowania ligandu wielofunkcyjnego. Jest ona szczególnie odpowiednia dla chorób o złożonej etiologii, z wieloma czynnikami patogenetycznymi, jak przykładowo choroby neurodegeneracyjne. Jej celem jest stworzenie pojedynczej cząsteczki, która poprzez równoczesne oddziaływanie (polifarmakologia) z wieloma celami może być bardziej skuteczna aniżeli poprzez działanie z pojedynczym celem.

Strategia ta zostanie zaprezentowana na przykładzie cząsteczek ligandów wielofunkcyjnych o potwierdzonej aktywności w badaniach przedklinicznych i klinicznych. Przedstawione zostaną także wyniki badań własnych obejmujących związki o właściwościach hamujących cholinioesterazy, agregację beta amyloidu oraz o działaniu neuroprotekcijnym.

DR HAB. AGATA PTAK-BELOWSKA, PROF. UJ

FIZJOLOGICZNA ROLA RECEPTORÓW ZWIĄZANYCH Z BIAŁKAMI G ORAZ ICH ZNACZENIE W FARMAKOTERAPII

AFILIACJA: Katedra Fizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Receptory sprzężone z białkami G, GPCR (*G protein coupled receptors*), siedmiotransbłonowe (7TM) to największa, zróżnicowana grupa białek błonowych. Są one odpowiedzialne za przekazywanie sygnałów przez dwuwarstwową błonę lipidową do miejsc efektorowych znajdujących się we wnętrzu komórki.

Receptory GPCR zbudowane są z pojedynczych łańcuchów polipeptydowych, których domenę transbłonową tworzy 7 hydrofobowych alfa-helis połączonych 3 pętlami na zewnątrz i 3 wewnątrz komórki. Karboksylowy koniec łańcucha białkowego (C-koniec) znajduje się po wewnętrznej stronie komórki, koniec aminowy (N-koniec) jest na zewnątrz komórki.

Białka G to rodzina białek biorących udział w przenoszeniu sygnałów chemicznych pochodzących z zewnątrz komórki do jej wnętrza. Ich aktywność regulowana jest przez czynniki, które kontrolują zdolność do wiązania i hydrolizy GTP do GDP. Kiedy przyłączają GTP, są aktywne, a gdy GDP, są nieaktywne. Białka te należą do grupy enzymów GTP-az. Białka G są ważnymi cząsteczkami przewodzącymi sygnał w komórce.

Istnieje ok. 800 różnych typów receptorów należących do rodziny GPCR, z których ponad połowa wykazuje potencjalne znaczenie dla przemysłu farmaceutycznego. Inhibitory współzawodniczące z ligandami w przypadku wiązania z receptorem GPCR hamują ścieżkę sygnału, zapobiegając zmianie konformacji, która aktywuje białko G. W farmakologii istotne znaczenie mają takie inhibitory receptorów GPCR, jak np. propranolol i cimetidina, hamujące odpowiednio receptory: adrenergiczny – β_2 (β AR) i histaminowy H_2 . Inne związki farmaceutyczne są ligandami, które aktywują np. receptory dopaminy i serotoniny w leczeniu choroby Parkinsona, migreny. Mogą też być odwrotnymi ligandami, które zapobiegają podstawowej czynności np. receptora GABA – związanego z pamięcią i uczeniem się.

PROF. DR HAB. MAREK SANAK

MIKRORNA W REGULACJI EKSPRESJI GENETYCZNEJ: MARKER CZY MECHANIZM CHOROBY

AFILIACJA: Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, II Katedra Chorób Wewnętrznych im. Andrzeja Szczeklika, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Małą cząsteczkę RNA powstającą z transkryptu jej prekursorowego genu (*Lin-4*) odkryto w 1993 roku jako regulator stadiów rozwojowych u nicienia. W latach 2001–2004 wykazano, że ekspresja genetyczna może podlegać szybkim zmianom, niezależnym od tempa transkrypcji. Odbywa się to przez wybiórczą degradację mRNA lub hamowanie jego translacji. Mechanizm ten okazał się uniwersalny dla świata roślin i zwierząt. Liczba dobrze poznanych cząsteczek mikroRNA zmieniających ekspresję genów kodujących białka u człowieka wynosi blisko 2000. Odkryto dalszych 2500 kandydatów dla mikroRNA, spośród których taką funkcję udokumentowano w dalszym 1000 cząsteczek obecnych w komórkach człowieka. Cechą charakterystyczną mikroRNA jest zmiana liczby tych cząsteczek zarówno w czasie rozwoju organizmu, jak i różnicowania indywidualnych komórek. Przykładowo, znanych jest ponad 400 mikroRNA o ekspresji swoistej wyłącznie dla neuronów albo komórek nerek. Ekspresja mikroRNA ulega zmianom w komórkach nowotworowych. Jest to przede wszystkim przejaw utraty kontroli genetycznej towarzyszącej ich złośliwieniu. Stąd intensywne poszukiwania markerów mikroRNA (onkomirów), których wykrycie ułatwiłoby diagnostykę tych chorób. Jednoniciowe RNA jest bardzo nietrwałą i podatną na degradację cząsteczką. Jednak system transportu wewnątrz- i zewnątrzkomórkowego, polegający na wiązaniu mikroRNA z białkami nośnikowymi oraz ich obecnością w mikrocząstkach komórkowych, powoduje, że względnie łatwo jest mierzyć mikroRNA w płynach ustrojowych i preparatach tkankowych. Przedstawione zostaną dwa przykłady badań własnych, w których ekspresja mikroRNA korelowała z procesem choroby, będąc nie tylko jej markerem, lecz również ważnym ogniwem mechanizmu.

PROF. DR HAB. JANUSZ RYŚ

BADANIA ABERRACJI CHROMOSOMOWYCH I EKSPRESJI WYBRANYCH GENÓW W MATERIALE TKANKOWYM

AFILIACJA: Zakład Patomorfologii Nowotworów, Centrum Onkologii, Instytut im M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Od ponad 20 lat badania cytogenetyczne i wybrane techniki molekularne stanowią integralną część analiz morfologicznych wykonywanych na potrzeby diagnostyki nowotworów. Dzięki nim możliwe było opisanie nowych jednostek morfologiczno-klinicznych, a także wprowadzenie testów laboratoryjnych służących selekcji chorych do tzw. leczenia celowanego/spersonalizowanego.

Początkowo badania cytogenetyczne i molekularne wykorzystywano głównie w diagnostyce nowotworów układu hematopoetycznego (białaczki) i chłonnego (nieziarnicze chłoniaki), a także mięsaków. Z czasem znalazły one zastosowanie także w diagnostyce nowotworów nabłonkowych, w szczególności ślinianek, tarczycy, nerek, płuc i sutka. W szeregu wspomnianych nowotworów komórki guza charakteryzują się występowaniem powtarzających się i nieprzypadkowych aberracji chromosomowych, prowadzących do powstania genów fuzyjnych. Białkowe produkty tych genów pełnią funkcję onkoprotein stymulujących proliferację komórek i czynników transkrypcyjnych, decydujących o różnicowaniu się komórek. Na przykład wśród mięsaków tkanek miękkich tego typu zmiany obserwuje się w ok. 25% guzów (*T-sarcomas*).

Klasyczne badania cytogenetyczne mają ograniczone zastosowanie w rutynowej diagnostyce morfologicznej nowotworów, gdyż wymagają nieutrwalonego materiału cytologicznego bądź tkankowego, pobranego dodatkowo w warunkach sterylnych. Tymczasem molekularne substytuty klasycznych technik cytogenetycznych pozwalają także na analizę materiału utrwalonego w alkoholu lub formalinie i zatopionego w blokach parafinowych. Do wspomnianych metod zaliczane jest m.in. badanie techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) z użyciem sond typu *break apart probes*. W badaniu tym wykorzystywane jest zjawisko pęknięcia chromosomów w miejscu lokalizacji genów uczestniczących w tworzeniu genu fuzyjnego. Ma ono szereg zalet w porównaniu z klasycznymi badaniami cytogenetycznymi i badaniami molekularnymi techniką PCR. Pozwala na analizę nawet pojedynczych komórek nowotworowych zarówno w materiale tkankowym, jak i w rozmazach cytologicznych, umożliwia identyfikację

rodzaju komórek wykazujących aberrację chromosomową (badanie *in situ*) oraz cechuje się większą czułością (ze względu na wykorzystanie sond DNA) w przypadku badania materiału archiwalnego. Co najistotniejsze, badanie techniką FISH z użyciem sond typu *break apart probes* pozwala na wykrycie w trakcie jednego testu laboratoryjnego guzów prezentujących różne warianty genów fuzyjnych.

Stale rosnąca liczba komercyjnie dostępnych sond umożliwia precyzyjną diagnostykę coraz większej liczby nowotworów. Dla przykładu, badanie z użyciem sondy *TFE3 – break apart probe* pozwala na identyfikację opisanego niedawno raka nerki z translokacją fragmentu chromosomu X (Xp11.2 *translocation renal cell carcinoma*), a test z użyciem sondy *ETV6 break apart probe* na rozpoznanie raka wydzielniczego (*secretory carcinoma*) sutka lub ślinianek. W gronie złośliwych nowotworów o różnicowaniu mezenchymalnym badania FISH pozwalają na ustalenie ostatecznego rozpoznania m.in. mięsaka maziówkowego, odmiany pęcherzykowej mięsaka mięśniowego prążkowanego-komórkowego, mięsaka stromalnego (*low-grade stroma sarcoma*) czy wrodzonego włókniakomięsaka niemowląt (*infantile fibrosarcoma*). Technika FISH umożliwia także identyfikację zwielokrotnienia liczby kopii genów biorących udział w powstawaniu raków sutka z ekspresją receptora HER2, dobrze zróżnicowanych i odróżnicowanych tłuszczakomięsaków (amplifikacja *MDM2*) i nerwiaka zarodkowego (*neuroblastoma*) (amplifikacja *N-MYC*).

Białkowe produkty genów uczestniczących w powstawaniu genów fuzyjnych można identyfikować metodami immunohistochemicznymi przy użyciu specyficznych przeciwciał, np. dodatnia reakcja jądrowa z przeciwciałem przeciwko białkowemu produktowi genu *TFE3* pozwala na potwierdzenie rozpoznania mięsaka pęcherzykowego tkanek miękkich (*alveolar soft part sarcoma*) oraz wspomnianej wcześniej szczególnej odmiany raka nerki. W oparciu o badania immunohistochemiczne możliwe jest również rozpoznanie nowotworów, których rozwój związany jest z utratą wybranych genów supresorowych, np. badanie utraty ekspresji białka INI1 w mięsaku nabłonkowatym i w złośliwych guzach rhabdoidnych. W ostatnich latach pojawiły się również nowe przeciwciała skierowane przeciwko białkowym produktom genów specyficznych dla poszczególnych nowotworów, które zostały zidentyfikowane w oparciu o badania z użyciem mikromacierzy DNA (np. białka TLI-1, AP2 β , APO-D wykorzystywane w diagnostyce odpowiednio: mięsaka maziówkowego, guzów typu *alveolar rhabdomyosarcoma* oraz włókniakomięsaka skóry). Badania te mogą być substytutem badań cyto-genetycznych lub badań molekularnych.

ABSTRAKTY

TOMASZ ADAMUS, PAWEŁ KONIECZNY, MARCIN MAJKA

IDENTYFIKACJA POTENCJALNYCH CELÓW TERAPEUTYCZNYCH W PROGRESJI PRZERZUTOWEJ RAKA SZYJKI MACICY

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

Przeżywalność pacjentek cierpiących na raka szyjki macicy zależy bezpośrednio od złośliwości i stopnia zaawansowania nowotworu. Zbyt późna diagnoza RSM może implikować wystąpienie zaawansowanych stadiów choroby w postaci naciekania tkanek sąsiednich, co w rezultacie utrudnia leczenie. Mechanizmy odpowiadające za wzrost inwazyjności komórek RSM nie zostały do końca poznane.

Celem pracy jest określenie mechanizmów odpowiadających za progresję przerzutową RSM na różnych etapach zaawansowania nowotworu. Sprecyzowanie szlaków sygnałowania wewnątrzkomórkowego związanych ze wzrostem inwazyjności komórek pozwoli na wyróżnienie potencjalnych celów terapeutycznych.

W eksperymentach zostały wykorzystane linie komórkowe raka szyjki macicy C-4I oraz HTB-35 reprezentujące różny stopień zaawansowania nowotworu. Komórki były stymulowane czynnikami wzrostu charakterystycznymi dla mikrośrodowiska nowotworu, w obecności lub przy braku specyficznych inhibitorów szlaków wewnątrzkomórkowych. Profile ekspresji genów związanych z przerzutowaniem zostały określone metodą Real-Time PCR na poziomie transkryptu oraz Western Blot na poziomie białka. Lokalizację wewnątrzkomórkową białek i zmiany w obrębie cytoszkieletu komórkowego określono przy użyciu barwienia immunofluorescencyjnego.

Zaobserwowano zmiany w profilach ekspresji i lokalizacji białek SNAIL, SLUG, ZEB1, które umożliwiają nabywanie właściwości inwazyjnych nowotworu. Wykazano, że na wczesnych etapach nowotworzenia czynnik stymulujący HGF jest niezbędny, ale nie wystarcza do zapoczątkowania procesów przerzutowania. Dowiedziono, że czynnik Wnt-5a współuczestniczy w aktywacji progresji przerzutowej. Niespodziewanie, wbrew powszechnie panującej opinii, wykazano, że spadek ekspresji molekuł adhezyjnych nie jest kluczowy do nabycia przez komórki inwazyjnego fenotypu w raku szyjki macicy.

Podsumowując, oś HGF/MET jest w pełni odpowiedzialna za nabywanie przez komórki raka szyjki macicy właściwości inwazyjnych. Wykorzystanie niskocząsteczkowych inhibitorów kaskady enzymatycznej receptora MET może pozwolić na opracowanie bardziej skutecznych schematów terapeutycznych RSM.

MICHAŁ ANDRES, ANDRZEJ JAWOREK, DANIELA SITKO,
MAGDALENA SPALKOWSKA, ANNA WOJAS-PELJC

INFEKCJE GRZYBICZE SKÓRY ANALIZA WYNIKÓW BADAŃ MYKOLOGICZNYCH

AFILIACJA: Katedra i Klinika Dermatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Powierzchnowe zakażenia grzybicze stanowią wciąż istotny problem kliniczny w codziennej ambulatoryjnej praktyce dermatologicznej. Analiza czynników etiologicznych infekcji grzybiczych na danym terenie ma duże znaczenie epidemiologiczne oraz może być przydatna w podejmowaniu decyzji diagnostyczno-terapeutycznych.

Cel pracy: Analiza czynników patogennych grzybic w materiale Referencyjnej Pracowni Mykologii pobranym w 2010 roku od 810 pacjentów w wieku 0,2–83 lat (472 płci żeńskiej oraz 338 płci męskiej).

Metodyka: Diagnostyka mykologiczna została wykonana z wykorzystaniem aktualnych metod laboratoryjnych. Badanie przeprowadzili diagnostyci laboratoryjni z wieloletnim doświadczeniem w diagnostyce mykologicznej. Analizie poddano 810 wyników badań mykologicznych (z materiału pobranego ze zmian skórnych oraz paznokci dłoni i stóp).

Wyniki: Zakażenie grzybicze potwierdzono w 311 przypadkach – w grupie badanych mężczyzn zakażenie potwierdzono w 42,01%, w grupie kobiet w 35,8% (w ośmiu przypadkach wyhodowano dwa rodzaje grzybów z pojedynczego materiału). Najczęściej izolowanym gatunkiem był *Trichophyton rubrum* (44,7%). Pozostałe wyizolowane grzyby obejmowały: *C. glabrata* (9%), *Rhodotorula sp* (8,4%), *Trichophyton mentagrophytes* (6,75%), *C. albicans* (6,75%), *Malassezia furfur* (4,5%), *C. pseudotropicalis* (4,5%), *Scopulariopsis brevicaulis* (3,86%), *Aspergillus sp* (3,86%), *C. tropicalis* (2,89%), *Microsporum canis* (2,57%), inne (2,22%).

Wnioski. Najczęstszym czynnikiem patogennym w badanej populacji był *Trichophyton rubrum*, z najczęstszą lokalizacją w obrębie paznokci stóp. *Trichophyton rubrum* występował częściej w grupie badanych mężczyzn niż u kobiet ($p=0,0046$).

KAROLINA BABIUCH*, BARBARA KĘSEK*, BEATA KUŚNIERZ-CABALA**,
MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA*

OCENA STĘŻENIA MMP-8, MMP-9 ORAZ TIMP-1 W ŚLINIE PACJENTÓW ZE ZMIANAMI POTENCJALNIE ZŁOŚLIWYMI I RAKIEM PŁASKONABŁONKOWYM KOLCZYSTOKOMÓRKOWYM W OBRĘBIE BŁONY ŚLUZOWEJ JAMY USTNEJ

AFILIACJA: * Katedra i Zakład Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Diagnostyki, Katedra Biochemii Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Rak płaskonabłonkowy kolczystokomórkowy (RPK) jest najczęstszą postacią raka jamy ustnej i bywa poprzedzony obecnością zmian potencjalnie złośliwych (ZPZ). Bezpośredni kontakt śliny ze zmianami patologicznymi w jamie ustnej sprawia, że oznaczanie markerów nowotworowych w tym materiale może okazać się przydatne w diagnostyce raka jamy ustnej. Metaloproteinazy są odpowiedzialne za rozpad macierzy zewnątrzkomórkowej i błony podstawnej oraz przypisuje się im kluczową rolę w procesie kancerogenezy.

Cel pracy: Ocena przydatności pomiaru stężenia MMP-8, MMP-9 i TIMP-1 w ślinie w diagnostyce RPK.

Metodyka: Badaniem objęto 54 pacjentów, po 9 osób w każdej z grup: leukoplakia homogenna (HLE), leukoplakia niehomogenna (NHLE), postać siateczkowa/płytkowa liszaja płaskiego (SPLP), postać atroficzna/nadżerkowa liszaja płaskiego (ANLP), RPK oraz grupa kontrolna (GK). Próbkę śliny zebrano i odwirowano w sposób standardowy. Analizę stężenia MMP-8 MMP-9 oraz TIMP-1 przeprowadzono, wykorzystując zestawy ELISA (R&D Systems).

Wyniki: Średnie stężenia MMP-8, MMP-9 i TIMP-1 były wyższe u pacjentów ze ZPZ i RPK niż w GK. Tylko różnice stężenia TIMP-1 pomiędzy HLE/GK, SPLP/GK oraz zmiany dysplastyczne/GK były istotne statystycznie ($p=0,047$; $0,005$; $0,039$). Pomimo znacznie wyższych stężeń MMP-8, MMP-9 i TIMP-1 u pacjentów ze zmianami dysplastycznymi niż w GK (o: 200%; 264%; 75%) nie wykazano istotności statystycznej tych różnic. Średnie stężenia MMP-8, MMP-9 oraz TIMP-1 w RPK były wyższe niż w GK, ale niższe niż u pacjentów ze zmianami dysplastycznymi. Różnice te również nie były istotne statystycznie.

Wnioski: Wyniki badania poziomu MMP-8, MMP-9 i TIMP-1 w ślinie pacjentów ze ZPZ i RPK są obiecujące, jednak ze względu na jego pilotażowy charakter wymagają potwierdzenia na większej grupie osób.

MAGDALENA BARAN*, MARTA MAJORCZYK**

WPLYW TERAPII BIOLOGICZNEJ NA JAKOŚĆ ŻYCIA CHORYCH CIERPIĄCYCH NA REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW. PRZEGLĄD BADAŃ WŁASNYCH

AFILIACJA: * Wydziału Nauk o Zdrowiu, Zakład Fizjologii Medycznej, Instytut Fizjoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Szpital Uniwersytecki; ** Wydziału Nauk o Zdrowiu, Zakład Fizjologii Medycznej, Instytut Fizjoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Gabinet Fizjoterapii

Reumatoidalne zapalenie stawów (rzs) jest jednym z najczęstszych schorzeń układu kostno-stawowego i tkanki łącznej. Dotyka osoby w stosunkowo młodym wieku, między 30. a 50. rokiem życia. Złotym standardem w leczeniu tych objawów są Leki Modyfikujące Przebieg Choroby (LMPCh), głównie metotrekسات. Ponad 10 lat temu wprowadzono do farmakologii leki biologiczne. Mimo wielu skutków ubocznych lekarze i naukowcy pokładają w nich duże nadzieje.

Celem pracy była ocena wpływu leków biologicznych na jakość życia chorych na rzs na podstawie badań własnych retrospektywnych.

Przeprowadzono dwa badania w latach 2011 oraz 2012/2013. Zostali nimi objęci chorzy na reumatoidalne zapalenie stawów, którzy ukończyli 18. rok życia. Sumarycznie przebadano 149 chorych na rzs (75 pacjentów leczonych LMPCh oraz 76 chorych, u których wdrożona jest terapia biologiczna). Wśród pierwszej grupy dokonano analizy wpływu dotychczasowego leczenia na jakość życia. W drugiej grupie zbadano zależność poziomu jakości życia od stosowania terapii biologicznej. Użyto kwestionariusza SF-36. Wyniki badań zostały opracowane metodami statystycznymi w użyciu programu Statistica 10.0. Niniejsze wyniki badań stały się podstawą pracy doktorskiej z zakresu jakości życia chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

Wyniki badań przedstawiają silną zależność między przyjmowanymi lekami a oceną stanu zdrowia – lepsza ocena stanu zdrowia była obserwowana u chorych leczonych lekami biologicznymi ($p < 0,01$), a także między jakością życia a stosowaną terapią farmakologiczną ($p < 0,01$).

Analiza uzyskanych materiałów badawczych wskazuje na znaczną poprawę jakości życia chorych leczonych biologicznie w porównaniu z poprzednim leczeniem LMPCh oraz z chorymi aktualnie leczonymi LMPCh.

EWA BŁASZCZYK, PAWEŁ JAGIELSKI, MAŁGORZATA SCHLEGEL-ZAWADZKA

CZYNNIKI ZWIĄZANE Z KONSUMPCJĄ NAPOJÓW ENERGETYZUJĄCYCH WŚRÓD MŁODZIEŻY Z WOJEWÓDZTWA PODKARPACKIEGO. WYNIKI WSTĘPNE BADAŃ WŁASNYCH

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

Rosnące spożycie napojów energetyzujących (ang. *energy drinks*) w grupie dzieci i młodzieży oraz związane z ich konsumpcją negatywne konsekwencje zdrowotne stanowią wyzwanie dla zdrowia publicznego.

Celem badań była ocena czynników decydujących o zakupie napojów energetyzujących wśród młodzieży pochodzącej z terenów południowej Polski.

W badaniu udział wzięło 198 uczniów zarówno pierwszych, jak i drugich klas szkół ponadgimnazjalnych z województwa podkarpackiego. Wykorzystanym narzędziem był autorski anonimowy kwestionariusz oceniający zachowania żywieniowe oraz częstotliwość spożycia wybranych produktów i napojów. W badaniu wzięło udział 105 chłopców (53,03%) oraz 93 dziewczęta (46,97%) w wieku $17,04 \pm 0,57$ lat. Zaznaczyły się istotne statystycznie różnice pod względem częstotliwości spożycia napojów energetyzujących ($p=0,0092$). Kilka razy w tygodniu po napoje energetyzujące sięga 6,67% chłopców i 5,38% dziewcząt. Codziennie lub kilka razy dziennie napoje energetyzujące kupowało prawie 2% chłopców. Głównymi źródłami informacji o napojach energetyzujących w badanej grupie byli rówieśnicy (37,37%) oraz internet (31,31%). Czynnikiem decydującym o ich zakupie zarówno w grupie chłopców, jak i dziewcząt był smak (24,73% i odpowiednio 22,86%). Najczęściej wskazywanym powodem zakupu w badanej grupie ogółem (23,23%), jak również w grupach płci (chłopcy 21,90%, dziewczęta 24,73%) jest zmniejszenie sennaści. Chłopcy równie często wybierają napoje energetyzujące dla ugaszenia pragnienia (21,90%). Półlitrowe opakowania napojów energetyzujących kupowało 15,24% chłopców i 5,38% dziewcząt. Chłopcy istotnie częściej niż dziewczęta wybierali większe jednostkowe opakowania tego rodzaju napojów ($p=0,0427$). Badani chłopcy znacznie częściej niż dziewczęta ($p=0,0001$) spożywają napoje energetyzujące podczas uprawiania sportu.

W badanej grupie stwierdzono nieprawidłowości związane z zakupem przez chłopców napojów energetyzujących w dużych jednostkowych opakowaniach, jak również z wyborem napojów energetyzujących z powodu gaszenia pragnienia.

ŻANETA BRONIEWSKA

POCHODNE BENZOFENONU – DZIAŁANIE NEUROTOKSYCZNE W BADANIACH *IN VITRO*

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

Pochodne benzofenonu należą do grupy związków chemicznych szeroko stosowanych w preparatach kosmetycznych jako filtry UV. Ich działanie na receptory estrogenowe jest stosunkowo dobrze poznane, natomiast wpływ pochodnych benzofenonu na ośrodkowy układ nerwowy 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 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. Natomiast proces apoptozy był oceniany przez pomiar aktywności kaspazy-3.

Stwierdzono, że benzofenon-2 oraz benzofenon-3 obecne w pożywce hodowlanej przez 72 h w stężeniu 10^{-4} oraz 10^{-5} M wykazują działanie cytotoksyczne. Działanie uszkodzające komórki nerwowe zostało potwierdzone przez pomiar stężenia dehydrogenazy mleczanowej oraz testem redukcji MTT. W przeciwieństwie do tych związków 4-metylobenzofenon wywierał cytotoksyczne działanie wyłącznie w stężeniu 10^{-4} M.

Stwierdzono, że benzofenon-3 w stężeniach od 10^{-4} do 10^{-7} powodował znaczną aktywację kaspazy-3 (obecny w medium hodowlanym przez 24 godz.). Natomiast Benzofenon-2 oraz 4-metylobenzofenon w stężeniach 10^{-4} do 10^{-6} również nasilał aktywność kaspazy-3.

Uzyskane wyniki wskazują, że niektóre pochodne benzofenonu, a zwłaszcza benzofenon-2, mogą być odpowiedzialne za inicjowanie i 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

WPLYW REHABILITACJI KARDIOLOGICZNEJ NA JAKOŚĆ ŻYCIA 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: Tętnicze nadciśnienie płucne (TNP) charakteryzuje wzrost ciśnienia w łożysku płucnym. Wprowadzenie nowoczesnych leków swoistych dla TNP 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 wpływu 12-tygodniowego programu nadzorowanych ćwiczeń fizycznych na jakość życia pacjentów z TNP.

Metodologia: Pacjenci z TNP w klasie wydolności II–IV wg WHO na stabilnej terapii farmakologicznej przez okres przynajmniej 3 miesięcy byli włączani do badania. W skład programu rehabilitacji wchodził 2-tygodniowy okres rehabilitacji stacjonarnej połączony z 10-tygodniowym okresem rehabilitacji domowej monitorowanej telemetrycznie. U każdego pacjenta przed włączeniem do badania oraz po 12 tygodniach oceniono jakość życia przy użyciu polskiej wersji kwestionariusza SF-36 (Short Form Health Survey). Leczenie farmakologiczne pozostało niezmienione przez cały okres rehabilitacji.

Wyniki: 8 pacjentów (5 kobiet i 3 mężczyzn) z TNP (5 z idiopatycznym TNP, 3 z zespołem Eisenmengera) w średnim wieku $49,5 \pm 12,8$ lat ukończyło pełny 12-tygodniowy program rehabilitacji. Po 12 tygodniach odnotowaliśmy istotną poprawę jakości życia w stosunku do wartości wyjściowych w zakresie wskaźników ogólnego poczucia zdrowia ($p=0,036$) oraz wyniku ogólnego ($p=0,018$). Natomiast nie odnotowaliśmy różnicy w zakresie wskaźników funkcjonowania fizycznego ($p=0,529$), ograniczenia w pełnieniu ról z powodu zdrowia fizycznego ($p=0,208$), dolegliwości bólowych ($p=0,398$), witalności ($p=0,529$), funkcjonowania społecznego ($p=0,398$), ograniczenia w pełnieniu ról wynikającego z problemów emocjonalnych ($p=0,593$) i poczuciu zdrowia psychicznego ($p=0,327$).

Wnioski: 12-tygodniowy program rehabilitacji kardiologicznej u pacjentów z TNP wpłynął na poprawę ogólnego poczucia zdrowia, natomiast pozostałe składowe jakości życia pozostały bez zmian. Rehabilitacja kardiologiczna może się stać obiecującym uzupełnieniem leczenia farmakologicznego pacjentów z TNP.

BARTOSZ BRZOWSKI, DANUTA OWCZAREK, BEATA LICKIEWICZ,
JANINA ZAHRADNIK-BILSKA, MAŁGORZATA ZWOLIŃSKA-WCISŁO,
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, które mogą mieć wpływ na zaostrzenie aktywności klinicznej NZJ, ze szczególnym uwzględnieniem stresu.

Materiał i metody: U chorych na WZJG i ChL-C (wiek 18–65 lat) badania obejmują w okresie zaostrzenia i remisji ocenę markerów stanu zapalnego, wybranych hormonów oraz mieloperoksydazy w surowicy krwi. U pacjentów wykonywana jest kolonoskopia (w okresie remisji sigmoidoskopia); badana jest aktywność procesu zapalnego jelita, 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 (pacjenci z wykluczoną chorobą organiczną jelita grubego) badania obejmują ww. badania krwi.

Wyniki: Do badania zakwalifikowano 20 pacjentów z ChL-C (9 z objawami zaostrzenia, 11 w remisji) oraz 18 pacjentów z WZJG (7 w zaostrzeniu, 11 w remisji). W zdecydowanej większości (u 36 chorych) wyniki pomiaru stresu uzyskane za pomocą KPS mieściły się w granicach normy. U 6 chorych z ChL-C w remisji i u 3 chorych z ChL-C w zaostrzeniu obserwowano wysokie wyniki w wymiarze napięcia emocjonalnego.

Wnioski: Stres stanowi jeden z istotnych czynników ryzyka zaostrzeń NZJ. U większości pacjentów z WZJG oraz ChL-C nie wykazano dominującego sposobu radzenia sobie ze stresem w sytuacjach trudnych.

KAROLINA BRZUSZKIEWICZ*, CZESŁAW OSUCH*, ELŻBIETA BYLINA**,
PIOTR RUTKOWSKI**, JANUSZ LIMON***, JANUSZ A. SIEDLECKI****

CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA GIST ODBYTNICY

AFILIACJA: * I Katedra Chirurgii Ogólnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński;
** Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie; *** Katedra i Zakład Biologii i Genetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny; **** Zakład Biologii Molekularnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Założenia i cel pracy: Nowotwory stromalne przewodu pokarmowego, czyli GIST (*gastrointestinal stromal tumors*), to grupa nowotworów mezenchymalnych. Klinicznie GIST odbytnicy jest nowotworem o większej agresywności i większym ryzyku nawrotu niż GIST innego umiejscowienia.

Celem badania była ocena czasu wolnego od progresji oraz czasu całkowitego przeżycia GIST odbytnicy w porównaniu do GIST innego umiejscowienia po zastosowaniu terapii celowanej.

Metodyka: W badaniu wzięło udział 218 pacjentów z zaawansowanym nowotworem typu GIST leczonych imanitybem. Skuteczność terapii monitorowano za pomocą tomografii komputerowej jamy brzusznej i miednicy. Zastosowano analizę przeżycia Kaplana-Meiera. Do analizy czułości wykorzystano test Wilcoxa.

Wyniki: Mediana okresu wolnego od progresji dla GIST odbytnicy wyniosła 47 miesięcy, a w grupie GIST innych lokalizacji 26 miesięcy. Prawdopodobieństwo trzyletniego przeżycia wolnego od progresji (PFS) w grupie pierwszej kształtowało się na poziomie 90%, a w grupie drugiej 50%. Lokalizacja GIST w odbytnicy znamienne ($p=0,02$) poprawiała prawdopodobieństwo PFS. Następnie analizowano przeżycia, porównując grupy chorych z GIST odbytnicy oraz pacjentów z GIST innych lokalizacji. Model okazał się nieistotny statystycznie z $p=0,13$.

Wnioski: GIST odbytnicy leczone imanitybem cechują się mniejszym ryzykiem progresji w porównaniu do GIST pozostałych umiejscowień. Kontrastuje to z wieloma doniesieniami naukowymi, według których GIST zlokalizowane w odbytnicy cechują się złym rokowaniem. Różnice te mogą wynikać z faktu, iż w naszym badaniu znalazły się jedynie osoby leczone imanitybem, co z kolei sugeruje skuteczność terapii celowanej w przypadku GIST odbytnicy. Niemniej jednak, ze względu na małą liczebność grupy oraz zbyt krótki czas obserwacji, konieczne jest dalsze prowadzenie badań nad GIST odbytnicy.

MACIEJ BYRCZAK, PATRYCJA PIECZKA, ALEKSANDRA PEKACKA,
MICHAŁ ROSA, ALEKSANDRA CORA, IGA LESZCZYŃSKA

OCENA WIEDZY UCZNIÓW SZKÓŁ PODSTAWOWYCH I GIMNAZJALNYCH WOJEWÓDZTWA MAŁOPOLSKIEGO Z ZAKRESU ZAWAŁU SERCA, UDARU MÓZGU ORAZ ZASAD POSTĘPOWANIA W PRZYPADKU WYSTĄPIENIA ICH OBJAWÓW U BLISKIEJ OSOBY

AFILIACJA: Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Chorób Serca i Naczyń, Instytut Kardiologii, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Wstęp: Prawidłowe rozpoznanie objawów zawału serca i udaru mózgu ma podstawowe znaczenie przy podejmowaniu decyzji dotyczącej postępowania z osobą poszkodowaną. Opóźnienie wdrożenia prawidłowych czynności ratowniczych skutkuje pogorszeniem rokowania pacjenta. Brakuje szczegółowych badań analizujących znajomość zasad postępowania w przypadku wystąpienia objawów zawału serca, udaru mózgu oraz podstawowych informacji o tych chorobach w populacji dziecięcej i młodzieżowej.

Cele: Celem pracy była ocena stanu wiedzy uczniów szkół podstawowych i gimnazjalnych województwa małopolskiego z zakresu zawału serca, udaru mózgu oraz zasad postępowania w przypadku wystąpienia ich objawów u bliskiej osoby.

Metody: Dane wykorzystane w badaniu zbierano od września do grudnia 2014 roku za pomocą wystandaryzowanego kwestionariusza. Uczniowie zostali poproszeni o wskazanie definicji oraz objawów zawału serca i udaru mózgu. Następnie ich zadaniem było wskazanie prawidłowego postępowania w przypadku wystąpienia powyższych objawów u innej osoby oraz podanie numeru ratunkowego.

Wyniki: Badaniem objęto 978 uczniów szkół podstawowych (372, 38%) i gimnazjalnych (606, 62%) z losowo wybranych szkół województwa małopolskiego. W badaniu uczestniczyło 480 (49,1%) dziewczynek i 498 (50,9%) chłopców w wieku od 11–16 lat. Aż 547 (55,9%) uczniów nie знаło definicji udaru mózgu, a 471 (48,2%) nie potrafiło wskazać definicji zawału serca. Dzieci wskazywały średnio $3,1 \pm 2,0$ objawów udaru spośród 7 możliwych. Najczęściej wybieranym objawem było nagle zaburzenie równowagi – 610 (62,4%). Średnia liczba wskazywanych objawów zawału serca wynosiła $2,4 \pm 1,3$ (spośród 5 możliwych), a najczęściej wybieranym objawem był ból/dyskomfort w klatce piersiowej – 319 (32,6%). Numer alarmowy znało 878 (89,9%) dzieci, a tylko 493

(50,0%) wezwałoby karetkę, gdyby rozpoznało objawy zawału serca lub udaru mózgu u bliskiej osoby, istotnie częściej dziewczynki niż chłopcy – 269 (54,6%) vs 224 (45,4%), $p < 0,05$.

Wnioski: Poziom wiedzy na temat zawału serca, udaru mózgu oraz podstawowych zasad postępowania w przypadku wystąpienia ich objawów wśród polskich uczniów jest niewystarczający.

VITTORIO CANALE*, ANNA PARTYKA**, RAFAŁ KURCZAB***,
GRZEGORZ SATAŁA***, MAGDALENA JASTRZĘBSKA-WIĘSEK**,
ANNA WESOŁOWSKA**, TOMASZ KOS****, PIOTR POPIK****,
ANDRZEJ J. BOJARSKI***, PAWEŁ ZAJDEL*

ARYLOSULFONAMIDOWE POCHODNE (ARYLOKSY)- ETYLOPIPERYDINY JAKO ANTAGONIŚCI RECEPTORÓW 5-HT7 O WŁAŚCIWOŚCIACH PRZECIWDEPRESYJNYCH I PROKOGNITYWNYCH

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, Kraków; **** Zakład Badań Nowych Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

W świetle dotychczasowych danych wskazujących na zaangażowanie receptorów 5-HT7 w patomechanizm afektywnych schorzeń ośrodkowego układu nerwowego – depresji i lęku, antagoniści receptorów 5-HT7 wydają się obiecującą grupą dla opracowania nowej generacji leków przeciwdepresyjnych.

Poszukując selektywnych antagonistów receptorów 5-HT7, zaprojektowano i syntetyzowano celowaną bibliotekę arysulfonamidowych pochodnych (aryloksy)-etylopiperydiny jako bliskich analogów strukturalnych związku wiodącego PZ-766 (K_i (5-HT7) = 0,3 nM, K_b (5-HT7) = 1 nM). Ocena powinowactwa związków do receptorów 5-HT7 i 5-HT1A oraz określenie profilu aktywności wewnętrznej w warunkach *in vitro* pozwoliły na wyselekcjonowanie najbardziej interesujących antagonistów receptorów 5-HT7 do badań behawioralnych *in vivo* w celu określenia ich potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej i prokognitywnej. Badane pochodne wykazały silne właściwości przeciwdepresyjne w teście wymuszonego pływania u myszy (FST), istotnie statystycznie skracając czas bezruchu w zakresie 18–33% w sposób analogiczny do SB-269970. Ponadto wyselekcjonowane związki wykazywały zdolność odwracania deficytu pamięci deklaratywnej wywołanego podaniem fencyklidyny w teście NOR.

W ramach zrealizowanych badań zidentyfikowano związek PZ-1404 (K_i (5-HT7) = 9 nM, K_b (5-HT7) = 26 nM), o cechach silnego antagonisty receptorów 5-HT7, który wykazał silne właściwości przeciwdepresyjne i prokognitywne (2,5 mg/kg w teście FST; 1 mg/kg w teście NOR). Uzyskane wyniki skłaniają do podjęcia dalszych badań nad poznaniem aktywności psychotropowej związku PZ-1404.

Badania współfinansowane z grantu NCN nr DEC-2012/05/B/NZ7/03076 oraz projektu „Prokog” UDA POIG.01.03.01-12-063/09-00.

MARTYNA CHWAŁ-BŁASIŃSKA*, BERNADETTA JANUSZ*,
KARINA MICHAŁOWSKA**, MARIUSZ FURGAL*, JAKUB BOBRZYŃSKI*,
BOGDAN DE BARBARO*, MARCIN SIWEK**, DOMINIKA DUDEK**

LEKOOPORNOŚĆ W DEPRESJI Z PERSPEKTYWY SYSTEMOWEJ

AFILIACJA: * Zakład Terapii Rodzin, Katedra Psychiatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Zaburzeń Afektywnych, Katedra Psychiatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Badania zakładały konieczność włączenia perspektywy psychologicznej w próbę zrozumienia i opisu zjawiska lekooporności w zaburzeniach afektywnych. Są one częścią projektu badawczego realizowanego we współpracy Zakładu Terapii Rodzin oraz Zakładu Zaburzeń Afektywnych Katedry Psychiatrii CM UJ.

Cel badań: Celem prezentowanego badania była analiza związków między lekooporną postacią depresji a sposobem, w jaki choroba jest opisywana przez pacjenta i członków jego rodziny. W szczególności weryfikacji wymagała hipoteza, zgodnie z którą choroba i chorowanie mogą stanowić czynnik stabilizujący system rodzinny.

Metoda: Badaniem objęto 20 pacjentów i ich rodziny. Konsultacje przeprowadzone z każdą z tych rodzin stanowiły materiał do prezentowanych badań. Zapisy konsultacji zostały poddane analizie tematycznej, a główne wątki i kategorie zostały opisane przy użyciu podstawowych statystyk.

Wyniki: Wyniki analizy ilościowej wskazują, że jeśli pacjent w czasie konsultacji zastanawia się, jak opisać sytuację, w której się znalazł, i uwarunkowania jego choroby, to najczęściej ma to miejsce w opozycji do członków rodziny generacyjnej. Natomiast w sytuacji, kiedy manifestuje objawy depresyjne, wchodzi bardziej w rolę zależną od członków rodziny, którzy wyrażają wobec niego postawę ciepła.

Wnioski: Lekooporność depresji powinna być rozpatrywana także z uwzględnieniem kontekstu rodzinnego pacjenta.

MONIKA ĆWIEKA, BARBARA JACHIMSKA

EFEKTYWNOŚĆ ADSORPCJI LIZOZYMU (LSZ) NA POWIERZCHNI ZŁOTA

AFILIACJA: Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków

Lizozym należy do białek globularnych i pełni bardzo ważną funkcję w układzie immunologicznym. Wykazuje silne działanie przeciwbakteryjne, dzięki czemu znalazł szerokie zastosowanie w medycynie i przemyśle farmaceutycznym.

Adsorpcja białek czy też enzymów na powierzchniach stałych ma istotne znaczenie przy tworzeniu warstw funkcjonalnych. Efektywność adsorpcji na powierzchni złota została monitorowana przy zastosowaniu dwóch komplementarnych metod: mikrowagi kwarcowej z monitorowaniem dyssypacji energii (QCM-D) oraz wieloparametrowego powierzchniowego rezonansu plazmonów (MP-SPR). Z uwagi na dużą czułość obu metod możliwa była dokładna charakterystyka powstałego filmu białkowego. Zbadano odwracalność procesu adsorpcji LSZ na powierzchni złota, jak również zmiany orientacji cząsteczek na badanej powierzchni w zależności od pH i siły jonowej roztworu. Na podstawie przeprowadzonej serii eksperymentów stwierdziliśmy, że w zakresie pH 3–6 cząsteczka LSZ przyjmuje orientację *side-on*, w zakresie pH 6–10 natomiast tworzy warstwę o orientacji *end-on*. Dla pH powyżej 10 cząsteczki przyjmują dowolną orientację. Na podstawie tych badań można stwierdzić, iż zmiana orientacji cząsteczki podczas procesu adsorpcji na powierzchni złota determinowana jest przez zasięg sił elektrostatycznych. Porównanie danych z obu metod (QCM-D oraz MP-SPR) pozwala na określenie stopnia hydratacji tworzonych warstw białkowych na powierzchni złota.

Podziękowania Grant NCN OPUS4 2012/07/B/ST5/00767.

URSZULA DOBOSZEWSKA*/**, KAROLINA NOWORYTA-SOKOŁOWSKA**,
BEATA OSTACHOWICZ***, MAREK LANKOSZ***,
KRYSTYNA GOŁEMBIOWSKA**, KATARZYNA MŁYNIEC*,
GABRIEL NOWAK*/**

WPLYW NIEDOBORU CYNKU W DIECIE NA UWALNIANIE GLUTAMINIANU DO PRZESTRZENI POZAKOMÓRKOWEJ W MÓZGU

AFILIACJA: * Wydział Farmaceutyczny, Katedra Farmakobiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków; *** Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Katedra Fizyki Chemicznej i Biofizyki, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

Obserwacja, że stabilizator nastroju, lit, jest inhibitorem kinazy syntazy glikogenu 3 (GSK3), zwróciła uwagę na możliwy związek między GSK3 a chorobami afektywnymi. Innym z antagonistów GSK3 jest pierwiastek śladowy cynk. Obok inhibicji GSK3 hipotezy sugerujące rolę cynku w etiologii depresji opierają się między innymi na modulacji przez niego aktywności układu glutaminianergicznego. W patofizjologii depresji podkreśla się rolę hiperaktywności tego układu.

Celem pracy było określenie wpływu niedoboru antagonisty GSK3 (cynku) w diecie na stężenie cynku i glutaminianu w przestrzeni pozakomórkowej w korze przedczołowej mózgu.

Metodyka: Zwierzęta doświadczalne otrzymywały paszę o ograniczonej zawartości cynku lub paszę kontrolną przez 6 tygodni, a następnie przeprowadzono doświadczenia techniką mikrodializy. Na 5 dni przed doświadczeniami mikrodializy, po wprowadzeniu zwierząt w stan znieczulenia ogólnego, miała miejsce implantacja kaniuli prowadzącej do kory przedczołowej. Po 5 dniach od implantacji kaniuli prowadzącej przeprowadzano eksperymenty mikrodializy na swobodnie poruszających się szczurach. Poprzez kaniulę wprowadzano sondę mikrodializacyjną. Frakcje dializatu mózgowego zbierano w warunkach podstawowych i po stymulacji roztworem chlorku potasu (KCl) w stężeniu 100 mM. W uzyskanych dializatach z kory przedczołowej oznaczono stężenie cynku metodą spektroskopii fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia promieniowania X (TXRF) oraz stężenie glutaminianu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Wyniki: Niedobór cynku w diecie spowodował zmniejszenie uwalniania cynku do przestrzeni pozakomórkowej w korze przedczołowej po 40 minutach sty-

mulacji 100 mM KCl oraz nasilenie uwalniania glutaminianu do tej przestrzeni po 20 i 40 minutach stymulacji.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują na możliwy związek między niedoborem antagonisty GSK3 (cynku) a hiperaktywnością układu glutaminianergicznego/ patofizjologią depresji.

ALEKSANDRA DUDZIK, KAMIL GRABOWSKI

CZY STATYNY ZMNIEJSZAJĄ RYZYKO PROGRESJI RAKA PROSTATY?

AFILIACJA: Studenckie Koło Naukowe Biochemii Lekarskiej przy Katedrze Biochemii Lekarskiej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Rak prostaty zaliczany jest do jednych z najczęściej występujących nowotworów złośliwych u mężczyzn i stanowi niezwykle ważny problem kliniczny na całym świecie. Największą trudnością w skutecznym leczeniu tego nowotworu jest stopniowe przejście regulacji pracy gruczołu od formy zależnej do niezależnej od androgenów. Skrzyżowanie ścieżek sygnalizacji komórkowej w raku prostaty odnosi się do głównego regulatora, jakim są hormony steroidowe powstające z cholesterolu. Statyny biorą udział w regulacji ekspresji reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu-A (HMGCoA), kluczowego enzymu szlaku biosyntezy cholesterolu. Obniżenie poziomu cholesterolu we krwi z jednoczesnym zahamowaniem syntezy androgenów w komórce rakowej może znacząco przyczynić się do spowolnienia progresji nowotworu stercza ludzkiego.

Cel pracy: Głównym celem prowadzonych badań jest wyjaśnienie roli statyn w hamowaniu syntezy hormonów androgenowych w komórkach prostaty oraz ich wpływu na wzrost guza i zmniejszenie ryzyka wystąpienia przerzutów.

Metodyka: Badania prowadzono na prawidłowych (PZ-HPV) i zmienionych nowotworowo (LNCaP, DU-145 oraz PC-3) liniach komórkowych stercza ludzkiego. Zastosowane techniki laboratoryjne obejmowały badania: cytotoksyczności stosowanych inhibitorów (LDH), proliferacji komórek (Fiolet Krystaliczny), ekspresji białek (Western blot), aktywności MMPs (zymografia) oraz inwazyjności komórek.

Wyniki: Obserwowano znaczący spadek proliferacji komórek traktowanych inhibitorami (25–78%) względem komórek nietraktowanych czynnikami, a efekt był zależny od rodzaju badanej linii komórkowej i zastosowanej dawki. Statyny istotnie hamowały fosforylację czynnika AKT, ekspresję metaloproteinaz (MMPs) i receptora androgenowego, natomiast zwiększyły aktywność kaspaz 3 i 9 oraz białek p21 i p27.

Wnioski: Wyniki badań sugerują, że zastosowane czynniki znacząco hamują proliferację, migrację i potencjał inwazyjny komórek nowotworu prostaty, co daje nadzieję na skuteczne zastosowanie statyn w terapii raka prostaty.

MARTYNA DURAK*, RAFAŁ SZATANEK**, EWA STĘPIEŃ*

PORÓWNANIE WIELKOŚCI I ILOŚCI MYSICH I LUDZKICH MIKROPĘCZERZYKÓW (MVS) IZOLOWANYCH Z OSOCZA RÓŻNYMI METODAMI WIROWANIA

AFILIACJA: * Instytut Fizyki, Zakład Fizyki Medycznej, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Mikropęcherzyki (MVs) uwalniane z komórek krwi i płytek są zróżnicowane pod względem wielkości i profilu makromolekuł w nich zawartych (tzw. *cargo*). Czynnikiami stymulującymi produkcję MVs są uszkodzenia mechaniczne, czynniki zapalne oraz metaboliczne (hiperhomocysteinemia oraz hiperglikemia).

Celem niniejszych badań była analiza związku między różnymi parametrami wirowania osocza mysiego i ludzkiego a wielkością MVs.

Metodyka: MVs z mysiego osocza (myszy CD1) były izolowane dwiema metodami wirowania, a następnie zostały porównane z ludzkimi MVs. Frakcję bogatą i ubogą w MVs rozcieńczono 1000x w PBSie i zbadano przy użyciu analizatora toru ruchu nanocząstek (NTA – Nanoparticle Tracking Analysis) LM14C (Nanosight Ltd, Amesbury, Wielka Brytania).

Wyniki: Uzyskane wyniki dla koncentracji oraz średniej wielkości MVs nie wykazały istotnych statystycznie różnic pomiędzy zastosowanymi parametrami wirowania u mysiego osocza. Badając wielkość MVs w obu frakcjach, wykazano, że większy rozmiar MVs we frakcji bogatej w MVs jest różnicą istotną statystycznie zarówno u myszy, jak i u ludzi. MVs mysiego osocza (frakcja bogata w MVs 145 ± 1 nm, frakcja uboga 104 ± 2 nm) są większe od tych izolowanych z ludzkiego osocza (frakcja bogata w MVs 84 ± 10 nm, frakcja uboga 65 ± 4 nm). Większą koncentrację MVs można zaobserwować we frakcji bogatej w MVs (mysie osocze $2,93 \pm 0,61$ 10⁹/ml i ludzkie $1,61 \pm 0,54$ 10⁹/ml) i tutaj również osocze mysie zawiera większą liczbę MVs względem ludzkiego osocza.

Wnioski: Mysie osocze zawiera większą koncentrację MVs w porównaniu do ludzkiego osocza, co można powiązać ze zwiększoną liczbą płytek krwi u myszy ($1776 \pm 213,7 \times 10^3$ μ L).

Autorzy dziękują za współpracę prof. drowi hab. Stefanowi Chłopickiemu oraz Pani Krystynie Wandzel z JCET w Krakowie.

PAULINA FATYGA, ANNA SKALSKA, MAŁGORZATA FEDYK-ŁUKASIK

OCENA CZYNNIKÓW ZWIĄZANYCH Z RYZYKIEM NIEDOŻYWIENIA I SARKOPENIĄ OSÓB W PODESZŁYM WIEKU

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

Założenia: Zmniejszenie aktywności fizycznej i niedożywienie mogą być przyczyną sarkopenii, przez którą rozumie się postępującą utratę masy i siły mięśni, połączoną z upośledzeniem ich funkcji i pogorszeniem sprawności. Także odwrotnie – sarkopenia i czynniki z nią związane mogą sprzyjać procesowi utraty masy ciała.

Cel pracy: ocena czynników związanych z ryzykiem niedożywienia i sarkopenią.

Metodyka: U osób powyżej 64. roku życia oceniono stan odżywienia skalą Mini Nutritional Assessment (MNA), zmierzono obwód łydki i ramienia, obliczono BMI, funkcje poznawcze oszacowano skalą Mini Mental State Examination (MMSE), densytometrycznie zmierzono tkankę mięśniową, kostną i tłuszczową. Siłę uścisku dłoni zmierzono dynamometrem, sprawność fizyczną testem „Wstań i idź” (Up&Go), marszu 6-minutowego (6MWT) i prędkością chodu. W surowicy krwi oznaczono stężenia: Hb, SPARC, FGF-23, miostatyny, albuminy, 25OHD, PTH, hsCRP, NT-pro-BNP, pentraxin-3, IL-6, IL-8, IL-18, OPG, receptor2 dla TNFalfa (STNFR-2). Porównano grupy: z ryzykiem niedożywienia ($MNA < 24$ pkt) oraz bez ryzyka niedożywienia ($MNA \geq 24$).

Wyniki: W grupie z ryzykiem niedożywienia średnia wartość MMSE była mniejsza (25,6 pkt vs 27,3 pkt; $p=0,009$). Osoby w tej grupie uzyskały gorsze wyniki w testach sprawnościowych – krótszy średni dystans 6MWT (309 m vs 356,8 m; $p=0,034$), mniejszą średnią prędkość chodu (0,75 m/s vs 0,91 m/s; $p=0,016$) oraz mniejszą siłę uścisku dłoni obu rąk (hand-grip-P: 16,19 kg vs 21,4 kg, $p=0,026$; hand-grip-L: 13,43 kg vs 18,7 kg, $p=0,024$). Ponadto w grupie z ryzykiem niedożywienia stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenia biomarkerów: FGF-23 ($p=0,047$), osteoprotegeryny ($p=0,023$), IL-8 ($p=0,028$), STNFR-2 ($p=0,034$).

Wnioski: Niedożywienie jest związane z osłabieniem siły mięśni oraz pogorszeniem sprawności fizycznej i umysłowej. W złożonej etiopatogenezie niedożywienia bierze się pod uwagę koncepcję przewlekłego stanu zapalnego.

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

MODULUJĄCY WPŁYW WYSIŁKU FIZYCZNEGO NA SYSTEM IMMUNOLOGICZNY U PACJENTÓW Z WYSOKIM PRAWDŁOWYM CIŚNIENIEM TĘTNICZYM KRWI – BADANIE CROSS-OVER

AFILIACJA: * Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Wydział Rehabilitacji Ruchowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie; *** Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; **** Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Wysiłek fizyczny jest uznaną metodą prewencji rozwoju nadciśnienia tętniczego u osób zagrożonych jego rozwinieniem. Ostatnie doniesienia wskazują na związek nadciśnienia ze zmianami w funkcjonowaniu układu immunologicznego. Z tego powodu celem naszych badań jest sprawdzenie efektu, jaki wywiera wysiłek fizyczny na subpopulacje limfocytów T i monocytów oraz poziom cytokin u pacjentów z wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi.

Metody: 21 zdrowych ochotników charakteryzujących się wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym krwi zostało przypisanych do dwóch grup w systemie *cross-over*, zawierającym 3-miesięczny nadzorowany trening na cyklometrach rowerowych (3x60 min/tydzień) oraz 3-miesięczny okres normalnego trybu życia bez nadzorowanych treningów. Z pobranej krwi wyizolowane zostały leukocyty, analizowane metodą FACS. Cytokiny w osoczu oraz nadsączu PBMC (jednojądrzaste komórki krwi obwodowej) stymulowanych LPS oznaczone zostały metodą Luminex.

Wyniki: Nie zaobserwowano istotnych zmian w głównych populacjach limfocytów T, jednakże w obrębie limfocytów T CD8+ został zaobserwowany wzrost ekspresji CD25 (Mediana, Q1:Q3; 570, 386:664 vs 586, 389:826; $p=0,03$) oraz spadek CD69 (%) (2,39, 1,65:3,38 vs 1,98, 1,09:3,05; $p=0,05$). Istotny wzrost zaobserwowano w populacji monocytów CD14+ (78,4, 71,5: 82,65 vs 81,9, 76,1: 84,4; $p=0,02$) oraz ekspresji CD11c we wszystkich populacjach monocytów (CD14: 1345, 981:1813,5 vs 1588, 832:4033,5; $p=0,05$; CD14CD16: 3042, 2225,5:3502 vs 3876, 2029:7934,5; $p=0,02$; CD14dimCD16: 3634, 2494,5:4872 vs 4565, 2743,5:10064; $p=0,04$). Nie zaobserwowano istotnych zmian w pozio-

mie cytokin zarówno w osoczu, jak i nadsączu PBMC. Nie zaobserwowano istotnych zmian badanych parametrów w okresie kontrolnym.

Podsumowanie: Wysiłek fizyczny ma niewielki wpływ regulujący na układ immunologiczny u pacjentów z wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym. Zaobserwowane zmiany nie tłumaczą ochronnego wpływu wysiłku fizycznego w tej grupie pacjentów.

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

KOŚCIOTWORZENIE 3D LUDZKICH SZPIKOWYCH MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH (hBMSC) STYMULOWANYCH CZYNNIKAMI OSTEOINDUKCYJNYMI I/LUB STAŁYM PERFUZYJNYM PRZEPŁYWEM PŁYNÓW ZALEŻY OD STANU ICH ZRÓŻNICOWANIA I PUNKTU CZASOWEGO STYMULACJI

AFILIACJA: * Zakład Biologii i Obrazowania Komórki, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Ortopedii i Fizjoterapii, Instytut Fizjoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Celem projektu było zbadanie przebiegu procesu kościotworzenia 3D ludzkich komórek BMSC stymulowanych czynnikami osteoindukcyjnymi i/lub stałym, krótkim perfuzyjnym przepływem płynów (tj. hodowle statyczne vs dynamiczne) w zależności od stanu ich zróżnicowania i punktu czasowego stymulacji. Realizacja badań miała ponadto umożliwić opracowanie strategii inżynierii tkanki kostnej do potencjalnych zastosowań klinicznych. Komórki hBMSC hodowano w obecności czynników osteoindukcyjnych (Asc, Dex, BGP) na rusztowaniach poliuretanowych pokrytych żelatyną. W odpowiednich punktach czasowych część rusztowań poddawano sesji stałego, perfuzyjnego przepływu pożywki hodowlanej (tj. 2,5 ml/min, 2 godz., hodowle dynamiczne), a pozostałe hodowano bez stymulacji mechanicznej (hodowle statyczne). Efekty perfuzji oceniano również w kulturach komórek, które przed rozpoczęciem hodowli 3D różnicowano przez 7 dni w warunkach 2D. Dokonywano między innymi analiz histologicznych, badano produkcję białek i ekspresję mRNA genów związanych z kościotworzeniem. Komórki stymulowane perfuzyjnym przepływem pożywki na wczesnym etapie różnicowania (d3, d5 i d7 lub d5) odpowiadały istotnym wzrostem poziomu mRNA dla mechanowrażliwego czynnika *C-FOS* w stosunku do kultur statycznych, ale w końcowym punkcie eksperymentu (d8) wykazywały istotny statystycznie spadek żywotności i aktywności ALP, w stosunku do kontroli statycznej i komórek stymulowanych w dniu 7. Perfuzja zastosowana w późnym stadium różnicowania, tj. d15 lub 19, wywołała odpowiednio wzrost poziomu mineralizacji lub mineralizacji i produkcji kolagenu w stosunku do kontroli statycznej.

Najkorzystniejsze efekty perfuzji zaobserwowano w przypadku hodowli zróżnicowanych hBMSC. W stosunku do kontroli statycznej i komórek niezróżnicowanych wykazywały one między innymi istotny statystycznie wzrost ekspresji mRNA dla: *OCN* i *OPN* oraz mineralizacji i produkcji kolagenu. Zrealizowane badania wskazują, że najefektywniejszą strategią inżynierii tkanki kostnej jest stosowanie perfuzji w przypadku hBMSC zróżnicowanych w kierunku osteoblastów.

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

OTYŁOŚĆ JAKO MODULATOR ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY STĘŻENIEM WITAMINY D W SUROWICY A FUNKCJĄ LEWEJ KOMORY SERCA

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

Cel: Zależność pomiędzy niedoborem witaminy D a przerostem lewej komory serca została potwierdzona w badaniach z udziałem pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek.

Naszym celem było zbadanie związku pomiędzy stężeniem witaminy D w surowicy krwi a strukturą i funkcją lewej komory w populacji ogólnej. Analizowano także potencjalne interakcje pomiędzy witaminą D a spożyciem soli lub otyłością w odniesieniu do lewej komory serca.

Materiał i metody: Badaniem objęto 301 osób rekrutowanych z populacji ogólnej. Wykonano pomiary antropometryczne, zmierzono na 2 wizytach pięciokrotnie ciśnienia krwi oraz dokonano całodobowego monitoringu ciśnienia (SpaceLabs 90207). Wyniki badania echokardiograficznego pozwoliły uzyskać wartości masy lewej komory w stosunku do powierzchni ciała [LVMI]. Czynność rozkurczowa lewej komory serca została oceniona za pomocą pomiarów prędkości przepływu mitralnego. Spożycie sodu oceniano na podstawie dobowego wydalania z moczem. Stężenie witaminy D zostało oznaczone w surowicy.

Wyniki: W analizie statystycznej z uwzględnieniem wieku, płci, BMI, 24-godzinnego skurczowego ciśnienia tętniczego i palenia tytoniu witamina D nie koreluje z LVMI. Natomiast w przypadku parametrów funkcji rozkurczowej zaobserwowano tendencję do pozytywnej korelacji między witaminą D i falą E (beta=0,16±0,09, p=0,076). W poszerzonym modelu obwód tali związany był z mitralną falą A (beta=0,31±0,13, p=0,02). U osób z otyłością brzuszną witamina D korelowała dodatnio z falą E' (0,044±0,019, p=0,02), z podobną tendencją również fala E (beta=0,22±0,13, p=0,098). Takich związków nie obserwowano u osób bez otyłości brzusznej. Spożycie sodu nie moduluje żadnych powiązań między witaminą D a parametrami echokardiograficznymi.

Wnioski: W populacji ogólnej niższy poziom witaminy D koreluje z zaburzeniami relaksacji lewej komory jedynie u osób z otyłością brzuszną.

ANNA FURGALA, ADRIAN PODKOWA, ANNA ZIORA,
BORIS BRUS, URBAN KOŠAK

AKTYWNOŚĆ PROKOGNITYWNA NOWEGO INHIBITORA BUTYRYLOCHOLINOESTERAZY

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

Wprowadzenie: Choroba Alzheimera jest schorzeniem neurodegeneracyjnym, które objawia się postępującą utratą funkcji poznawczych. W oparciu o cholinergiczną hipotezę tej choroby bardzo szeroko rozpowszechnione jest stosowanie inhibitorów degradacji acetylcholine jako leków, które mają na celu zahamowanie progresji tego schorzenia. Istnieje wiele dowodów na to, że nie tylko acetylcholinoesteraza, ale również butyrylocholinoesteraza (BuChE) może być ważnym „celem terapeutycznym” dla leków prokognitywnych w centralnym układzie nerwowym. Dlatego też inhibitory BuChE wydają się interesującymi nowymi związkami, które będą mogły być wykorzystane w przyszłości w terapii choroby Alzheimera. W związku z tym celem pracy było oznaczenie aktywności prokognitywnej nowego inhibitora BuChE, związku oznaczonego symbolem GKD30, w modelach deficytów pamięciowych indukowanych skopolaminą u myszy.

Materiały i metody: Prokognitywne właściwości związku GKD30 były oceniane po dootrzewnowym podaniu go myszom CD-1 oraz C57BL/6J w teście biernego unikania (PA), labiryncie wodnym Morrisa (MWM) oraz labiryncie wodnym ramion promienistych (RAWM).

Rezultaty: W teście biernego unikania (PA) związek GKD30 był testowany w trzech dawkach: 10, 20 i 30 mg/kg, przy czym istotnie statystycznie wydłużenie latencji w próbie odtworzenia zaobserwowano dla dawki 30 mg/kg. W próbie nabywania informacji w teście MWM (dni: 1–6) czas dopłynięcia do ukrytej platformy uległ statystycznie znamiennemu ($p < 0,05$) skróceniu, co zaobserwowano dla związku GKD30 w stosunku do grupy kontrolnej, otrzymującej skopolaminę. Podczas siódmego dnia testu GKD30 nie wpływał na czas latencji odnalezienia miejsca, w którym uprzednio znajdowała się platforma, czas spędzony w ćwiartce, w której powinna znajdować się platforma, średnią prędkość poruszania się myszy, liczbę przepłynięć przez miejsce, gdzie powinna znajdować się platforma, i całkowity dystans przebyty przez mysz. W labiryncie ramion promienistych badany związek zmniejszał liczbę błędów popełnianych przez mysz w porównaniu do grupy kontrolnej myszy, które otrzymywały skopolaminę (1 błąd vs. 2 błędy na koniec pierwszego dnia). Całkowite odwrócenie deficytów pamięciowych u myszy, którym podawano skopolaminę, zaobserwowano

w ostatnim bloku prób wykonywanym podczas drugiego dnia badań (ok. 1 błąd na każde powtórzenie).

Wnioski: Otrzymane rezultaty pozwalają stwierdzić, że badany związek daje możliwość zwiększania zdolności zapamiętywania w modelach deficytów pamięciowych u myszy. Z racji tego może być bardzo interesującą nową strukturą wiodącą w poszukiwaniu leków dla pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera.

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera, inhibitory butyrylocholinoesterazy, myszy, skopolamina, pamięć przestrzenna, pamięć motywowana strachem, labirynt wodny

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

OCENA ZWIĄZKU MIĘDZY MASĄ CIAŁA A STĘŻENIEM NT-PROBNP U PACJENTÓW HOSPITALIZOWANYCH Z POWODU OSTREJ NIEWYDOLNOŚCI SERCA WŁĄCZONYCH DO REJESTRU HEART FAILURE LONG-TERM REGISTRY W POLSCE

AFILIACJA: * Klinika Choroby Wieńcowej i Niewydolności Serca, Uniwersytet Jagielloński, Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II w Krakowie; ** Klinika i Katedra Kardiologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny; *** 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

Wstęp: Oznaczanie stężenia N-końcowego fragmentu peptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP) znajduje zastosowanie w rozpoznawaniu niewydolności serca (NS), gdyż dobrze koreluje ze stopniem zaawansowania NS oraz ma znaczenie rokownicze. Dotychczas wykazano, że występowanie otyłości wpływa na zmniejszenie stężenia NT-proBNP, co może powodować trudności diagnostyczne w grupie chorych z otyłością.

Cel: Celem badania jest ocena wpływu masy ciała na stężenie NT-proBNP i jego wartość prognostyczną u pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrej NS.

Materiał i metody: Analizą objęto 121 chorych hospitalizowanych z powodu ostrej NS i włączonych do Rejestru Heart Failure Long Term Registry w Polsce. Pacjentów podzielono pod względem wartości stężenia NT-proBNP oznaczanego przy przyjęciu do szpitala (średnia wartość w badanej populacji wynosiła 7054 pg/mL) na dwie grupy: grupa A – 39 chorych z NT-proBNP ≥ 7054 pg/mL (31 mężczyzn, średni wiek $67,7 \pm 10,7$ lat) oraz grupa B – 82 chorych z NT-proBNP < 7054 pg/mL (71 mężczyzn, średni wiek $61,1 \pm 12,8$ lat).

Wyniki: Badane grupy różniły się istotnie pod względem wskaźnika masy ciała BMI ($25,6 \pm 3,2$ vs $28,1 \pm 5$ kg/m²; $p=0,007$), frakcji wyrzutowej lewej komory ($22,6 \pm 6,7$ vs $25,9 \pm 7,6\%$; $p=0,022$), częstości występowania przewlekłej choroby nerek (46% vs 22%; $p=0,006$) oraz stężenia kreatyniny przy przyjęciu ($124,5 \pm 44,1$ vs $100,7 \pm 29,1$ mg/dL; $p=0,0006$). Ponadto w całej populacji wykazano istnienie istotnego związku między stężeniem NT-proBNP a wskaźnikiem BMI ($r=-0,22$; $p=0,0156$), stężeniem kreatyniny ($r=0,26$; $p=0,0035$) oraz frakcją wy-

rzutową lewej komory ($r=-0.21$; $p=0,0204$). Wykazano istotne różnice pomiędzy grupami pod względem śmiertelności wewnątrzszpitalnej (0,05% vs 0%; $p=0,039$) oraz śmiertelności w obserwacji 12-miesięcznej (37% vs 4%; $p<0,005$).

Wnioski: U pacjentów hospitalizowanych z powodu ostrej NS wykazano obecność odwrotnej zależności między masą ciała a stężeniem NT-proBNP. Związek ten może wynikać z nasilenia NS jako choroby podstawowej prowadzącej do wyniszczenia oraz chorób współistniejących, w tym przewlekłej niewydolności nerek.

MAGDALENA GAWEL, MAGDALENA OLBERT

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWZAPALNE KOMPLEKSÓW CYNKU I WYBRANYCH NLPZ

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

Cynk (Zn) jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych pierwiastków śladowych w organizmie ludzkim, niezbędnym elementem strukturalnym i funkcjonalnym wielu białek, w tym enzymów regulujących procesy komórkowe i komórkowe szlaki sygnałowe. Moduluje odpowiedź immunologiczną oraz wykazuje aktywność przeciwzapalną i antyoksydacyjną. Znana jest również rola cynku w przyspieszaniu gojenia się ran, w tym wrzodów żołądka.

Ze względu na liczne wskazania i wysoką dostępność niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są jednymi z najczęściej ordynowanych leków. Jednak przewlekła terapia i niewłaściwe stosowanie NLPZ mogą doprowadzić do wystąpienia nadżerek i owrzodzeń w obrębie przewodu pokarmowego. Kompleksowanie NLPZ z metalami jest jedną ze strategii mających na celu zwiększenie indeksu terapeutycznego dostępnych leków.

Celem badania jest ocena działania przeciwobrzękowego oraz wpływu na błonę śluzową żołądka wybranych zsyntezowanych kompleksów Zn-NLPZ (Zn-ibuprofen i Zn-naprosken) w jedno- oraz czterokrotnym podaniu dożołądkowym. Doświadczenia prowadzone są na szczurach samcach Wistar. Aktywność przeciwobrzękowa określana jest zgodnie ze zmodyfikowaną metodą Wintera i Lence. Działanie wrzodotwórcze oceniane jest makroskopowo metodą opracowaną przez Komatsu i wsp. Badania są wciąż prowadzone. Uzyskane wyniki zostaną przedstawione na konferencji.

KLAUDIA GLEB, ANITA KRÓL

ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY PRZYKURCZEM ZGIĘCIOWYM W STAWIE KOLANOWYM A WARTOŚCIĄ KĄTOWĄ LORDOZY ŁĘDŹWIOWEJ, PARAMETRAMI USTAWIENIA MIEDNICY I BÓLEM W DOLNYM ODCINKU KRĘGOSŁUPA U CHORYCH NA HEMOFILIĘ

AFILIACJA: Zakład Ergonomii i Fizjologii Wysiłku Fizycznego, Instytut Fizjoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Zależność pomiędzy przykurczem zgięciowym w stawie kolanowym a wartością kątową lordozy lędźwiowej, zwana *knee-spine syndrome*, została omówiona przez kilku autorów, jednakże badania te dotyczyły jedynie osób zdrowych. Wykazano istotny wpływ ustawienia stawu kolanowego na parametry ustawienia miednicy oraz kręgosłupa lędźwiowego.

Cel pracy: Ocena zależności pomiędzy przykurczem zgięciowym w stawie kolanowym a wartością kątową lordozy lędźwiowej, parametrami ustawienia miednicy i bólem w dolnym odcinku kręgosłupa u chorych na hemofilię.

Metodyka: Osoby badane to mężczyźni w wieku powyżej 18 lat, u których został stwierdzony przykurcz zgięciowy w stawie kolanowym większy niż 5°. Wykonano pomiar ruchomości kręgosłupa lędźwiowego za pomocą testu palce- podłoga, test na objaw Laseque'a, zdjęcie rtg boczne z uwidocznieniem głów kości udowych. Do oceny dolegliwości bólowych w dolnym odcinku kręgosłupa zastosowano kwestionariusz Quebec Back Pain Disability Scale. Na podstawie zdjęć rtg zmierzono wybrane parametry ustawienia miednicy (Sacral Slope (SS), Pelvic Tilt (PT), Pelvic Inclination (PI), Lumbosacral Angle (LSA), Lumbar Lordosis (LL) angle, Saggital Balance (SB), Spino-Sacral Angle (SSA)) oraz kręgosłupa lędźwiowego.

Wyniki i wnioski: Przebadana grupa liczy 15 pacjentów. Wstępne wyniki wskazują na korelację pomiędzy ustawieniem stawu kolanowego a wartością kątową lordozy lędźwiowej. Dalsze badania mają na celu zebranie większej grupy pacjentów, co umożliwi weryfikację zebranych danych oraz ocenę postawionych hipotez badawczych.

ANNA GLINKA

OD IC₅₀ DO QTc – WYKORZYSTANIE MODELOWANIA DO OCENY RYZYKA ARYTMI I POLEKOWEJ

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

Założenia: Poszukując nowych substancji leczniczych, musimy pamiętać nie tylko o zapewnieniu ich skuteczności, ale i o bezpieczeństwie stosowania. W 2005 roku Międzynarodowa Konferencja do spraw Harmonizacji zaleciła wstępne badania blokowania prądów jonowych przez leki (wartość IC₅₀) oraz monitorowanie wpływu tych substancji na długość odstępu QT.

Cel pracy: Celem pracy była analiza możliwości wykorzystania modelowania matematycznego do ekstrapolacji wyników badań *in vitro* (IC₅₀) na symulowaną długość potencjału czynnościowego (AP) oraz odstępu QTc i jej porównanie z analogiczną wartością mierzoną u ludzi w trakcie badania klinicznego.

Metodyka: W trakcie pracy wykorzystywano dwa modele miocytów komorowych (ten Tusscher oraz O'Hara-Rudy). Metodyka pracy obejmowała analizę piśmiennictwa naukowego dotyczącego zmienności parametrów modeli w populacji, modyfikację wybranych równań w oparciu o zebrane dane, proces symulacji oraz ocenę skuteczności przewidywania, która przeprowadzana była ponownie przy wykorzystaniu danych literaturowych. Punktami końcowymi poszczególnych eksperymentów była wartość APD90 lub długość QTc.

Wyniki: Wykonując symulacje, przeprowadzono analizę wpływu zmienności w populacji na efekt podania substancji leczniczych. Przebadane ksenobiotyki należały do grupy leków wiązanych wydłużeniem QT i niebezpieczeństwem wystąpienia TdP, jak moksyflokscyna, haloperidol, ziprasidon, kwetiapina, olanzapina, risperidon i tiorydazyna. W większości analizowanych leków proces symulacji odtwarzał trendy zmian w QTc obserwowane w trakcie badań klinicznych, jednak rozrzut wyników w badaniu *in silico* był zwykle niższy.

Wnioski: Techniki modelowania matematycznego mogą być pomocne w ocenie bezpieczeństwa nowych substancji leczniczych. Metody te wymagają jednak ciągłych prac związanych z rozwojem i oceną mocy predykcyjnej stosowanych modeli. Zadania te są utrudnione ze względu na niejednorodność wyników badań klinicznych oraz niepełny dostęp do danych.

ANNA GLUSZEWSKA*, BARTOSZ ZARZYCKI*, BARBARA GRYGLEWSKA*,
GRZEGORZ BILO**, ANNA DZIEŻA-GRUDNIK*,
MAŁGORZATA FEDYK-ŁUKASIK*, TOMASZ GRODZICKI*

ZMIANY WARTOŚCI AMBULATORYJNEGO CIŚNIENIA TĘTNICZEGO U EKSTREMALNIE OTYŁYCH CHORYCH WE WCZESNYM OKRESIE PO OPERACJI BARIATRYCZNEJ

AFILIACJA: * Klinika Chorób Wewnętrznych i Geriatrii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Istituto Auxologico Italiano, Mediolan, Włochy

Wstęp: Operacje bariatryczne traktowane są obecnie jako jedna z najskuteczniejszych metod leczenia otyłości olbrzymiej. Dostępnych jest jednak niewiele doniesień naukowych dotyczących zmian hemodynamicznych we wczesnym okresie pooperacyjnym. Celem badania była ocena zmian w wartościach ambulatoryjnego ciśnienia tętniczego u pacjentów z otyłością olbrzymią we wczesnym okresie po operacji bariatrycznej.

Populacja badana: Do badania włączono 74 chorych z otyłością olbrzymią, w wieku $41,2 \pm 11,2$ lat, spełniających kryteria kwalifikacji do bariatrycznego zabiegu operacyjnego, tj. z otyłością i $\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$ lub $\text{BMI} \geq 35 \text{ kg/m}^2$ z chorobami towarzyszącymi.

Schemat badania: U chorych kwalifikowanych do operacji bariatrycznej przed zabiegiem oraz 7–10 dni po operacji oceniano wskaźnik masy ciała (BMI), czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego, zapis 24-godzinnego monitorowania ciśnienia tętniczego (Spacelabs 90207) oraz badania laboratoryjne.

Analiza statystyczna: Wyniki porównano, stosując test rang Wilcoxona.

Wyniki: Przebadano 74 chorych z otyłością olbrzymią. W badanej populacji 36,5% stanowili mężczyźni, średnie BMI wynosiło $46,8 \pm 5,4 \text{ kg/m}^2$, 54% badanych cierpiało na nadciśnienie tętnicze, u 14,9% zdiagnozowano cukrzycę, 25,7% miało zaburzenia lipidowe. U 43 osób przeprowadzono rękawową resekcję żołądka, u 31 wyłączenie żołądkowe na pętli Roux. BMI wcześniej po zabiegu nie uległo zmianie, ale mimo niezmienionej farmakoterapii zaobserwowano spadek wartości akcji serca ($75,7 \pm 8,7$ vs $71,7 \pm 9,5$), średniego ciśnienia z okresu całej doby ($121,2 \pm 10,9/69,2 \pm 7,2$ vs $113,9 \pm 10,2/65,2 \pm 5,8 \text{ mmHg}$), jak również z okresu dnia ($124,6 \pm 11,2/72 \pm 7,7$ vs $116,7 \pm 11/68,3 \pm 6,5 \text{ mmHg}$) oraz nocy ($113,9 \pm 12,9/61 \pm 8,3$ vs $107,9 \pm 11,6/58,9 \pm 6,6 \text{ mmHg}$). Wykazano zmniejszenie się odchylenia standardowego z wartości ciśnień skurczowych i rozkurczowych (SBP $\text{sd} 24-12,5$ vs $11,7$; DBP $\text{sd} 24-11,7$ vs $10,5$). Ponadto poziom cholesterolu ($5,9 \pm 8,0$ vs $4,7 \pm 1,0 \text{ mmol/l}$), glukozy ($5,6 \pm 1,7$ vs $5,3 \pm 0,9 \text{ mmol/l}$) oraz hemoglobiny

glikowanej ($6,1 \pm 1,1$ vs $5,8 \pm 0,9\%$) obniżyły się znacząco we wczesnym okresie po operacji.

Wnioski: U chorych we wczesnym okresie po operacji bariatrycznej obserwuje się zmniejszenie wartości ciśnienia tętniczego w pomiarach całodobowych oraz obniżenie jego zmienności. Zmiany te nie są zależne od spadku masy ciała i mogą wpływać na zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego.

KAROLINA GOLIŃSKA-GRZYBAŁA, ANNA FURMAN-NIEDZIEJKO,
MAGDALENA WILCZYŃSKA-GOLONKA, RADOŚLAW RYCHLAK,
JAROSŁAW ZALEWSKI, JADWIGA NESSLER

ZNACZENIE PROGNOSTYCZNE PIERWSZEGO NAPADU MIGOTANIA PRZEDSIONKÓW TOWARZYSZĄCEGO OSTREMU ZESPOŁOWI WIEŃCOWEMU U PACJENTÓW Z NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA Z OBNIŻONĄ FRAKCJĄ WYRZUTOWĄ

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

Wstęp: Wpływ pierwszego epizodu AF na chorobowość i śmiertelność wśród pacjentów z niewydolnością serca z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory (HFREF) leczonych z powodu OZW nadal pozostaje niejasny.

Cel: Celem tego badania było określenie śmiertelności u pacjentów z OZW, HFREF i pierwszym epizodem AF.

Metody: Przeprowadziliśmy badanie kohortowe, które objęło 360 pacjentów z OZW i HFREF, hospitalizowanych w Klinice Choroby Wieńcowej w Krakowie w latach 2008–2010. Wyklucziliśmy pacjentów z istotną chorobą zastawkową serca, utrwalonym AF oraz aktywną chorobą tarczycy. Pacjenci zostali podzieleni na gr. AF – 52 pacjentów z pierwszym epizodem AF w trakcie OZW i gr. bez AF w trakcie OZW – 308 pacjentów. Po okresie obserwacji (43–73 miesiące) przeprowadzono telefoniczną ankietę z 41 pacjentami (78,8%) z gr. AF i 227 (73,7%) z gr. bez AF.

Wyniki: Pacjenci z gr. AF charakteryzowali się: starszym wiekiem (74,1 vs 63,9 lat; $p<0,001$), przewagą płci żeńskiej (52% M vs 28% K; $p<0,001$), wyższymi wartościami tętna przy przyjęciu do szpitala (111 vs 81/min; $p<0,001$). Badania krwi wykazały wyższy poziom kreatyniny (107,5 vs 89 $\mu\text{mol/l}$; $p=0,004$). U tych pacjentów częściej występowało wewnątrzszpitalne zatrzymanie krążenia (9,8 vs 1,6%; $p<0,001$).

Wewnątrzszpitalna śmiertelność w gr. AF wyniosła 1,9 vs 1,3% ($p=0,72$). Obserwacja odległa wykazała różnice w śmiertelności całkowitej (45 vs 11,1%; $p<0,001$), śmiertelności z powodu udaru mózgu (9,3 vs 0,7%; $p=0,003$) oraz śmiertelności z powodu chorób sercowo-naczyniowych (27,3 vs 6,5%; $p<0,001$). Analiza metodą regresji Coxa wykazała, że niezależnymi predyktorami zgonu

z jakiegokolwiek przyczyny łącznie w obu grupach były: wiek (RW 1,07; 95% PU (1,04–1,12); $p<0,001$), pierwszy epizod AF towarzyszący OZW (RW 2,6; 95% PU (1,3–5,3); $p=0,008$) oraz poziom kreatyniny w surowicy (RW 1,01; 95% PU (1,0–1,02); $p<0,001$).

Wnioski: W grupie pacjentów z OZW, HFREF i pierwszym epizodem AF obserwacja odległa wykazała większą śmiertelność całkowitą z powodu udaru mózgu oraz chorób sercowo-naczyniowych. AF podczas OZW, wiek i poziom kreatyniny były niezależnymi predyktorami śmiertelności całkowitej w obserwacji odległej u pacjentów z OZW i HFREF.

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

Celem pracy była ocena wczesnej (ROSC – Return Of Spontaneus Circulation) oraz późnej (wypis ze szpitala) przeżywalności pacjentów poddawanych wewnątrzszpitalnej resuscytacji krążeniowo-oddechowej (RKO) oraz ocena czynników wpływających na przeżywalność.

Metodyka:

Badania prospektywne zostały przeprowadzone wśród dorosłych chorych resuscytowanych w Szpitalu im E.Szczeklika w Tarnowie w okresie od stycznia 2012 roku do grudnia 2014 roku. Do badania zakwalifikowano 268 pacjentów dorosłych.

Wyniki: Mechanizm zatrzymania krążenia wpływa na ROSC ($p < 0,0001$). 78,2 % pacjentów, u których doszło do NZK, w mechanizmie do defibrylacji uzyskało ROSC, natomiast u chorych, wśród których przyczyną zatrzymania krążenia był rytm nie do defibrylacji, odsetek pacjentów z ROSC wynosił 35,8%. Prawdopodobieństwo występowania ROSC malało wraz z czasem trwania resuscytacji. Wykazano zależność pomiędzy monitorowaniem pacjentów a wystąpieniem ROSC ($p = 0,006$). Odsetek osób monitorowanych, u których powróciło spontaniczne krążenie, wyniósł 62,8%. Wiek wpływał na przeżywalność wczesną i późną. Pacjenci, którzy przeżyli, byli młodszy od tych, którzy zmarli. Rozpoznanie wstępne wpływało na przeżycie pacjenta do wypisu ($p < 0,0001$). Częściej do wypisu przeżywali pacjenci, u których doszło do NZK z przyczyn krążeniowych (27,6%), niż ci, u których doszło do NZK z przyczyn oddechowych (7,4%) lub zakwalifikowanych jako inne (5,5%). Rytm NZK wpływał na przeżycie pacjentów do wypisu ze szpitala ($p < 0,0001$). 86,8% pacjentów, którzy przeżyli do wypisu ze szpitala, miało rytm do defibrylacji. Pacjenci, u których resuscytacja trwała krócej, istotnie częściej przeżywali do wypisu. Prawdopodobieństwo wypisu malało wraz z czasem trwania resuscytacji.

Wnioski: Przeżywalność pacjentów do wypisu ze szpitala wynosi 19,8%. Na przeżywalność wpływa wiek, przyczyna NZK, mechanizm NZK, monitorowanie przed NZK oraz czas trwania resuscytacji.

MAREK GROSICKI*, STEFAN CHŁOPICKI**, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

ROLA RECEPTORÓW HISTAMINOWYCH H4 W ADHEZJI EOZYNOFILI DO KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński

Histamina jest substancją o działaniu immunomodulacyjnym. Dotychczas zidentyfikowano cztery receptory histaminowe, dzięki którym histamina może modyfikować aktywność komórkową (Tiligada, Zampeli i wsp. 2009). Eozynofile są komórkami układu odpornościowego występującymi w niewielkiej ilości we krwi obwodowej oraz w tkankach. Na ludzkich eozynofilach zidentyfikowano obecność trzech receptorów histaminowych (H1, H2 oraz H4). Funkcja tych receptorów nadal nie jest w pełni poznana (Seifert i wsp. 2012). Celem przedstawionych badań była ocena wpływu histaminy oraz selektywnych antagonistów receptorów histaminowych na proces adhezji eozynofili do komórek śródbłonna. Eozynofile zostały wyizolowane z ludzkiej krwi obwodowej przy zastosowaniu negatywnej separacji immunomagnetycznej. Żywotność oraz funkcjonalność wyizolowanych komórek potwierdzono, stosując barwienie błękitem trypanu, testem MTS, barwieniem aneksyną V i jodkiem propidyny oraz testem funkcjonalnym badającym degranulację eozynofilowej peroksydazy (EPO). Ocenę wpływu histaminy oraz selektywnych antagonistów receptorów histaminowych na adhezję eozynofili do śródbłonna dokonano w eksperymentach ko-kultury z komórkami śródbłonna linii EA.hy.926. W wyniku przeprowadzonych izolacji uzyskano materiał komórkowy, w którym 98% komórek zidentyfikowano jako eozynofile. W ciągu pierwszych 4 godzin po izolacji komórki charakteryzowały się wysoką żywotnością oraz funkcjonalnością. Histamina zwiększała liczbę eozynofili podlegających adhezji do komórek śródbłonna. W obecności antagonistów receptorów histaminowych H1 oraz H2 (difenhydramina, mepyramina, famotydyna, ranitydyna) stymulowana przez histaminę (1 μ M) adhezja eozynofili do śródbłonna pozostawała niezmieniona. Natomiast antagonistą receptora histaminowego H4 (JNJ7777120) zmniejszył liczbę eozynofili podlegających adhezji do komórek śródbłonna w sposób dawkozależny. Podsumowując, histamina aktywuje adhezję eozynofili do komórek śródbłonna, a kluczową rolę w tej odpowiedzi odgrywa histaminowy receptor H4, a nie receptory H1 i H2.

Badania finansowane z grantów: NCN DEC-2011/02/A/NZ4/00031; NCN-2014/13/N/NZ7/00897.

BEATA GRYZŁO

CYKLICZNE SIARCZANY JAKO SKUTECZNE NARZĘDZIE W SYNTEZIE IZOSERYNOWYCH POCHODNYCH O POTENCJALNEJ AKTYWNOŚCI INHIBICYJNEJ WYCHWYTU ZWROTNEGO GABA

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

Jednym z ważniejszych neuroprzekaźników występujących w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) u ssaków jest kwas 4-amino masłowy (GABA). Należy on do grupy neuroprzekaźników hamujących pobudzenie neuronów, a tym samym pełni jedną z kluczowych ról w homeostazie ośrodkowego układu nerwowego ssaków. Wszelkie zmiany wpływające na zachwianie równowagi stężenia GABA leżą u podstaw licznych patologii OUN, a w konsekwencji – schorzeń i chorób występujących u ssaków. W bogatej literaturze wskazuje się, że potencjalne terapie nacelowane na leczenie zmian patologicznych związanych z funkcjonowaniem układu GABA-ergicznego mogą prowadzić do łagodzenia skutków wielu schorzeń neurologicznych, takich jak padaczka, choroba Parkinsona czy schizofrenia.

Jedną z metod przywrócenia równowagi pomiędzy neuronami OUN może być blokowanie poszczególnych izoform transporterów GABA (GAT). Obecnie zidentyfikowano 4 izoformy GAT, spośród których GAT-1 jest najbardziej poznany. W konsekwencji istotne staje się poszukiwanie nowych związków, będących selektywnymi inhibitorami pozostałych izoform GAT.

Celem niemniejszego projektu jest synteza nowych związków, będących potencjalnymi inhibitorami GAT. Struktury do badań zaprojektowano w oparciu o struktury seryny – nieselektywnego inhibitora wychwytu zwrotnego GABA. Otrzymane do tej pory wyniki dla serynowych pochodnych wykazywały aktywność wobec GAT oraz zmianę profilu selektywności w porównaniu z analogicznymi pochodnymi GABA wobec poszczególnych izoform GAT. Aby sprawdzić wpływ położenia podstawników w łańcuchu głównym kwasu propionowego na aktywność i selektywność, zaprojektowano serie pochodnych izoseryny oraz kwasu alfa-beta-diaminapropionowego.

W syntezie planowanych związków wykorzystano cykliczne siarczany. Otrzymane w ten sposób pochodne zostały przekazane do badań w celu określenia ich właściwości inhibicyjnych GAT.

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

ZMIANY EKSPRESJI GENÓW *ICA*A, *ATL*E ORAZ *SAR*A PODCZAS TWORZENIA BIOFILMU PRZEZ KLINICZNE SZCZEPY *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* IZOLOWANE Z ZAKAŻEŃ NOWORODKÓW Z BARDZO MAŁĄ MASĄ URODZENIOWĄ

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

Założenia: Gronkowce *S. epidermidis* stanowią jedną z najistotniejszych przyczyn zakażeń u noworodków przedwcześnie urodzonych, a głównym czynnikiem wirulencji tych drobnoustrojów jest tworzenie biofilmu. W proces ten zaangażowanych jest szereg genów, między innymi operon *ica*, gen *atlE* oraz *sarA*. Obecnie intensywnie badana jest ekspresja tych genów, lecz dane literaturowe dotyczą głównie biofilmu dojrzałego, nie zaś wczesnych stadiów jego powstawania.

Cel pracy: Zbadanie ekspresji genów *icaA*, *atlE* oraz *sarA* na różnych etapach tworzenia biofilmu ze szczególnym uwzględnieniem wczesnego biofilmu.

Metodyka: Przebadano 6 różnych genetycznie szczepów *S. epidermidis*. Hodowlę bakteryjną inkubowano w płytkach 24-dółkowych w 37°C przez 2, 6, 12, 24 i 48 godzin. Następnie podłoże hodowlane usuwano, a powstały biofilm zbierano w celu izolacji całkowitego RNA. Przeprowadzono odwrotną transkrypcję mRNA do cDNA oraz amplifikację cDNA metodą Real-Time PCR w celu oznaczenia poziomu ekspresji genów w odniesieniu do ekspresji 16S-RNA.

Wyniki: Ekspresja genu *icaA* osiągała maksimum po 6 (50%, n=3) lub 12 godzinach (50%, n=3), a następnie stopniowo obniżała się. Ekspresja genu *atlE* osiągała maksimum po 6 (66,7%, n=4), 12 (16,6%, n=1) lub 24 godzinach (16,6%, n=1), a następnie stopniowo obniżała się. Ekspresja genu *sarA* osiągała maksimum po 6 (83,3%, n=5) lub 12 godzinach (16,6%, n=1), a następnie stopniowo obniżała się.

Wnioski: U badanych klinicznych szczepów *S. epidermidis* ekspresja genów *icaA*, *atlE* i *sarA* wzrastała we wczesnych fazach tworzenia biofilmu i obniżała się wraz z jego dojrzewaniem.

Badania finansowano z dotacji celowej K/DSC/001393.

AGATA GRZYWACZ

ROLA CYNKU W PRZEBIEGU PROCESÓW ZAPALNYCH W MODELACH *IN VITRO*

AFILIACJA: Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Zaburzenia gospodarki cynku odgrywają istotną rolę w patogenezie schorzeń o podłożu zapalnym i degeneracyjnym. Procesy zapalne, zwłaszcza te o charakterze przewlekłym, towarzyszą chorobom autoimmunologicznym, metabolicznym, procesowi starzenia się organizmu, a także nowotworom.

Bacopa monnieri L. Pennell oraz jadalne grzyby owocnikowe charakteryzują się wysokimi zdolnościami akumulacji pierwiastków śladowych, w tym cynku, co może mieć zastosowanie we wzbogacaniu codziennej diety w mikroelementy, jak i w produkcji suplementów i leków. Powyższe badania miały na celu określenie potencjalnych właściwości przeciwzapalnych ekstraktów *Bacopa monnieri* L. Pennell oraz grzybów owocnikowych i grzybowych kultur *in vitro*, suplementowanych związkami cynku. W badaniach wykorzystano komórki A549 (*human lung epithelial carcinoma*), aktywowane LPS (10 ng/ml) i inkubowane z dodatkiem badanych ekstraktów (40, 20 i 10 µl/ml) przez 24 h. Następnie oceniano wpływ związków cynku na przeżywalność i zdolność do proliferacji komórek, a także poziom ekspresji białek związanych z procesami zapalnymi (COX-2 i cPEGS). Ekspresję białek określano z zastosowaniem techniki Western Blot.

Inkubacja z ekstraktami grzybów i *Bacopa* obniżyła znacząco poziom COX-2 oraz cPGES w porównaniu do komórek aktywowanych LPS.

Powyższe badania wskazują na potencjał przeciwzapalny badanych ekstraktów roślinnych i grzybowych, co może mieć znaczenie terapeutyczne i przyczynić się do opracowania nowych strategii w walce ze stanem zapalnym.

IRENEUSZ HONKISZ, KRISTYNA SZTEFKO

ROLA CYNKU W PRZEBIEGU PROCESÓW ZAPALNYCH W MODELACH *IN VITRO*

AFILIACJA: Zakład Biochemii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Collegium Medicum, 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 odpowiedzi naczyniaków wczesnodziecięcych na zastosowane leczenie farmakologiczne.

Materiał i metody: Analizie poddano dokumentację medyczną dzieci z naczyniakami wczesnodziejęcymi leczonymi 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). Stopień odpowiedzi na leczenie oceniano po miesiącu od rozpoczęcia leczenia. W grupie dzieci leczonych kortykosteroidami u 3 (12%) pacjentów uzyskano bardzo dobrą odpowiedź, u 15 (60%) dobrą, u 3 (12%) średnią, 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 przy rozpoczęciu leczenia, płeć, liczbę punktów w skali APGAR. Dla powyższych wartości wykonano 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. Zastosowanie propranololu skutkuje uzyskaniem lepszej pozytywnej odpowiedzi niż użycie kortykosteroidów. Nie stwierdzono różnic pomiędzy uzyskaną odpowiedzią a czasem trwania ciąży, masą urodzeniową dzieci, liczbą punktów w skali APGAR oraz wiekiem dziecka w trakcie rozpoczęcia leczenia.

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

MAGDALENA JAGLARZ*, KATARZYNA MAŁEK-ZIĘTEK*, ELŻBIETA BUCZEK**,
MARTA TARGOSZ-KORECKA*, STEFAN CHŁOPICKI**, MAREK SZYMONSKI*

OCENA WŁAŚCIWOŚCI NANO-MECHANICZNYCH WARSTWY ŚRÓDBŁONKA AORTY MYSIEJ

AFILIACJA: * NANOSAM, Zakład Fizyki Nanostruktur i Nanotechnologii, Instytut Fizyki, Uniwersytet Jagielloński; ** Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński

Śródbłonek naczyniowy odgrywa zasadniczą rolę w regulowaniu ciśnienia krwi i zapewnieniu prawidłowej homeostazy naczyń. W danych literaturowych wykazano zależności między wzrostem/spadkiem elastyczności komórek śródbłónka a ich stanem funkcjonalnym. Poszerzyły one opis fenotypu komórek śródbłónka o charakterystykę ich nano-mechanicznych właściwości. Rozwinięcie prowadzonych badań na badania w modelu *ex vivo* pozwolą na dopracowanie metodologii badawczej, jak również charakterystykę zmian wewnętrznej ściany naczynia w różnych stanach chorobowych. W szczególności interesujące są zmiany, jakie zachodzą w śródbłónku oraz w podśródbłónkowej warstwie blaszki podstawnej.

W prezentowanej pracy przedstawiono wstępne badania morfologii oraz właściwości elastycznych warstwy śródbłónka z wycinków aorty mysiej. Główną uwagę poświęcono metodologii badawczej dotyczącej zarówno przygotowania preparatów, jak i pomiaru właściwości elastycznych. Opracowano technikę tworzenia wycinków aorty oraz unieruchomienia ich na twardym podłożu, jak również dobrano środowisko pomiaru oraz wstępnej inkubacji. W pomiarach parametru elastyczności (zredukowany moduł Younga) warstwy śródbłónka naczyń wykorzystano spektroskopię nanoindentacji ostrzem AFM, stosując sferyczny próbnik o promieniu 5 μm .

Na podstawie opracowanej metodologii badawczej wykonano pomiary właściwości nano-mechanicznych wewnętrznej warstwy aorty mysiej w modelu nadciśnienia tętniczego indukowanego L-NAME oraz dla modelu cukrzycowego. Zarówno nadciśnienie, jak i cukrzyca są związane z rozwojem dysfunkcji śródbłónka, co w konsekwencji rzutuje na zdolność do skurczu/rozkurczu całego naczynia. Przeprowadzone pomiary pokazały, że w wymienionych powyżej stanach chorobowych występują zarówno zmiany struktury, jak i właściwości elastycznych warstwy śródbłónka.

ANNA JAKUBOWSKA

**BADANIA NAD OTRZYMYWANIEM NOWYCH
STEREOIZOMERÓW α -AMINOKWASÓW
Z WYKORZYSTANIEM RÓWNOWAŻNIKA GLICYNY,
POCHODNEJ OKSAZYNONU I HALOGENOPOCHODNYCH
CYKLICZNYCH SIARCZANÓW**

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

Spośród związków biologicznie aktywnych, które są kwalifikowane do badań klinicznych, tylko 1 związek na 10 ma szansę zostać w przyszłości zarejestrowany jako lek [1]. Jest to w dużej mierze spowodowane złą farmakokinetyką zsyntetyzowanych związków oraz z ich słabą biodostępnością. Przede wszystkim dotyczy to związków o charakterze peptydowym, które odgrywają ogromną rolę w terapii wielu chorób [2]. W 2004 roku ponad 20% związków aktywnych występujących w 200 najlepiej sprzedających się preparatach należało do tej grupy związków [1]. Uzasadnione jest zatem poszukiwanie metod syntezy nienaturalnych aminokwasów, zwłaszcza metod asymetrycznych. Wprowadzenie nienaturalnych aminokwasów w strukturę związków o charakterze peptydowym może przyczynić się do poprawy ich właściwości farmakokinetycznych i farmakodynamicznych [3].

Celem przedstawionych badań było sprawdzenie możliwości wykorzystania enancjomerów równoważnika glicyny, pochodnej oksazynonu i enancjomerów halogenopochodnych cyklicznych siarczanów w asymetrycznej syntezie cyklicznych aminokwasów. W ramach prowadzonych badań wykorzystane zostały cykliczne siarczany (IV) i (VI), będące jodo- i chloropochodnymi butan-1,2,4-triolu i propan-1,2,3-triolu. Ponadto użyte siarczany różniły się również wielkością pierścienia. Przeprowadzone badania pozwoliły na uzyskanie cyklicznych aminokwasów, pochodnych kwasów 1-aminocyklopropanokarboksylowych i 1-aminocyklopentanokarboksylowych, z dużą czystością optyczną. Ponadto zdefiniowano zależności pomiędzy budową chemiczną użytych cyklicznych siarczanów a ich reaktywnością i użytecznością w syntezie aminokwasów. Konfiguracja absolutna uzyskanych pochodnych została ustalona na podstawie badań z wykorzystaniem dwuwymiarowych widm magnetycznego rezonansu protonowego, wykorzystujących efekt Overhausera (NOESY).

Bibliografia:

1. Vlieghe P. et al., *Drug Discov. Today*, 2010, 15, 40–56.
2. Khoury G. A. et al., *ACS Synth. Biol.*, 2014, 3, 855–869.
3. Maity P., König B., *Peptide Science*, 2007, 90, 8–27.

MARTA JANOWSKA, SYLWIA DZIEDZINA, ANNA WOJAS-PELC

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

AFILIACJA: Katedra Dermatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Trądzik pospolity jest jedną z najczęstszych chorób skóry. 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 wynika, że polimorfizm w rejonie promotora genu dla TNF- α pozycji -308 GA oraz -857 CT może być związany z rozwojem trądziku.

Przeprowadzane badanie ma na celu określenie związku polimorfizmu w rejonie promotora genu dla TNF- α w pozycjach -308 GA i -857 CT z przebiegiem klinicznym trądziku.

Badaniem objęto grupę 98 osób w wieku 18–30 lat. U wszystkich pacjentów wykonano badanie polimorfizmu promotora TNF- α (-857 i -308). Zastosowano metodę reakcji łańcuchowej polimerazy z wykorzystaniem specyficznych sekwencji startujących.

Wykazano różnice w zakresie częstotliwości występowania poszczególnych wariantów polimorfizmu -308 GA wśród kobiet z trądzikiem i wśród zdrowych kobiet z grupy kontrolnej ($p=0,002$). W szczegółowej analizie wykazano, że u kobiet chorych na trądzik znamienne częściej występował wariant polimorficzny AG ($p=0,001$), a w grupie kontrolnej – wariant GG ($p<0,001$).

Stwierdzono różnice w zakresie częstotliwości występowania poszczególnych wariantów polimorfizmu -857 CT wśród mężczyzn chorych na trądzik i wśród mężczyzn z grupy kontrolnej. Szczegółowa analiza wykazała, że u mężczyzn z trądzikiem istotnie częściej występował wariant polimorficzny CC, a w grupie kontrolnej – wariant CT ($p=0,006$).

Poznanie związku polimorfizmu genów z występowaniem trądziku oraz stopniem nasilenia wydaje się szczególnie przydatne, gdyż może ułatwić podjęcie decyzji o wcześniejszym włączeniu bardziej agresywnego leczenia trądziku, szczególnie w jego ciężkich formach, prowadzących do głębokiego bliznowacenia.

ANDRZEJ JARYNOWSKI, FLORENTIN PALADI, LIANA CERNOV

ANALIZA KOSZTÓW I KORZYŚCI METOD PREWENCYJNYCH RAKA SZYJKI MACICY W MOŁDAWII PRZY WYKORZYSTANIU MODELU KOMPUTEROWEGO

AFILIACJA: Zakład Teorii Układów Złożonych, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński; Państwowy Uniwersytet Mołdawski w Kiszyniowie

Założenia: Przeprowadziliśmy symulacje komputerowe projekcji zachorowań na raka szyjki macicy dla różnych scenariuszy interwencji, ze szczególnym uwzględnieniem analizy kosztów w warunkach nikłych zasobów finansowych na przykładzie Mołdawii. HPV, patogen przenoszony drogą płciową, jest głównym czynnikiem oraz warunkiem koniecznym rozwoju raka szyjki macicy. Jest to najczęściej występujący nowotwór u kobiet w wieku pracującym w Mołdawii, a zapadalność jest prawie najwyższa w Europie. Dodatkowo obserwujemy wzrost seksualności oraz starzenie się społeczeństwa.

Cele: Najskuteczniejsze programy prewencyjne, składające się z obowiązkowych szczepień i badań przesiewowych, niekwestionowane za swoją skuteczność, nie mogą zostać wprost zaimplementowane, ponieważ koszt redukcji QALY przekracza PKB na mieszkańca. Opracowaliśmy optymalny populacyjnie program prewencyjny w granicach określonego budżetu.

Metodyka: Społeczeństwo Mołdawii z istotnymi dla epidemiologii raka szyjki macicy elementami zostało zamodelowane przy użyciu 100 deterministycznych i stochastycznych równań różniczkowych oraz 200 parametrów medycznych, społecznych czy finansowych. Wykorzystaliśmy dane statystyczne od 1998 roku dla wyuczenia modelu i tworzymy predykcje do około 2030 roku.

Wyniki/wnioski: Symulacje komputerowe wykazały podtrzymanie trendów spadkowych w zapadalności dla większości scenariuszy i interwencji, co plasuje ten kraj w dużo lepszej sytuacji niż inne kraje Europy postsocjalistycznej. Obecny program prewencyjny został w dużej mierze przygotowany oraz wstępnie finansowany przez agencje ONZ/USA/UE. Niestety Mołdawia nie ma możliwości finansowych ani technicznych, żeby sprostać choćby obowiązującemu programowi przesiewowemu. Na samej zmianie grupy docelowej można zaoszczędzić 150–500 tys. EUR, przy niewielkich kosztach populacyjnych. Na podstawie predykcji epidemiologii raka zaproponowaliśmy program prewencyjny kosztujący zaledwie 5–10 tys. EUR za QALY, składający się ze zoptymalizowanego programu przesiewowego, programu edukacyjnego oraz szczepień skierowanych.

ANNA JASIÓWKA

ROLA KOORDYNATORÓW TRANSPLANTACYJNYCH W PROCESIE POBIERANIA I PRZESZCZEPIANIA NARZĄDÓW

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

Cel pracy: Przedstawienie roli, jaką odgrywa koordynator transplantacyjny. Ukazano podział koordynatorów ze względu na zadania pełnione w procesie przeszczepiania, liczbę osób pracujących jako koordynatorzy oraz ich wpływ na liczbę wykonywanych przeszczepów.

Metody: W pracy przeprowadzono analizę danych zawartych w Biuletynach Informacyjnych Centrum Organizacyjno-Koordynacyjnego do spraw Transplantacji Poltransplant oraz aktów prawnych regulujących dziedzinę medycyny, jaką jest transplantologia.

Wyniki: Koordynatorzy szpitalni odgrywają kluczową rolę w procesie identyfikacji potencjalnych dawców oraz w rozmowach z rodziną, a koordynatorzy regionalni w organizowaniu działań donacyjnych w swoim rejonie. Pod koniec 2013 roku pracowało 274 koordynatorów, z czego 228 osób (83,2%) to koordynatorzy szpitalni zatrudnieni w 202 placówkach (na 405 szpitali z potencjałem dawstwa). Zatrudnienie koordynatorów przyczyniło się w okresie 30-miesięcznej obserwacji do poprawy wskaźników donacyjnych: o 33% wzrosła liczba potencjalnych zmarłych dawców, o 31,5% liczba rzeczywistych zmarłych dawców, a o 28,7% wzrosła liczba narządów wykorzystywanych do przeszczepienia.

Wnioski: Koordynatorzy transplantacyjni pełnią niezwykle ważną rolę w procesie pobierania i przeszczepiania narządów. Dzięki ich ciężkiej pracy coraz więcej ludzi otrzymuje szansę na normalne życie z narządem darowanym od osoby zmarłej. Istnieje potrzeba stworzenia stanowisk koordynatorów we wszystkich szpitalach z potencjałem dawstwa, aby jeszcze bardziej wzmocnić i zwiększyć działalność transplantacyjną w Polsce.

JKUB JOŃCZYK, MAREK BAJDA, BARBARA MALAWSKA

BUDOWA NOWEGO MODELU HOMOLOGICZNEGO LUDZKIEGO RECEPTORA H3 HISTAMINOWEGO W OPARCIU O STRUKTURĘ RECEPTORA MUSKARYNOWEGO MC3 ORAZ H1 HISTAMINOWEGO

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

Receptor H3 histaminowy, który został odkryty w 1983 roku, nadal jest obiektem wielu badań. Ligandy oddziałujące na ten receptor mogą posłużyć do walki z otyłością, epilepsją czy chorobą Alzheimera. Trudności w projektowaniu nowych substancji aktywnych względem receptora H3 histaminowego nastręcza brak informacji o jego strukturze przestrzennej, gdyż wciąż nie udało się otrzymać go w formie kryształu pozwalającego na poznanie jego konformacji. Szansę na to dają analizy komputerowe, wykorzystujące homologię białek. Strukturalne podobieństwo w obrębie rodzin pełniących podobne funkcje jest podstawą algorytmów wykorzystywanych w modelowaniu homologicznym.

Celem prezentowanych badań było opracowanie nowego modelu homologicznego ludzkiego receptora H3 histaminowego jako istotnego w projektowaniu nowych bioaktywnych cząsteczek z zastosowaniem metod komputerowych.

W wykonanych badaniach zestawiono sekwencję aminokwasów ludzkiego receptora H3 histaminowego dostępną w bazie UniProt z dostępnymi sekwencjami receptorów związanych z białkiem G. Najwyższą homologię spośród receptorów o znanej strukturze przestrzennej wykazały receptor muskarynowy MC3 oraz histaminowy H1, które posłużyły za wzorce w dalszych badaniach. Przy wykorzystaniu programów ClustalW2 i MSAProbe 0.9.7 badana sekwencja została zestawiona z sekwencjami wzorców. W ten sposób otrzymano 12 matryc, na podstawie których za pomocą programu Modeller 9.14 otrzymano 1344 modele reprezentujące strukturalne odwzorowanie receptora H3 histaminowego. Modele te zostały ocenione przy pomocy funkcji BCL oraz QMEAN i IntFold. Na podstawie ocen wyłoniono najlepsze modele, które posłużą do dalszych badań, wykorzystujących proces dokowania ligandów do otrzymanych modeli oraz symulacje dynamiki molekularnej najlepszego modelu. Badania te pozwolą przeanalizować sposób wiązania się antagonistów receptora H3 histaminowego z jego miejscem aktywnym oraz proces aktywacji i dezaktywacji receptora.

GRZEGORZ JORDAN

UŻYTECZNOŚĆ KLINICZNA DŁUGOTERMINOWEGO MONITOROWANIA AKCJI SERCA PŁODU Z ZASTOSOWANIEM PRZEBRZUSZNEJ ELEKTROKARDIOTOKOGRAFII PŁODOWEJ

AFILIACJA: Wydział Lekarski, Katedra Ginekologii i Położnictwa, Klinika Położnictwa i Perinatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Rozwój technik diagnostyki biofizycznej płodu spowodował znaczny spadek powikłań oraz umieralności okołoporodowej, a także wyraźny wzrost odsetka cięć cesarskich. W dalszym ciągu obserwujemy jednak stałą częstość występowania dziecięcego porażenia mózgowego. Skłania to do podjęcia dalszych badań w celu poprawy zdolności faktycznej oceny komfortu wewnątrzmacicznego płodu.

Celem pracy jest próba optymalizacji rozpoznania rzeczywistego wewnątrzmacicznego zagrożenia płodu poprzez ocenę klinicznej użyteczności długoterminowego monitorowania akcji serca płodu z zastosowaniem przebrzusznej holterowskiej elektrokardiotokografii.

Materiał i metody. Badanie zostało przeprowadzone wśród ciężarnych hospitalizowanych w O/K Położnictwa i Perinatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w okresie od marca do sierpnia 2014 roku. Badanie miało charakter prospektywny. Ciężarne były poddawane standardowemu zapisowi kardiograficznemu oraz holterowskiemu zapisowi elektrokardiotokograficznemu, przy użyciu urządzenia Monica AN24 – Fetal/Maternal Holter Recorder. W badanej grupie znalazły się ciężarne o fizjologicznym i patologicznym przebiegu. Liczebność wyniosła 152 ciężarne. Zapisy holterowskie zostały ocenione z zastosowaniem kryteriów Dawesa-Redmana. Wyniki analizy zostały zestawione z wynikami ciąży. Brano pod uwagę tydzień zakończenia ciąży, sposób rozwiązania, płeć, masę i długość ciała noworodka, punktacja w skali Apgar.

Wyniki i wnioski: 1. Stwierdzono istotny statystycznie brak wpływu masy i BMI pacjentki, AFI oraz lokalizacji łożyska na utratę sygnału płodu (FHR%). 2. Stwierdzono istotny statystycznie wpływ typu łożyska oraz EFW na utratę sygnału płodu (FHR %). 3. Stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy STV a tygodniem ciąży. 4. Stwierdzono istotne statystycznie niższe wartościami bez nadciśnienia tętniczego, jednocześnie nie stwierdzając różnic w zapisach KTG.

KAROLINA KACZMARCZYK

LICZEBNOŚĆ MASTOCYTÓW W OBREMBIE PODŚCIELISKA NERKI JEST STATYSTYCZNIE WYŻSZA W BŁONIASTO-ROZPLEMOWYM ZAPALENIU NEREK NIŻ W KLASIE IV SYSTEMOWEGO TOCZNIA RUMIENIOWATEGO

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

Toczniove zapalenie nerek jest częstym powikłaniem systemowego tocznia rumieniowatego (SLE). Jego klasyfikacja opiera się na opisie zmian patologicznych w obrębie kłębuszka nerkowego, które w przypadku tocznia klasy IV mogą być podobne do zmian w błoniasto-rozplemowym zapaleniu nerek (MPGN). Mastocyty to komórki wchodzące w skład nacieku zapalnego, przyczyniające się do zmian w obrębie podścieliska nerki, które są istotne w kłębuszkowych chorobach nerek.

Celem pracy było określenie liczby mastocytów chymazo- i tryptazo-dodatnich w klasie IV systemowego tocznia rumieniowatego oraz w błoniasto-rozplemowym zapaleniu nerek, w obrębie podścieliska nerki.

Materiał stanowiło 61 biopsji nerek, 32 z systemowym toczniem rumieniowatym klasy IV i 29 z błoniasto-rozplemowym zapaleniem nerek. Komórki chymazo- i tryptazo-dodatnie oznaczono przy użyciu standardowej metody immunohistochemicznej oraz policzono w 10 polach widzenia, przy powiększeniu 400x. Przy pomocy siatki stereologicznej zmierzono względną objętość podścieliska. Wyniki skorelowano z poziomem kreatyniny oraz dziennym białkomoczem.

Średnia liczba mastocytów chymazo-dodatnich wynosiła 21,94 w całej grupie, 12,66 w klasie IV SLE i 32,18 w błoniastorozplemowym zapaleniu nerek. Średnia liczba komórek tryptazo-dodatnich wynosiła 34,94 w całej grupie, 22,98 w klasie IV SLE i 48,13 w błoniasto-rozplemowym zapaleniu nerek. Różnice w liczebności mastocytów w klasie IV systemowego tocznia rumieniowatego i w błoniasto-rozplemowym zapaleniu nerek były istotne statystycznie zarówno dla chymazo-, jak i tryptazo-dodatnich komórek. Liczebność mastocytów chymazo- i tryptazo-dodatnich korelowała z objętością podścieliska (RIV) ($R=0,35$ i $R=0,28$) oraz z poziomem kreatyniny ($R=0,35$ i $R=0,43$).

Uzyskane wyniki wskazują, że pomimo podobnych zmian patologicznych w obrębie kłębuszka nerkowego liczba mastocytów w klasie IV systemowego tocznia rumieniowatego i w błoniasto-rozplemowym zapaleniu nerek jest różna.

OLGA KACZMARCZYK, PATRYCJA KRYNICKA, JUSTYNA GWÓŹDŹ,
MATEUSZ FIEMA, TOMASZ MACH, MAŁGORZATA ZWOLIŃSKA-WCISŁO,
DOROTA CIBOR, MAGDALENA PRZYBYLSKA-FELUŚ

CZY CHORZY NA NIESWOISTE CHOROBY ZAPALNE JELIT POWINNI UNIKAĆ GLUTENU I LAKTOZY?

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

Wstęp: Mimo ciągłego postępu wiedzy w leczeniu nieswoistych chorób zapalnych jelit (NZJ) zalecenia dietetyczne, które powinny być integralną częścią leczenia, nie są dokładnie poznane. Szerokie zastosowanie diety bezglutenowej, jak również częste występowanie nietolerancji laktozy w tej grupie pacjentów skłoniły nas do przyjrzenia się objawom towarzyszącym spożywaniu pokarmów bogatych w gluten i laktozę u chorych na NZJ.

Celem pracy było wykazanie wpływu glutenu i laktozy znajdujących się w diecie na występowanie objawów ze strony przewodu pokarmowego oraz stworzenie zaleceń dietetycznych u chorych na NZJ.

Materiał i metody: U chorych na NZJ (46 pacjentów) i w grupie kontrolnej (46 osób) przeprowadziliśmy wywiad dotyczący sposobu odżywiania. Zapytaliśmy o występowanie objawów ze strony przewodu pokarmowego, takich jak ból brzucha, wzdęcia, biegunka czy zaparcia, po spożyciu pokarmów bogatych odpowiednio w gluten i laktozę. Odnotowaliśmy informacje dotyczące unikania konkretnych produktów żywnościowych, okresów zaostrzenia choroby i związanych z nimi przypadków hospitalizacji. Zebrane dane poddaliśmy analizie i porównaliśmy wyniki grupy badanej z kontrolną.

Wyniki: Analiza wykazała, że w obu grupach mleko i śmietana były najczęstszą przyczyną objawów ze strony przewodu pokarmowego. W grupie badanej objawy występowały częściej niż w grupie kontrolnej (mleko: 43% vs 22%, $p=0,002$; śmietana: 43% vs 17%, $p=0,019$). Wśród produktów zawierających gluten dolegliwości u chorych na NZJ występowały najczęściej po panierowanych warzywach (57%) i piwie (52%). Objawy występowały częściej w grupie badanej niż kontrolnej (panierowane warzywa: $p<0,0001$, piwo: $p=0,0004$).

Wnioski: U chorych na NZJ unikanie produktów zawierających laktozę może redukować objawy i poprawić jakość życia. Dlatego istotna jest rola edukacji dietetycznej i współpracy z dietetykiem w leczeniu chorych.

ŁUKASZ KACZYŃSKI, BOGDAN SOLNICA

PRECIS, PRECIS-2 I SQAROS JAKO PODSTAWY PRAWIDŁOWEJ OCENY WYNIKÓW PRÓB KLINICZNYCH

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

Cel: Ocena technologii medycznych stanowi podstawę określania zasadności finansowania terapii ze środków publicznych. Problemem jest jednak wyselekcjonowanie publikacji z wiarygodnymi wynikami w zakresie skuteczności leku w rzeczywistej praktyce klinicznej. Pierwszym źródłem informacji o efektywności danej technologii są pragmatyczne badania z randomizacją (pRCTs), których odróżnienie od klasycznych prób z randomizacją (RCTs) jest trudne. Drugie źródło stanowią badania obserwacyjne, których wiarygodność jest niższa z uwagi na brak cech metodologicznych charakterystycznych dla prób z randomizacją. Niezbędna staje się zatem hierarchizacja jakościowa badań odnajdywanych w ramach raportów technologii medycznych z wykorzystaniem odpowiednich kwestionariuszy.

Materiał i metoda: Przegląd systematyczny w bazie Medline przez PubMed z zastosowaniem następujących kwerend: 1. „(pragmatic OR practical OR naturalistic OR real world) AND (design OR project OR quality assessment)” oraz 2. „(observational studies OR cohort studies OR case-control studies OR cross-sectional studies OR follow-up studies) AND (tool OR scale) AND (quality OR validity)”. Okres wyszukiwania: do grudnia 2014 roku.

Wyniki: Do oceny stopnia pragmatyczności badań klinicznych z randomizacją najbardziej adekwatna jest skala PRECIS i jej aktualizacja, tzw. PRECIS-2. Może ona zostać wykorzystana z powodzeniem do oceny jakości już opublikowanych prób klinicznych. Ponadto w ramach wyszukiwania odnaleziono szereg kwestionariuszy i narzędzi wykorzystywanych do oceny jakości prób obserwacyjnych. Na ich podstawie wybrano newralgiczne domeny metodologiczne, które determinują jakość badania bez randomizacji. W ten sposób stworzono schemat 15-punktowego ujednoliconego kwestionariusza: SQAROS.

Wnioski: Wykorzystanie narzędzi PRECIS, PRECIS-2 i SQAROS do oceny jakości prób klinicznych włączonych do raportu oceny technologii medycznych może przyczynić się do zwiększenia wiarygodności zewnętrznej wykonywanych analiz farmakoeconomicznych.

JADWIGA KALICIŃSKA, RADOSŁAW ŚPIEWAK

OCENA POTENCJAŁU UCZULAJĄCEGO LUB DRAŻNIĄCEGO SKŁADNIKÓW KOSMETYKÓW W SYTUACJI WPROWADZONEGO ZAKAZU TESTÓW NA ZWIERZĘTACH

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

Alergia na kosmetyki dotyka coraz większej liczby osób. U około 25% kobiet oraz 18% mężczyzn odnotowano w testach płatkowych przynajmniej jeden dodatni odczyn na składniki kosmetyków. Około 13–60% kobiet oraz 5–40% mężczyzn doświadczyło lub doświadcza niepożądanych reakcji wywołanych stosowaniem kosmetyków (Warszaw i wsp. 2009; Thyssen i wsp. 2009).

Cel: Celem pracy jest przegląd systematyczny dostępnych aktualnie metod *in vitro* oraz analiza zgodności wyników poszczególnych metod oceny bezpieczeństwa składników kosmetyków z historycznymi wynikami badań ich potencjału uczulającego na ludziach i zwierzętach.

Materiał i metody: Systematyczny przegląd literatury dostępnej w bazach bibliograficznych (np. PubMed, Embase, Scopus, Google Scholar, bazy Cosmet-Lex oraz regulacje prawne UE), a także cytowanej w zidentyfikowanych artykułach. Tabelaryczne opracowanie danych dotyczących potencjału uczulającego poszczególnych substancji. Wybór optymalnej metody oceny zgodności między wynikami testów *in vitro* a wynikami badań na zwierzętach i ludziach.

Wyniki: Na podstawie uzyskanych danych powstanie niezależne od producentów kosmetyków, systematyczne zestawienie metod oceny bezpieczeństwa składników kosmetyków *in vitro*, a także katalog danych na temat potencjału uczulającego składników kosmetyków. Ponadto zostaną zaproponowane metody oraz kryteria wyboru metody *in vitro* najlepiej oceniającej ryzyko dla konsumentów, będzie też opracowana niezależna lista składników o szczególnie wysokim ryzyku uczulenia konsumentów.

Wnioski: Uzyskane dane posłużą zwiększeniu bezpieczeństwa stosowania kosmetyków, a tym samym bezpieczeństwu konsumentów.

KATARZYNA KAMIŃSKA*, MAŁGORZATA WIĘCEK*,
JOHANNES STEPHAN SCHWED**, HOLGER STARK**,
KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

(HETERO)CYKLICZNE POCHODNE 1,3,5-TRIAZYNY JAKO POTENCJALNE LIGANDY RECEPTORA H₄ HISTAMINOWEGO

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Institute of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry

Histamina pełni swoją biologiczną funkcję poprzez oddziaływanie z czterema podtypami receptorów histaminowych (H₁–H₄). Najmłodszym członkiem tej rodziny jest receptor H₄ histaminowy (H₄R), odkryty i sklonowany przez kilka niezależnych zespołów badawczych na przełomie 2000/2001 roku [1]. Ponieważ ekspresja H₄R zachodzi głównie w komórkach i tkankach układu odpornościowego (monocyty, komórki dendrytyczne, komórki tuczne, eozynofile, leukocyty), sugeruje się, iż pełni on istotną rolę w procesach zapalnych i (auto)immunologicznych. W badaniach *in vivo* w obecności antagonistów/odwrotnych agonistów H₄R [2, 3] zaobserwowano pozytywne efekty leczenia niektórych chorób (np. alergicznego nieżytu nosa, astmy, świądu czy bólu).

Kontynuując badania SAR w grupie pochodnych 1,3,5-triazyny, na podstawie wcześniejszych wyników oraz danych literaturowych [4, 5], zaprojektowano i otrzymano serię nowych ligandów H₄R w grupie (4-metylopiperazyn-1-ylo)-1,3,5-triazyno-2-aminy. Strukturę wyjściową poddawano modyfikacjom, zmieniając podstawnik w pozycji 6. pierścienia triazyny na pięcioczłonowy układ (hetero)cykliczny.

Związki otrzymano w wyniku bezpośredniej reakcji odpowiednich estrów kwasów karboksylowych z pochodną guanidyny. Przebadano je w celu oceny powinowactwa do H₄R w testach prowadzonych na rekombinowanych komórkach owadzych Sf9 z nadekspresją ludzkiego receptora H₄R, stosując jako radioligand [³H]histaminę.

Jednym z najbardziej obiecujących kierunków modyfikacji okazało się wprowadzenie podstawnika tiofenowego. Związek KB-4: 4-(3-chlorotiofen-2-ylo)-6-(4-metylopiperazyn-1-ylo)-1,3,5-triazyno-2-amina, wykazał wartość Ki=137 nM.

Praca współfinansowana przez NCN DEC-2011/02/A/NZ4/00031 oraz Akcję: COST CM1207 GLISTEN.

Bibliografia:

1. Nguyen T. et al., *Mol. Pharmacol.*, 2001, 59, 427.
2. Igel P. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, 20, 7191.
3. Tiligada E. et al., *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2009, 18, 1519.
4. Łażewska D., Kieć-Kononowicz K., *FBS*, 2012, S4, 967–987.
5. Kiss R., Keserü G. M., *Expert Opin. Ther. Patents*, 2009, 19, 119.

MAGDALENA KLIMEK, ANDRZEJ GALBARCZYK,
ILONA NENKO, GRAŻYNA JASIEŃSKA

INDEKS DŁUGOŚCI PALCÓW 2D:4D A PARAMETRY HISTORII REPRODUKCYJNEJ KOBIET W WIEKU POMENOPAUZALNYM

AFILIACJA: Instytut Zdrowia Publicznego, Zakład Zdrowia i Środowiska, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Indeks długości palców (2D:4D) stanowi odzwierciedlenie poziomów hormonów płciowych, na które ekspozowany jest płód pod koniec pierwszego trymestru ciąży. Liczne badania sugerują, iż bardziej sfeminizowane wartości wskaźnika 2D:4D związane są z wyższą prenatalną ekspozycją na żeńskie hormony płciowe (estrogeny) i jednocześnie z parametrami reprodukcyjnymi kobiet wskazującymi na ich wyższą całozyciową płodność.

Cel: Celem pracy była ocena związku między indeksem długości palców 2D:4D a wartościami wybranych parametrów historii reprodukcyjnej kobiet.

Metody: W badaniu uwzględniono 319 kobiet w wieku pomenopauzalnym (45–92 lat) zamieszkających na obszarze badawczym The Mogielica Human Ecology Study Site w Polsce południowej. Uczestniczki badania charakteryzowały się naturalną płodnością, naturalną menopauzą oraz ich mąż żył w momencie menopauzy.

Wyniki: Kobiety o bardziej sfeminizowanym indeksie długości palców 2D:4D charakteryzowały się wyższą liczbą dzieci ($P=0,002$), wyższą liczbą córek ($P=0,02$), rodziły ostatnie dziecko w starszym wieku ($P=0,02$) oraz posiadały dłuższy okres reprodukcyjny ($P=0,04$) niż kobiety z bardziej zmaskulinizowanym indeksem 2D:4D.

Wnioski: Uzyskane wyniki sugerują, że wczesnopłodowa ekspozycja na hormony płciowe może mieć całozyciowy związek z parametrami reprodukcyjnymi kobiet. Wyższa prenatalna ekspozycja na estrogeny może być związana z bardziej efektywnym funkcjonowaniem układu rozrodczego w dorosłości. Dotychczasowe badania dowiodły związku indeksu 2D:4D z poziomem popędu płciowego oraz poziomami podniecenia seksualnego, preferowanym wiekiem urodzenia pierwszego dziecka czy wiekiem zamążpójścia. Jednakże w związku z faktem, iż indeks 2D:4D w badanej populacji nie jest związany z poziomami hormonów płciowych, w dorosłości konieczne jest poszukiwanie potencjalnych mechanizmów łączących wczesnopłodową ekspozycję hormonalną płodu z parametrami historii reprodukcyjnej.

ELŻBIETA KLIMIEC*, KATARZYNA KOWALSKA**, TOMASZ DZIEDZIC*,
JOANNA PERA*, AGNIESZKA SŁOWIK*, ALEKSANDRA KLIMKOWICZ-MROWIEC*

OSTRA DEPRESJA PO UDARZE MÓZGU/TIA A LOKALIZACJA ZMIAN NIEDOKRWIENNYCH

AFILIACJA: * Katedra Neurologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Oddział Kliniczny Neurologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Wstęp: Depresja poudarowa jest często obserwowanym powikłaniem po udarze mózgu i wiąże się z gorszym rokowaniem i niższą jakością życia. Wyniki prac dotyczących związku między lokalizacją ogniska niedokrwienego a występowaniem depresji poudarowej są niejednoznaczne.

Cel: Celem badania była ocena związku między wystąpieniem depresji i nasileniem jej objawów u pacjentów po udarze i przejściowym niedokrwieniu mózgu (TIA) a lokalizacją ogniska niedokrwienego.

Metody: Do badania włączono kolejnych pacjentów hospitalizowanych w Oddziale Udarowym Kliniki Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Objawy depresji były oceniane 7–10 dni po przyjęciu do szpitala za pomocą Testu Dziewięciu Pytań (PHQ-9). Nasilenie objawów było określane jako mniejsze, gdy wynik w skali PHQ-9 wynosił 5–9 punktów, oraz jako większe, gdy wynik był wyższy lub równy 10 punktów. Do badania włączono 233 pacjentów z rozpoznaniem TIA lub udaru mózgu. Pacjentów analizowano pod względem typów klinicznych zespołów niedokrwienych wg Oxfordshire Stroke Project Classification oraz lewo vs prawostronnej i powierzchownej vs głębokiej lokalizacji ogniska niedokrwienego.

Wyniki: Objawy depresji zdiagnozowano u 60,5% (n=141) pacjentów. Wśród pacjentów z depresją 49,6% (n=70) miało mniejsze, a 50,4 % (n=71) większe nasilenie objawów. Nie stwierdzono istotnego związku pomiędzy częstością występowania depresji czy nasileniem jej objawów a typem klinicznym, lewo/prawostronną czy powierzchowną/głęboką lokalizacją zmiany niedokrwiennej.

Wnioski: Wystąpienie ostrej depresji po udarze mózgu/TIA nie jest związane z lokalizacją zmiany niedokrwiennej.

EDYTA KORBUT*, MONIKA WÓJCIK**, AGATA PTAK-BELOWSKA*,
BARBARA RYS**, GRAŻYNA STOCHEL**, TOMASZ BRZOZOWSKI*

MECHANIZM DZIAŁANIA SELENO-POCHODNYCH PEPTYDÓW ORAZ ICH SIARKOWYCH ANALOGÓW W PROCESIE KARCINOGENEZY W MODELACH IN-VITRO RAKA JELITA GRUBEGO

AFILIACJA: * Wydział Lekarski, Katedra Fizjologii, Pracownia Genetyki i Biologii Molekularnej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Według najnowszych doniesień istnieją podstawy, aby uważać, że związki selenu mogą mieć działanie hamujące rozwój komórek nowotworowych. Celem niniejszej pracy było zsyntetyzowanie seleno-pochodnej peptydu (2S)-4-metylo-seleno-2-[2-(2-okso-piperydyn-1-yl)acetylo]aminobutanianu metylu (SeP), a także jej siarkowego analogu (2S)-4-metylotio-2-[2-(2-okso-piperydyn-1-yl)acetylo]aminobutanianu metylu (SP), a następnie przebadanie tych związków pod kątem ich potencjalnej roli regulacyjnej w szlaku Wnt/ β -katenina oraz procesie programowanej śmierci komórki (apoptozy).

Badania przeprowadzono w modelu *in-vitro* z użyciem ludzkiej nowotworowej linii komórek jelita grubego (HT-29) oraz prawidłowej linii ludzkich keratynocytów (HaCat) jako kontroli. Zmiany w ekspresji genów i białek wyznaczono metodą Real-Time PCR oraz Western blot.

Wyznaczone dla zsyntetyzowanych związków dawki cytotoksyczne IC_{50}^{50} (test MTT) wyniosły dla komórek HaCat oraz HT-29 odpowiednio 850 i 2500 μ M (SeP) oraz 2250 i 4000 μ M (SP). SeP oraz SP w dawkach cytotoksycznych powodowały zahamowanie ekspresji mRNA oraz zmniejszenie ilości białka β -kateniny w komórkach HaCat. Podobny efekt na poziomie białka zaobserwowano w komórkach HT-29, gdzie spadek β -kateniny wywołany SeP połączony był dodatkowo ze wzrostem jej fosforylacji. Ponadto, SeP w linii HaCat i HT-29 indukowała hamowanie ekspresji protoonkogenu c-Myc oraz wzrost ekspresji białka pro-apoptotycznego Bax. SP hamowała ekspresję c-Myc wyłącznie w komórkach HT-29. Wpływ SP na regulację apoptozy jest niejednoznaczny i wymaga dalszych badań.

Wydaje się, że związki organiczne zawierające selen, poprzez oddziaływanie na układ Wnt/ β -katenina i apoptozę, hamują przeżywalność komórek. Zastąpienie atomu selenu atomem siarki powoduje obniżenie skuteczności cytotoksycznej, wskazując, że obecność selenu, a nie siarki, odpowiedzialna jest za hamowanie wzrostu komórek. Niestety, ewentualne zastosowanie terapeutyczne badanych związków selenu jest wątpliwe z uwagi na konieczność użycia bardzo wysokich stężeń.

JOANNA KOSAŁKA, KATARZYNA WAWRZYCKA-ADAMCZYK,
ANNA WŁUDARCZYK, BOGDAN JAKIEŁA, JACEK MUSIAŁ

EKSPANSJA LIMFOCYTÓW T EFFECTOR MEMORY 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: Toczeń rumieniowaty układowy (SLE) charakteryzuje się obecnością przeciwciał przeciwjądrowych oraz nieprawidłową funkcją limfocytów T.

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

Metody: U 34 pacjentów z SLE z zajęciem nerek (16 z zaostrzeniem nerkowym, 18 w remisji) oraz 23 zdrowych osób oceniono przy pomocy cytometrii przepływowej ekspresję antygenów CD4, CD8, CCR7, CD45RA oraz ekspresję receptorów chemokinowych na powierzchni tych komórek: CXCR3, CCR4, CCR6 i CCR10. Powyższe dane zestawiono z danymi klinicznymi i laboratoryjnymi.

Wyniki: U pacjentów z SLE (z zaostrzeniem i w remisji) stwierdzono zmniejszony odsetek dziewiczych limfocytów T CD4⁺ (CD45RA+CCR7⁺) (mediana: 33,5% i 36,8%) w porównaniu do grupy kontrolnej (mediana: 48,1%; $p<0,05$) oraz zwiększony odsetek limfocytów T EM CD4⁺ (CD45RA-CCR7⁻) (odpowiednio mediana: 33,7% i 29% vs 14,55%; $p<0,05$). U pacjentów z remisją SLE stwierdzono zwiększony odsetek limfocytów T CD4⁺ CXCR3-CCR4+CCR6+CCR10⁻ (odpowiadające limfocytom Th17, 9,043% vs 5,734%). Ponadto zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy odsetkiem limfocytów T EM CD4⁺ a czasem trwania choroby ($r=0,3644$, $p<0,05$) oraz dodatnią korelację pomiędzy odsetkiem limfocytów CXCR3-CCR4+CCR6+CCR10-CD4⁺ a kumulacyjną dawką cyklofosfamid (r=0,4854, $p<0,05$).

Wnioski: Powyższe wyniki sugerują, iż u chorych na SLE (niezależnie od aktywności choroby) dochodzi do zmniejszenia odsetka dziewiczych limfocytów T CD4⁺ oraz zwiększenia odsetka limfocytów T EM CD4⁺, z czego istotną pulę stanowią limfocyty Th17. Stwierdzono związek między wzrostem odsetka limfocytów T EM CD4⁺ a czasem trwania choroby.

ALEKSANDRA KOWALCZUK, MICHAŁ WYSOCKI, ANNA MYDŁOWSKA,
PAWEŁ LIS, SONIA OSADNIK, KAMILA MIGACZ

WPŁYW LAPAROSKOPOWYCH ZABIEGÓW BARIATRYCZNYCH NA CZYNNIKI RYZYKA CHORÓB SERCOWO-NACZYNIOWYCH WŚRÓD PACJENTÓW Z OTYŁOŚCIĄ OLBRZYMIA

AFILIACJA: Koło Naukowe II Katedry Chirurgii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Otyłość olbrzymia jest chorobą dotykającą coraz większy odsetek społeczeństwa na całym świecie i została powiązana z podwyższonym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych (ChSN). Chirurgia bariatryczna pozostaje najbardziej efektywną metodą leczenia otyłości olbrzymiej i chorób towarzyszących. Skale SCORE i Framingham są powszechnie używane do oceny ryzyka rozwoju tych chorób. Ostatnie doniesienia sugerują, że zwiększona średnia objętość płytki (MPV) może również być związana z wyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym.

Cel: Celem naszej pracy było zbadanie wpływu zabiegów laparoskopowej chirurgii bariatrycznej na czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych.

Materiały i metodologia: Badano 35 pacjentów (wiek 42 ± 11 , BMI $47,06 \pm 6,03$ kg/m²), którzy przeszli laparoskopową operację bariatryczną (rękawową resekcję żołądka – LSG lub wyłączenie żołądkowo-jelitowe – LRYGB) w okresie między grudniem 2010 a grudniem 2014 roku. Ryzyko rozwoju ChSN przed operacją było oceniane za pomocą skali SCORE i Framingham i porównane z wynikami obliczonymi rok po operacji. To samo porównanie zostało wykonane dla wartości MPV.

Wyniki: Średni % EBMIL wyniósł $63\% \pm 20\%$ ($60,3\% \pm 19\%$ dla LRYGB; $65,5\% \pm 21\%$ dla LSG). Poprawa ryzyka w ocenie skali SCORE była zaobserwowana u 28% pacjentów. Framingham w modelu lipidowym wykazał istotną poprawę ryzyka rok po operacji (LRYB, $p=0,00098$; LSG, $p=0,00029$), podobnie jak Framingham w modelu BMI (LRYB, $p=0,00029$; LSD, $p=0,00029$). Zmiany wartości MPV okazały się nieistotne statystycznie.

Wnioski: Badanie pokazało, że obie metody, zarówno rękawowa resekcja żołądka, jak i wyłączenie żołądkowo-jelitowe, prowadziły do znacznego, porównywalnego spadku masy ciała i znacząco obniżyły ryzyko rozwoju ChSN na podstawie oceny skali SCORE i Framingham.

ANITA KRÓL*, MACIEJ POLAK**, KLAUDIA GLEB*

DŁUGOŚĆ MIĘŚNI ZGINACZY STAWU BIODROWEGO W POZYCJI ODCIĄŻENIA A AKTYWNE USTAWIENIE STAWU W POZYCJI FUNKCJONALNEJ WŚRÓD OSÓB MŁODYCH

AFILIACJA: * Zakład Ergonomii i Fizjologii Wysiłku Fizycznego, Instytut Fizjoterapii, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Epidemiologii i Badań Populacyjnych, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Ocena zakresu ruchu w stawach biodrowych jest ważna, szczególnie wśród osób z bólem dolnego odcinka kręgosłupa (LBP – *low back pain*), ponieważ ruch w stawach biodrowych przez wpływ na pozycję miednicy wpływa na ustawienie i ruchomość kręgosłupa lędźwiowego.

Celem badania jest określenie zależności między aktywnym ustawieniem stawu biodrowego w pozycji klęczącej a pochyleniem miednicy i LBP, a także określenie korelacji między testem oceniającym wyprost w stawie biodrowym wykonanym w pozycji odciążenia a aktywnym ustawieniem tego stawu w pozycji funkcjonalnej.

Materiał i metody: Badaniem objęto grupę 60 kobiet w wieku 20–26 lat. W celu oceny długości mięśni zginaczy stawu biodrowego wykonano test Jandy, aktywne ustawienie stawu biodrowego (AHP – *active hip position*) oceniono w pozycji klęczącej. Pochylenie miednicy mierzono za pomocą inklinometru (OPIW), a dolegliwości bólowe kręgosłupa oceniono za pomocą kwestionariusza. Analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą programu SPSS (IBM, Armonk, NY).

Wyniki: Wykazano istotną różnicę w wartości średniej długości mięśnia biodrowo-lędźwiowego po stronie prawej w kategoriach AHP (pozytywny AHP $28,10 \pm 6,870$, negatywny AHP $24,40 \pm 5,35$, $p < 0,05$). Nie wykazano istotnej różnicy w wartości średniej przodopochylenia miednicy w pozycji stojącej w kategoriach AHP ($p = 0,7$), natomiast wykazano różnicę w wartości średniej przodopochylenia w pozycji klęczącej ($p = 0,001$). Istnieje zależność między AHP a LBP ($p = 0,04$).

Wnioski: Istnieje odwrotna zależność między testem oceniającym wyprost w stawie biodrowym wykonanym w pozycji izolowanej a aktywnym ustawieniem tego stawu w pozycji funkcjonalnej.

W grupie osób z brakiem funkcjonalnego wyprostu w stawach biodrowych pochylenie miednicy zwiększa się istotnie po przejściu z pozycji stojącej do klęczącej. Osoby te częściej zgłaszają ból dolnego odcinka kręgosłupa.

SYLWIA KRZANIK*, KATARZYNA GUZIK**, KATARZYNA KUBICA**,
ALEKSANDRA TWARDA*, ŁUKASZ SKALNIAK**, TADEUSZ HOLAK**

NISKOCZĄSTECZKOWE INHIBITORY ODDZIAŁYWANIA p53-MDM2 JAKO POTENCJALNE LEKI W TERAPII ANTYNOWOTWOROWEJ

AFILIACJA: * Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Białko p53 jest czynnikiem transkrypcyjnym o właściwościach supresora nowotworzenia. Odgrywa kluczową rolę w odpowiedzi komórki na czynniki stresowe (uszkodzenie DNA, niedotlenienie, nieprawidłowe sygnały proliferacyjne) poprzez zahamowanie cyklu komórkowego, a w przypadku nieodwracalnych uszkodzeń poprzez indukcję apoptozy. W prawidłowych komórkach poziom ekspresji białka p53 jest stosunkowo niski, a jego aktywność ściśle regulowana przez szereg białek, między innymi MDM2 oraz MDM4. Białka te wiążą się do p53, powodując jego inaktywację poprzez blokowanie interakcji z czynnikami transkrypcyjnymi, eksport do cytoplazmy oraz kierowanie na drogę proteosomalnej degradacji.

W ponad 50% nowotworów białko p53 ulega trwałej inaktywacji w wyniku mutacji punktowych w kodującym je genie *TP53*. Ponadto, w wielu typach nowotworów wykazano nadekspresję białka MDM2, prowadzącą do zahamowania aktywności funkcjonalnego białka p53. Uwolnienie białka p53 z kompleksu z MDM2 umożliwi jego stabilizację oraz przywróci w tych typach nowotworów jego prawidłowe funkcjonowanie. W licznych doniesieniach wykazano, że bardzo dobrze sprawdzają się w tej kwestii związki niskocząsteczkowe.

Celem realizowanego projektu jest opracowanie inhibitorów oddziaływania p53-MDM2. W wyniku przeprowadzenia reakcji wieloskładnikowych (MCR) otrzymano szereg nowych niskocząsteczkowych związków o rdzeniu imidazolowym. Z wykorzystaniem metody polaryzacji fluorescencji potwierdzono wiązanie ww. molekuł w kieszeni wiążącej MDM2. Przeprowadzone testy cytotoksyczności (test MTT) oraz hybrydyzacja *western blot* z użyciem ludzkich linii komórkowych, posiadających gen *TP53* typu dzikiego oraz pozbawionych ekspresji białka p53, pozwoliła na wytypowanie związków zdolnych do selektywnej aktywacji białka p53. Inhibitory te poddane zostaną dalszej optymalizacji i testom w celu określenia ich przydatności w celowanej terapii antynowotworowej.

KATARZYNA KUBICA, SYLWIA KRZANIK, BOGDAN MUSIELAK,
KATARZYNA GUZIK, ŁUKASZ SKALNIAK, KRZYSZTOF ŻAK,
GRZEGORZ DUBIN, TAD HOLAK

POSZUKIWANIE INHIBITORÓW ODDZIAŁYWANIA BIAŁEK MDM2-p53 Z ZASTOSOWANIEM SPEKTROSKOPII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO

AFILIACJA: Wydział Chemii, Zakład Chemii Organicznej, Uniwersytet Jagielloński

Kompleksy białkowe biorą udział w niemal każdym procesie komórkowym. Białko p53, tak zwany strażnik genomu, pełni niezwykle istotną rolę w procesie ochrony organizmu przed nowotworem. Jest ono czynnikiem transkrypcyjnym decydującym o losie komórki w przypadku uszkodzenia jej DNA. Może działać poprzez blokowanie cyklu komórkowego w celu dokonania naprawy genomu lub spowodować naturalną śmierć komórki – apoptozę. Funkcjonowanie białka p53 może zostać zahamowane poprzez wytworzenie kompleksu z białkiem MDM2, będącym jego negatywnym regulatorem.

Nowoczesne przeciwnowotworowe strategie terapeutyczne opierają się zatem na zastosowaniu małowcząsteczkowych inhibitorów oddziaływania p53-MDM2, które wiążąc się z białkiem MDM2, powodują uwolnienie p53, a co za tym idzie jego ponowną aktywację.

Podjęte badania opierają się na projektowaniu i syntezie małowcząsteczkowych inhibitorów białka MDM2. Oddziaływanie pomiędzy nowo otrzymanymi związkami a kompleksami białkowymi badane jest z zastosowaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR). W tym celu rejestrowane są dwuwymiarowe widma HSQC N15- znakowanego białka MDM2. Na podstawie zmiany przesunięć chemicznych sygnałów wyznacza się stałą wiązania pomiędzy inhibitorem a białkiem MDM2. Dodatkowo przeprowadzany jest test kompetencyjny AIDA-NMR (ang. for Antagonist Induced Disociation Assay – NMR), który na podstawie pomiarów widm ¹H NMR kompleksu MDM2-p53 pozwala na stwierdzenie, czy małowcząsteczkowy związek wypiera białko p53 z kompleksu białkowego. Tak wyselekcjonowane inhibitory stają się potencjalnymi lekami i zostają poddane dalszym testom aktywności.

PAULINA KUBOWICZ-KWAŚNY, ELŻBIETA PĘKAŁA

MODELOWANIE METODAMI *IN VITRO* METABOLIZMU WYSELEKCJONOWANYCH ZWIĄZKÓW O ZDEFINIOWANEJ AKTYWNOŚCI W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM

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

Badania biotransformacji są ważnym etapem badań przedklinicznych. Na ich podstawie zostają określone: szlaki metaboliczne, metabolity, okres półtrwania, izoenzymy cytochromu P450 zaangażowane w metabolizm, potencjalne interakcje lekowe.

Analizy te przeprowadzane są dla substancji, które mogą stać się lekami. Są również wykorzystane jako wskazówki dla chemików dotyczące dalszych modyfikacji cząsteczek, tak aby ich stabilność była jak najwyższa. Stosowane dotychczas modele opierały się na wykorzystaniu zwierząt laboratoryjnych i charakteryzowały się szeregiem wad i czynników limitujących (koszty hodowli, konieczność dysponowania zwierzętarnią oraz znaczną liczbą personelu). Z tych powodów od kilku lat światowe badania kierują się w stronę poszukiwania nowych metod – mniej kosztownych, szybszych i bardziej etycznych, gdyż wykorzystujących modele *in vitro* oraz *in silico* – tzw. metod alternatywnych.

W ramach niniejszej pracy opracowane zostały metody alternatywne pozwalające na szybki, tani i etycznie akceptowalny *screening* cząsteczek w celu wybrania tych o najbardziej pożądanym cechach metabolicznych.

Analiza biotransformacji przeprowadzona została z wykorzystaniem programów komputerowych, mikroorganizmów oraz frakcji wątrobowych myszy szczurów i człowieka.

Dla przebadanych trzech grup związków o udokumentowanej aktywności w OUN udało się ustalić, wykorzystując jedynie metody alternatywne, kierunek biotransformacji, stabilność metaboliczną, izoformy CYP odpowiedzialne za biotransformację oraz miejsce ataku enzymatycznego. Spośród zaproponowanych modeli badania metabolizmu trudno wybrać jeden i stosować go jako złoty standard. Jedynie kombinacja zalet każdej z przedstawionych metod umożliwia najpełniejszą odpowiedź na pytanie o kierunki biotransformacji cząsteczki, która w przyszłości ma szansę stać się lekiem. Niemniej jednak udało się wykazać, iż przedstawione metody są cennym, uniwersalnym, szybkim i tanim sposobem na *screening* cząsteczek w poszukiwaniu tych o największych predyspozycjach do zostania lekiem.

KATARZYNA KUCWAJ-BRYSZ*, AGNIESZKA JANKOWSKA*,
KATARZYNA KOWAL*, GRZEGORZ SATAŁA**, ANDRZEJ J. BOJARSKI**,
JADWIGA HANDZLIK*, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

WPŁYW MODYFIKACJI W POZYCJI 5 HYDANTOINY NA AKTYWNOŚĆ I SELEKTYWNOŚĆ POTENCJALNYCH LIGANDÓW RECEPTORA SEROTONINOWEGO 5-HT₇

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

Receptor 5-HT₇ został odkryty w 1993 roku jako ostatni z grupy receptorów serotoninowych. Jego ekspresję w ośrodkowym układzie nerwowym powiązano z rolą w procesach uczenia się i zapamiętywania, termoregulacji, regulacji cyklu dobowego. Badania na modelach zwierzęcych wykazały, że blokowanie receptora 5-HT₇ indukuje mechanizmy przeciwdepresyjne. Natomiast udowodnienie jego obecności w mięśniach gładkich układu pokarmowego doprowadziło do rozważań na temat leczenia zespołu jelita drażliwego. Ponadto, ostatnie doniesienia literaturowe wskazują, że poszukiwanie selektywnych ligandów receptora 5-HT₇ może mieć istotne znaczenie w łagodzeniu objawów zespołu łamliwego chromosomu X.

Badania prowadzone w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych doprowadziły do syntezy pierwszego selektywnego liganda receptora serotoninowego 5-HT₇ spośród pochodnych 5-(4-fluorofenylo)-5-metylohydantoiny, związku MF-8, który wykazywał wysokie powinowactwo do wspomnianego receptora ($K_i=3\text{nM}$) oraz znaczącą selektywność wobec receptorów konkurencyjnych (40-krotną wobec serotoninowego 5-HT_{1A}, 240-krotną dla dopaminowego D₂ oraz 60-krotną dla adrenergicznego α_1).

Celem pracy jest synteza analogów struktury wiodącej, w których atom fluoru w pierścieniu fenylowym zastąpiono między innymi atomem chloru, bromu, grupą metoksyłową oraz metylową. W ramach przeprowadzonych badań otrzymano serię 12 związków, które następnie przebadane zostaną w testach radioreceptorowych w celu określenia powinowactwa do receptora 5-HT₇ oraz receptorów konkurencyjnych. Wstępne wyniki wskazują, że przeprowadzone modyfikacje nie wpływają znacząco na zmianę powinowactwa receptora 5-HT₇, a także na selektywność względem receptora 5-HT_{1A}. Wpływają jednak na zwiększenie selektywności względem receptora dopaminowego D₂. Najkorzystniejsze wartości zostały uzyskane dla pochodnej, w której atom fluoru zastąpiono grupą metoksyłową.

KAMIL KUŚ*/**, MARIA WALCZAK*/**, EDYTA MAŚLAK*,
AGNIESZKA ZAKRZEWSKA*, LARRY K. KEEFER***, STEFAN CHŁOPICKI*/****

OCENA WPLYWU STŁUSZCZENIA WĄTROBY NA PROFIL FARMAKOKINETYCZNY DWÓCH HEPATOSELEKTYWNYCH NO-DONORÓW V-PYRRO/NO ORAZ V-PROLI/NO

AFILIACJA: * Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński;
** Zakład Farmakokinetiki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Chemical Biology Laboratory, National Cancer Institute, Frederick, Maryland, USA; **** Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

V-PYRRO/NO oraz V-PROLI/NO są hepatoselektywnymi związkami metabolizowanymi przez izoenzymy cytochromu P450 z jednoczesnym uwolnieniem tlenu azotu. Niewydolność wątroby może w znaczny sposób zmienić profil farmakokinetyczny leków, zwłaszcza tych, które eliminowane są na drodze metabolizmu wątrobowego.

Celem pracy była ocena wpływu niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (NAFLD) na parametry farmakokinetyczne oraz eliminację narządową V-PYRRO/NO i V-PROLI/NO w modelach *in vivo* oraz *ex vivo* u myszy szczepu C57BL/6J żywionych dietą wysokotłuszczową.

Wykazano wolniejszą eliminację V-PYRRO/NO u myszy z NAFLD w porównaniu do myszy kontrolnych. Stłuszczenie wątroby i otyłość zwierząt była przyczyną znacznego zmniejszenia objętości dystrybucji V-PYRRO/NO. Przeciwnie w przypadku V-PROLI/NO – zaobserwowano szybszą eliminację tego związku oraz zwiększenie objętości dystrybucji u myszy z NAFLD w porównaniu do myszy kontrolnych.

Współczynnik ekstrakcji wątrobowej V-PYRRO/NO u myszy z NAFLD był wyższy (0,48) niż u zwierząt kontrolnych (0,3), jednakże klirens wątrobowy V-PYRRO/NO po znormalizowaniu na masę ciała myszy (0,034 L/min/kg) był niższy w porównaniu do myszy kontrolnych (0,058 L/min/kg). W przypadku V-PROLI/NO stłuszczenie wątroby nie miało wpływu na eliminację wątrobową, ponieważ pochodna ta eliminowana jest w znacznym stopniu przez nerki (około 81%), natomiast V-PYRRO/NO zarówno u myszy zdrowych, jak i z NAFLD był wydalany z moczem w znikomym stopniu (<0,05%).

Podsumowując, NAFLD było przyczyną wolniejszej eliminacji V-PYRRO/NO, co jest zgodne z hepatoselektywnym metabolizmem tego NO-donora. Paradok-

salny efekt stłuszczenia wątroby na objętość dystrybucji i wydalenie nerkowe V-PROLI/NO wskazuje na mechanizmy pozawątrobowe, które mogą mieć istotne znaczenie w metabolizmie leków w NAFLD.

Badania były współfinansowane przez Unię Europejską (POIG.01.01.02-00-069/09) oraz Narodowe Centrum Nauki (DEC-2013/11/N/NZ7/00749).

ANNAMARIA LUBELSKA, KATARZYNA PAWLAK, KAROLINA WITEK,
GNIEWOMIR LATACZ, JADWIGA HANDZLIK, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

WSTĘPNA OCENA BEZPIECZEŃSTWA METODAMI IN VITRO NOWYCH, SILNYCH I SELEKTYWNYCH LIGANDÓW RECEPTORA ADENOZYNOWEGO

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

Według najnowszych doniesień literaturowych związki będące ligandami receptorów adenozynowych A₁R oraz A_{2A}R mogą być nowymi kandydatami na leki stosowane w leczeniu schorzeń neurodegeneracyjnych. Przykładem mogą być obiecujące wyniki badań nad zastosowaniem antagonistów receptorów A_{2A}R w leczeniu choroby Parkinsona [1].

Parametry ADME-Tox związków biologicznie aktywnych są bardzo ważne i decydują o „zdolności do bycia lekiem” potencjalnego kandydata na lek [2]. Ponadto, dyrektywa Parlamentu Europejskiego nr 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt używanych w celach naukowych sprawiła, że metody *in vitro* alternatywne do badań na zwierzętach są obecnie bardzo pożądane.

W niniejszej pracy badano antyproliferacyjne działanie 1,3-dialkilowych pochodnych ksantyn, posiadających silne powinowactwo do receptorów adenozynowych [3], wobec linii embrionalnych komórek ludzkiej nerki HEK-293. Ponadto, aby przewidzieć potencjalne interakcje lekowe, badano wpływ tych związków na aktywność cytochromu CYP3A4. Antyproliferacyjne działanie ligandów receptora adenozynowego badano kolorymetrycznie testem EZ4U, natomiast ich wpływ na CYP3A4 poprzez analizę luminescencyjną testem CYP3A4 P450-Glo™.

Wszystkie badane związki wpływały na aktywność CYP3A4. Związek KD60 wykazał bardzo silną inhibicję CYP3A4 (IC₅₀=0,21 μM), porównywalną do silnego inhibitora CYP3A4 – ketokonazolu (IC₅₀ = 0,14 μM). Ponadto, związki KD179 i WZ7, z wartościami IC₅₀ odpowiednio 1,79 μM oraz 1,01 μM, mogą być uznane za silne inhibitory CYP3A4. Tylko jeden badany związek, KD179, wykazał antyproliferacyjne działanie wobec linii HEK-293 (IC₅₀=39,54 μM).

Praca badawcza była finansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki Nr DEC-2012/04/M/NZ4/00219.

Bibliografia:

1. Chen J. F. et al., *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2013 Apr, 12 (4), 265–286.
2. Kerns E. H., Di L., *Academic Press*, 2008.
3. Koch P., Akkari R. et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 2013 Dec 1, 21 (23), 7435-7452.

KLAUDIA LUSTYK, ELŻBIETA ŻMUDZKA

AKTYWNOŚĆ PRZECIWARYTMICZNA POCHODNYCH PIROLIDYN-2-ONU W RÓŻNYCH MODELACH ARYTMII

AFILIACJA: Zakład Wstępnych Badań Farmakologicznych, Katedry Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Arytmia jest częstą przyczyną śmierci u pacjentów z chorobami kardiologicznymi. Na rynku farmaceutycznym brak skutecznego leku antyarytmicznego, który byłby możliwy do zastosowania w różnych zaburzeniach rytmu serca. Ponadto dostępne leki przeciwaritmiczne mają liczne działania niepożądane, a w szczególności niebezpieczne dla życia pacjenta działanie proarytmiczne. Stąd też niezbędne jest kontynuowanie badań nad nowymi, innowacyjnymi lekami.

Cel: Celem badania była ocena aktywności przeciwaritmicznej pochodnych pirolidyn-2-onu o symbolach: S-61, S-73, S-75 i BM-303 w trzech modelach arytmii (indukowanej adrenaliną, chlorkiem wapnia i akonityną) u szczurów. Testowane związki we wcześniejszych badaniach wykazały wysokie powinowactwo do receptorów α_1 -adrenergicznych.

Materiały i metody: W celu określenia potencjalnej aktywności antyarytmicznej S-61, S-73, S-75 i BM-303 badano wpływ związków na zaburzenia rytmu serca indukowane adrenaliną (20 mg/kg i.v.), chlorkiem wapnia (140 mg/kg i.v.) i akonityną (25 μ g/kg i.v.) u szczura po podaniu dożylnym.

Wyniki: S-61, S-73, S-75 i BM-303 wykazały potencjalną aktywność antyarytmiczną w modelu arytmii adrenergicznej, silniejszą niż karwedilol, i zmniejszały śmiertelność indukowaną adrenaliną. Żaden z nich nie wykazał aktywności w arytmii indukowanej chlorkiem wapnia czy akonityną.

Wnioski: Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, iż S-61, S-73, S-75 i BM-303 posiadają profilaktyczną aktywność antyarytmiczną w modelu arytmii adrenergicznej, silniejszą niż karwedilol. W pełni uzasadnione jest zatem kontynuowanie badań nad przedstawionymi związkami w celu poznania ich pełnego profilu farmakologicznego oraz bezpieczeństwa stosowania przy podaniu wielokrotnym na układ sercowo-naczyniowy.

JOANNA ŁOBODA, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA

PORÓWNANIE STANU ZDROWIA JAMY USTNEJ U KOBIET CIĘŻARNYCH Z CUKRZYCĄ I NIECHORUJĄCYCH NA CUKRZYCĘ

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

Założenia: Cukrzyca jest przewlekłą ogólnoustrojową chorobą metaboliczną wynikającą z hiperglikemii, mogącą upośledzać mechanizmy odpornościowe i sprzyjającą rozwojowi zakażeń bakteryjnych. Ciąża jest stanem predysponującym do hiperglikemii i zwiększającym ryzyko wystąpienia cukrzycy i jej powikłań, do których należą, między innymi choroby przyzębia.

Cel pracy: Ocena i porównanie stanu zdrowia jamy ustnej u kobiet ciężarnych z cukrzycą typu 1, cukrzycą ciążową i grupą kontrolną kobiet ciężarnych niechorujących na cukrzycę.

Materiał i metody: Do badania włączono 35 pacjentek ciężarnych z cukrzycą ciążową, 20 z cukrzycą typu 1 i 21 niechorujących na cukrzycę. Przeprowadzono badanie stomatologiczne celem oceny stanu zdrowia jamy ustnej za pomocą wskaźników: intensywności próchnicy (PUW), zapalenia dziąseł wg Löe i Silnessa (GI), krwawienia z kieszonki dziąsłowej (SBI), głębokości kieszonek przyzębnych (PPD), aproksymalnego płytki (API). Do porównania punktacji w tych skalach względem grupy kontrolnej wykorzystano test Kruskala-Wallisa, a następnie wykonano analizę *post-hoc*.

Wyniki: Pacjentki z cukrzycą ciążową w stosunku do pacjentek bez cukrzycy charakteryzowały się wyższymi wartościami wskaźników: GI ($1,15 \pm 0,38$ vs $0,81 \pm 0,24$; $p=0,0001$), SBI ($0,55 \pm 0,19$ vs $0,47 \pm 0,11$; $p=0,006$), API ($0,63 \pm 0,19$ vs $0,45 \pm 0,14$; $p=0,002$). Pacjentki z cukrzycą typu 1 w stosunku do pacjentek bez cukrzycy charakteryzowały się wyższymi wartościami wskaźników: GI ($1,32 \pm 0,44$ vs $0,81 \pm 0,24$; $p=0,0001$), SBI ($0,66 \pm 0,2$ vs $0,47 \pm 0,11$; $p=0,006$), API ($0,67 \pm 0,26$ vs $0,45 \pm 0,14$; $p=0,002$). Pozostałe parametry były na podobnym poziomie w porównaniu z grupą kontrolną.

Wnioski: U pacjentek z cukrzycą ciążową oraz cukrzycą typu 1 towarzyszącą ciąży zaobserwowano gorszy stan zdrowia przyzębia niż u pacjentek w ciąży bez cukrzycy.

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

WPLYW NADTLENKU WODORU NA PRODUKCJE BIOFILMU PRZEZ SZCZEPY *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

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

Powstanie biofilmu bakteryjnego w patogenezie niektórych zakażeń decyduje o znacznej komplikacji procesu leczenia. Brak możliwości penetracji antybiotyków czy środków septycznych w głąb biofilmu w znacznym stopniu uniemożliwia skuteczne leczenie wielu zakażeń. Dodatkowo u pacjentów z cukrzycą podwyższony poziom glukozy we krwi, jony żelaza oraz nadtlenek wodoru mogą bezpośrednio wpływać na wzrost populacji pałeczek ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*). Uwalniany nadtlenek wodoru może z dużą łatwością nie tylko przemieszczać się w głąb komórek gospodarza, ale również przenikać do złożonej struktury biofilmu.

Celem badań było uzyskanie odpowiedzi na pytanie, jaką rolę pełni nadtlenek wodoru w biofilmie bakteryjnym – związku regulującego liczebność populacji bakterii, czy może również przekazywać informacji w głąb biofilmu.

Szczepy bakterii z rodzaju *Pseudomonas aeruginosa* zostały wyizolowane od pacjentów leczonych z powodu zespołu stopy cukrzycowej. Metody badawcze obejmowały analizę wpływu nadtlenku wodoru na tempo tworzenia biofilmu przez *P.aeruginosa* przy wykorzystaniu 96-dołkowych płytek z powierzchnią adherencyjną (Greiner Bio-One, USA). Liczebność bakterii określono z wykorzystaniem metody rozcieńczeń 10-krotnych.

Przeprowadzone badania wykazały, że nadtlenek wodoru może w istotny sposób modyfikować ilość produkowanego biofilmu. Po 24 h hodowli zaobserwowano istotną różnicę statystyczną pomiędzy podłożem TSB oraz TSB wzbogaconym w nadtlenek wodoru. Ponadto badania wykazały brak wpływu nadtlenku wodoru na liczebność bakterii *P.aeruginosa* w biofilmie. Dla wszystkich badanych szczepów liczba bakterii utrzymywała się przez cały czas trwania doświadczenia na poziomie 8–9 logarytmu.

Poznanie wpływu nadtlenku wodoru pozwoli na przewidywanie z większą precyzją kolejności zdarzeń zachodzących w przewlekłych ranach cukrzycowych, co w przyszłości pozwoli na podjęcie prób skutecznej walki z intensywnością wytwarzanego biofilmu przez szczepy *Pseudomonas aeruginosa*.

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

WPLYW LECZENIA STOMATOPATII PROTETYCZNEJ NA AKTYWACJĘ LIMFOCYTÓW T I SUBPOPULACJE MONOCYTÓW

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

Przewlekłe stany zapalne w organizmie mogą się przyczyniać, poprzez aktywację układu immunologicznego, do rozwoju szeregu chorób systemowych. Powstaje pytanie, czy zależność ta jest prawdziwa również dla przewlekłych chorób zapalnych jamy ustnej. Celem badania było określenie, czy stomatopatia protetyczna (DRS) prowadzi do aktywacji komórek układu immunologicznego oraz czy leczenie miejscowego zapalenia błony śluzowej jamy ustnej związanego z infekcją grzybiczą prowadzi do unormowania aktywności układu immunologicznego. Od pacjentów ze zdiagnozowanym DRS i potwierdzoną obecnością *Candida albicans* (n=15) pobierano krew obwodową podczas trzech wizyt: przed rozpoczęciem miejscowego leczenia nystatyną, niezwłocznie po i 2 miesiące po zakończeniu terapii. Stopień aktywacji komórek immunologicznych oceniano metodą cytometrii przepływowej. Zaobserwowano, że odsetek limfocytów krwi obwodowej, limfocytów T i ich subpopulacji CD4+ i CD8+, a także monocytów był podobny podczas kolejnych wizyt pacjentów. Odsetki komórek z ekspresją receptora chemokiny RANTES typu 5, jak również w limfocytach CD8+ markera wczesnej aktywacji znacząco wzrosły bezpośrednio po leczeniu, a po dwóch miesiącach od jego zakończenia powróciły do poziomu wyjściowego. Odsetki limfocytów CD4+ centralnych pamięci i populacji monocytów klasycznych (CD14highCD16-) były niższe po zakończeniu leczenia i efekt ten utrzymywał się przez dwa miesiące. Przeciwną zależność zaobserwowano dla odsetka monocytów pośrednich (CD14highCD16+). Obecność infekcji grzybiczej pod płytą protezy oraz leczenie DRS wydaje się nie mieć wpływu na ogólny stan komórkowej odpowiedzi układu odpornościowego. Jednak możliwe jest, iż nawet subtelny efekt zapalenia błony śluzowej pod płytą protezy może mieć znaczenie kliniczne ze względu na powiązania pomiędzy stanem zapalnym a ryzykiem poważnych chorób. W celu wyjaśnienia tych zależności konieczne są dalsze badania.

KATARZYNA MACIKOWSKA

STATUS MIKROBIOLOGICZNY JAMY USTNEJ U KOBIET O RÓŻNYM PROFILU HORMONÓW PŁCIOWYCH

AFILIACJA: Zakład Stomatologii Zintegrowanej, Instytut Stomatologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Kształtowanie stanu mikrobiologicznego jamy ustnej zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym odbywa się pod wpływem wielu czynników, a jednym z nich są zmiany w poziomie hormonów.

Cel pracy: Ocena stanu klinicznego i mikrobiologicznego jamy ustnej u kobiet o różnym profilu endokrynologicznym oraz wykazanie ewentualnej korelacji pomiędzy zmianami hormonalnymi zachodzącymi w ustroju, a stwierdzaną u tychże pacjentek wzmożoną kolonizacją jamy ustnej przez patogenne drobnoustroje, odpowiedzialne za rozwój stanów zapalnych dziąseł i przyzębia.

Materiał i metody: W badaniu wzięło udział 120 pacjentek, w wieku od 18 do 65 lat. Wykorzystując badanie podmiotowe, kobiety zakwalifikowano do grup różniących się statusem hormonalnym: grupa I – pacjentki zdrowe w wieku rozrodczym, grupa II – kobiety w wieku pomenopauzalnym (nieprzyjmujące HTZ), grupa III – pacjentki stosujące antykoncepcję hormonalną, grupa IV – kobiety ciężarne. Następnie przeprowadzono szczegółowe badanie zewnątrz- i wewnątrz-ustne. Ponadto pobrano wymazy do badania mikrobiologicznego z błony śluzowej policzka oraz kieszonki dziąsłowej.

Wyniki: Wśród pacjentek z grupy pierwszej nie stwierdzono kolonizacji błony śluzowej jamy ustnej przez drobnoustroje przekraczającej fizjologiczne normy. U badanych kobiet ciężarnych w 72% w materiale uzyskanym z wymazów ze śluzówki jamy ustnej wykazano podwyższony poziom *Prevotella intermedia*, w około 3/4 przypadków korelujący z obecnością *gingivitis*. Natomiast u pacjentek z wdrożoną antykoncepcją hormonalną zauważono przede wszystkim znaczący wzrost grzybów, w szczególności *Candida albicans*.

Wnioski: Zmiany w poziomie hormonów płciowych wpływają na skład mikroflory jamy ustnej, o czym świadczy między innymi częstsza manifestacja stanów zapalnych dziąseł u pacjentek w okresie ciąży.

KATARZYNA MAGIEROWSKA, MARCIN MAGIEROWSKI, DAGMARA WÓJCIK,
SŁAWOMIR KWIECIEŃ, TOMASZ BRZOZOWSKI

MECHANIZMY KOMÓRKOWE W GASTROPROTEKCYJNYM DZIAŁANIU TLENKU WĘGLA W OSTRYCH MODELACH USZKODZEŃ BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA

AFILIACJA: Katedra Fizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Tlenek węgla (CO) jest endogennym gazomediatozem o wielokierunkowej aktywności biologicznej. Przypuszcza się, że CO wykazując właściwości ochronne względem ostrych uszkodzeń błony śluzowej żołądka, stanowi integralną część fizjologicznej bariery górnego odcinka przewodu pokarmowego. Mechanizm gastroprotekcijnego działania endogennego CO oraz uwalnianego ze związku CORM-2, a także wpływ tej molekuly na oksygenazę hemową-1 (HO-1), główny enzym odpowiedzialny za jego produkcję, pozostaje przedmiotem badań.

Cel badań: Zbadanie działania gastroprotekcijnego CO względem błony śluzowej żołądka poddanej ostrym uszkodzeniom wywołanym aplikacją 75% etanolu lub aspiryny, a także określenie zmian w ekspresji HO-1, czynnika transkrypcyjnego Nrf2, cyklooksygenazy 2 (COX-2) oraz cytokin pro- (IL-1 β) i przeciwzapalnych (IL-4) w biopsjach uszkodzonej błony śluzowej żołądka.

Metodyka: Badania przeprowadzono na szczurach rasy Wistar. Poszczególnym grupom zwierząt podano dożołądkowo CORM-2 (5 mg/kg). Uszkodzenia błony śluzowej żołądka zostały wywołane przez dożołądkową aplikację 75% etanolu (1 ml) lub wysokich dawek aspiryny (125 mg/kg). Metodą planimetryczną dokonano pomiaru powierzchni uszkodzeń. W celu oznaczenia zmian w ekspresji HO-1, Nrf2, COX-2, IL-1 β i IL-4 na poziomie mRNA oraz białek metodą qPCR i Western Blot pobrano biopsje błony śluzowej żołądka.

Wyniki: Zaobserwowano, że CORM-2 istotnie statystycznie ($p < 0.05$) zredukował powierzchnię uszkodzeń wywołanych etanolem i aspiryną, zwiększając ekspresję HO-1, Nrf2 i IL-4 oraz obniżając poziom IL-1 β i COX-2 w błonie śluzowej żołądka w stosunku do grupy kontrolnej, która otrzymała sól fizjologiczną.

Wnioski: CO, działając poprzez czynnik transkrypcyjny Nrf2, zwiększa ekspresję HO-1 w błonie śluzowej żołądka poddanej ostrym uszkodzeniom. Działanie przeciwzapalne CO manifestuje się na drodze wzrostu generowania cytokin przeciwzapalnych, jednoczesnego zmniejszenia produkcji cytokin prozapalnych oraz zmniejszania ekspresji COX-2.

MARCIN MAGIEROWSKI, KATARZYNA MAGIEROWSKA, ZBIGNIEW ŚLIWOWSKI,
SŁAWOMIR KWIECIEŃ, TOMASZ BRZOZOWSKI

INTERAKCJA POMIĘDZY ENDOGENNYM SIARKOWODOREM (H₂S) ORAZ TLENKIEM WĘGLA (CO) W PATOFIZJOLOGII GÓRNEGO ODCINKA PRZEWODU POKARMOWEGO

AFILIACJA: Katedra Fizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Siarkowodór (H₂S) oraz tlenek węgla (CO) są endogennymi gazowymi mediatorami, biorącymi udział w regulacji wielu procesów fizjologicznych zachodzących w organizmie. Gazomediatory te stanowią część bariery ochronnej błony śluzowej żołądka. Wzajemna interakcja pomiędzy CO i H₂S, zwłaszcza w obrębie układu pokarmowego, pozostaje nieznana.

Celem badań było wykazanie udziału CO oraz H₂S w gastroprotekcji błony śluzowej żołądka poddanej uszkodzeniom wrzodowym indukowanym aspiryną (ASA, 125 mg/kg i.g.) oraz określenie wzajemnego wpływu CO uwalnianego z CORM-2 oraz H₂S uwalnianego z NaHS na aktywność oraz ekspresję enzymów szlaku biosyntezy tych mediatorów.

Badania wykonano na szczurach rasy Wistar. Zwierzęta podzielono na grupy eksperymentalne, którym 30 minut przed aplikacją ASA podano CORM-2 (5 mg/kg i.g.) lub NaHS (5 mg/kg i.g.) w kombinacji lub bez z ZnPP (5 mg/kg i.g.), inhibitorem aktywności oksygenazy hemowej-1 (HO-1), biorącej udział w biosyntezie endogennego CO, oraz PAG (30 mg/kg i.g.), inhibitorem głównego enzymu szlaku biosyntezy endogennego H₂S, gamma-liazy cystationiny (CSE). 1 h po aplikacji ASA zmierzono powierzchnię uszkodzeń metodą planimetryczną. Oznaczenia biochemiczne i molekularne (Western blot) wykonano w pobranych biopsjach błony śluzowej żołądka.

CORM-2 oraz NaHS istotnie ($p < 0,05$) zredukowały powierzchnię wywołanych uszkodzeń. ZnPP odwrócił gastroprotektoryjne działanie NaHS, ale PAG nie zahamował ochronnego efektu CORM-2. Ekspresja HO-1 została znacznie zmniejszona w grupach otrzymujących NaHS. CORM-2 istotnie obniżył aktywność oraz ekspresję CSE, zwiększając poziom HO-1 w błonie śluzowej.

CO i H₂S pełnią funkcję ochronną w obrębie przewodu pokarmowego. Gastroprotektoryjne działanie CO uwalnianego z CORM-2 jest niezależne od biosyntezy endogennego H₂S, jednak H₂S uwalniany z NaHS wymaga niezaburzonej produkcji endogennego CO w celu utrzymania integralności błony śluzowej żołądka poddanej uszkodzeniom aspirynowym.

MARTA MAJORCZYK, MAGDALENA BARAN

WPLYW LECZENIA BIOLOGICZNEGO NA SKUTECZNOŚĆ REHABILITACJI PACJENTÓW Z ZESZTYWNIAJĄCYM ZAPALENIEM STAWÓW KRĘGOSŁUPA. PRZEGLĄD BADAŃ KLINICZNYCH

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

Wstęp: Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK) jest przewlekłą chorobą zapalną, która przyczynia się do upośledzenia funkcji. Nasilające się objawy prowadzą do postępującej niepełnosprawności. Wpływ sposobu leczenia chorych z ZZSK na przebieg rehabilitacji stanowi wciąż niedoceniany problem kliniczny.

Cel: Analiza badań klinicznych, dotyczących wpływu leczenia biologicznego u pacjentów z ZZSK na przebieg i skuteczność rehabilitacji pacjentów.

Metody badawcze: Dokonano przeglądu baz: MEDLINE, EMBASE i Web of Science. Zebrano najnowsze badania prospektywne dotyczące leczenia biologicznego stosowanego w ZZSK oraz znaczenia tego typu leczenia dla skuteczności procesu rehabilitacji.

Wyniki: Liczne badania wskazują na statystycznie istotną poprawę wskaźnika Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), co ma bezpośrednie przełożenie na stan funkcjonalny. Leczenie biologiczne (LB) przyczynia się do większej skuteczności rehabilitacji poprzez znaczącą poprawę testów ruchomości kręgosłupa i klatki piersiowej w porównaniu do grupy leczonej tradycyjnie. Zmniejszeniu ulega stopień dolegliwości bólowych. LB znacząco poprawia stan psychofizyczny, co przekłada się na proces rehabilitacji.

Wnioski: Pacjenci z ZZSK leczeni lekami biologicznymi mają lepsze rezultaty w procesie rehabilitacji niż pacjenci leczeni tradycyjnie. Stan funkcjonalny pacjentów leczonych biologicznie jest znacząco lepszy niż pacjentów bez tego leczenia.

KATARZYNA MALAWSKA, ANNA JAKUBOWSKA, BEATA GRYZŁO

ASYMETRYCZNA SYNTEZA α -AMINOKWASÓW Z WYKORZYSTANIEM ROZPUSSZCZALNYCH POLIMERÓW

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

Synteza pochodnych aminokwasów stanowi obecnie ważną dziedzinę chemii medycznej. Poszukiwane są coraz to nowsze i doskonalsze metody modyfikowania już istniejących aminokwasów oraz otrzymywania nowych związków. Uzyskane w ten sposób struktury o zmienionych właściwościach są używane między innymi w syntezie peptydów. Dzięki ich zastosowaniu można wydłużyć okres działania leku o budowie peptydowej lub spotęgować jego aktywność w stosunku do naturalnego odpowiednika.

Celem pracy było stworzenie nowej metody syntezy pochodnych aminokwasów w oparciu o równoważnik glicyny, będący pochodną kwasu 2-(difenylometylenoamino)octowego. W badaniach wykorzystano zalety syntezy na bazie rozpuszczalnych polimerów w syntezie asymetrycznej z użyciem chiralnego katalizatora. Przeprowadzono trójetapową syntezę estrów kwasu 2-(difenylometylenoamino)octowego, stanowiącego popularny równoważnik glicyny i glikolu polietylenowego o średniej masie cząsteczkowej 2000 lub 3350 (PEG-2000 i PEG-3350), wykorzystywanego w syntezie jako rozpuszczalny polimer. Estry te były następnie modyfikowane w reakcji addycji akceptorów Michaela do równoważnika glicyny w obecności enancjomerów chiralnego katalizatora pochodnej 2,3-bis(dialkiloamino)cyklopropeniminy. W tych reakcjach katalizator pełnił rolę zasady Brønsteda.

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano następujące akceptory Michaela: akrylonitryl, benzylidenoacetofenon, akrylan etylu, metylowinyloketon, akrylan *tert*-butylu. Zsyntetyzowano dwie serie pochodnych glicyny zaczepionych na glikolu polietylenowym PEG-2000 i PEG-3350. Do kontroli przebiegu reakcji alkilacji oraz potwierdzenia struktur wykorzystano spektroskopię ^1H NMR. Pochodne glicyny uzyskano z dobrą wydajnością (70–90%), a ich izolację ze środowiska reakcyjnego ułatwiało zaczepienie na rozpuszczalnym polimerze.

W toku badań opracowano interesującą i wygodną metodę syntezy pochodnych glicyny. Uzyskane związki mogą być w kolejnych etapach poddane hydrolizie celem otrzymania wolnych aminokwasów.

Praca była finansowana przez Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w ramach dotacji na utrzymanie potencjału badawczego K/ZDS/004653.

KATARZYNA MALEK-ZIĘTEK, MARTA TARGOSZ-KORECKA, MAREK SZYMONSKI

ROLA GLIKOKALIKSU W PROCESIE PRZERZUTOWANIA NOWOTWORÓW

AFILIACJA: NANOSAM, Zakład Fizyki Nanostruktur i Nanotechnologii, Instytut Fizyki, Uniwersytet Jagielloński

Jednym z podstawowych problemów w terapii nowotworowej jest kontrolowanie i zapobieganie tworzeniu nowych ognisk nowotworowych. W procesie przerzutowania komórek nowotworowych aktywnie uczestniczą komórki śródbłónka, wyścielające wszystkie naczynia krwionośne. Obszar kontaktu śródbłónka z przepływającą krwią pokrywa warstwa glikokaliksu, która pełni funkcje ochronne. Zmiany bądź uszkodzenia w strukturze glikokaliksu mają istotne znaczenie dla oddziaływania komórek śródbłónka z komórkami znajdującymi się we krwi, w tym z migrującymi komórkami nowotworowymi.

Celem pracy było wykazanie roli glikokaliksu w oddziaływaniu adhezyjnym między komórkami śródbłónka a komórkami nowotworowymi. Pomiary wykonano dla układu płucnych komórek śródbłónka (PHAEC) oraz komórek nowotworu złośliwego płuc (A549). Główną metodą badawczą była spektroskopia sił AFM, w której jako biosensor oddziaływań międzykomórkowych została użyta żywa komórka nowotworowa związana z dźwignią AFM. Badane komórki poddawano działaniu enzymatycznej redukcji glikokaliksu, stosując heparynazę I (jako antagonistę wykorzystano heparynę), oraz indukcji odczynu zapalnego poprzez cytokinę prozapalną TNF- α .

Jako pomiary referencyjne wykonano charakterystykę sztywności oraz grubości warstwy glikokaliksu zarówno dla PHAEC, jak i A549 metodą spektroskopii nanoindentacji ze sferyczną sondą AFM. Wykazano, iż w odczynie zapalnym następuje utrata glikokaliksu przez komórki. Następnie wykonano pomiary oddziaływań adhezyjnych komórek śródbłónka z komórką nowotworową A549 związaną z dźwignią AFM. Na podstawie wieloparametrowej analizy zmierzonych krzywych siła-odległość wykazano, iż wskutek redukcji glikokaliksu w warstwie śródbłónka następuje zwiększenie adhezji komórek nowotworowych do śródbłónka. Efekt wzrostu siły przylegania komórek nowotworowych do śródbłónka jest zwielokrotniony w odczynie zapalnym wskutek aktywacji śródbłonkowych molekuł adhezyjnych (receptorów). Przeprowadzone pomiary wykazały, iż glikokaliks odgrywa istotną rolę w kontroli przylegania komórek nowotworowych do śródbłónka naczyniowego.

KATARZYNA MAMICA, BARBARA KLICH, KRYSZYNA SZTEFKO

PORÓWNANIE STĘŻENIA CHOLESTEROLU FRAKCJI LDL (LDL-C) OZNACZONEGO METODĄ ENZYMATYCZNĄ I OSZACOWANEGO ZE WZORÓW U DZIECI Z CUKRZYCĄ TYPU I

AFILIACJA: Zakład Biochemii Klinicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

Wiarygodny pomiar stężenia LDL-C zależy w dużym stopniu od komutabilności próbek pacjenta, próbek kontrolnych i kalibratorów. Zmieniony skład matrycy surowic stwierdza się między innymi u pacjentów z cukrzycą typu I.

Cel pracy: Porównanie stężenia LDL-C oznaczonego metodą bezpośrednią LDL-C_{bezp.} u dzieci z cukrzycą typu I ze stężeniem LDL-C oszacowanym przy pomocy wzoru Friedewalda, wzoru de Cordova oraz wzoru Planelli.

Analizie poddano 59 próbek surowic dzieci (11 ± 4 lata) z cukrzycą typu I (grupa I) leczonych w USD w Krakowie oraz 40 próbek pochodzących od dzieci zdrowych (12 ± 6 lat) (grupa II). W próbkach oznaczono profil lipidowy, stężenie apoproteiny B (apoB) i hemoglobiny A_{1c} (HbA_{1c}). Stężenie LDL-C oszacowano również za pomocą wzoru Friedewalda (LDL-C_F), wzoru de Cordova (LDL-C_{MC}) oraz wzoru Planelli (LDL-C_{apoB}). Dla każdej próbki wyliczono różnicę pomiędzy LDL-C_{bezp.} a LDL-C_F (bias_F), LDL-C_{bezp.} a LDL-C_{MC} (bias_{MC}) oraz LDL-C_{bezp.} a LDL-C_{apoB} (bias_{apoB}).

W grupie I średnia wartość stężenia LDL-C_{bezp.} była istotnie statystycznie wyższa w porównaniu do średnich wartości LDL-C_F ($p < 0,001$), LDL-C_{MC} ($p < 0,001$) oraz LDL-C_{apoB} ($p < 0,002$). W grupie II średnia wartość stężenia LDL-C_{bezp.} była istotnie wyższa od średniej wartości LDL-C_{MC} ($p < 0,001$), niższa od średniej LDL-C_{apoB} ($p < 0,005$), a porównywalna z LDL-C_F. Średnie wartości bias_F, bias_{MC} oraz bias_{apoB} były istotnie statystycznie wyższe w grupie I w porównaniu do analogicznych średnich wartości w grupie II ($p < 0,001$ we wszystkich przypadkach). W grupie I stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniem HbA_{1c} a bias_F ($r = -0,342$; $p < 0,01$), bias_{MC} ($r = -0,589$; $p < 0,001$) i bias_{apoB} ($r = -0,252$; NS).

Porównywalność stężenia LDL-C_{bezp.} ze stężeniem LDL-C wyliczonym ze wzorów zależy od stężenia HbA_{1c}.

DAMIAN MARCHEWKA, ANDRZEJ JARYNOWSKI

WDRAŻANIE „SYSTEMU INFORMATYCZNEGO REDUKCJI SZPITALNYCH ZAKAŻEŃ” W POLSKICH SZPITALACH

AFILIACJA: Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Uniwersytet Jagielloński; Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy; Państwowy Uniwersytet Mołdawski w Kiszyniowie

Założenia: Informatyzacja służby zdrowia w Polsce ogranicza się głównie do obsługi księgowo-finansowej mimo ogromnych możliwości telemedycyny, czego przykładem jest nasza aplikacja. Placówki, które chcą być nazywane „bezpiecznym” czy „innowacyjnym” szpitalem, będą miały szanse wykazać to, używając naszego (darmowego) narzędzia dzięki wsparciu krajowemu (IS-2/195/NCBR/2015). Stosowanie naszego systemu kontroli zakażeń da szpitalom, obok narzędzia ułatwiającego prewencję, korzyść w postaci skutecznej obrony prawnej w przypadku zarzutów lub roszczeń finansowych ze strony pacjentów czy personelu, jeżeli dojdzie do takiego zdarzenia, czy dodatkowych punktów w kontraktowaniu z NFZ.

Cele: 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 oraz klasyfikacja jednostek do różnych grup ryzyka, czego rezultatem długoterminowym może być zmniejszenie liczby zakażeń szpitalnych.

Metody: 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 wychodzi naprzeciw zmianom społeczno-demograficzno-technologicznym, uzbrajając w nowoczesne, wspierane komputerowo narzędzia epidemiologiczne i bazując na zaawansowanym naukowo modelowaniu matematycznym. Wykorzystanie narzędzia wyeliminuje część zakażeń szpitalnych poprzez wczesną identyfikację ich źródeł oraz ścieżek.

PAWEŁ MATUSIK, BARTŁOMIEJ GUZIK, MAREK TOMALA,
BARTŁOMIEJ NAWROTEK, PIOTR STRYJEWSKI,
TOMASZ GUZIK, KRZYSZTOF ŻMUDKA

UOGÓLNIONY STAN ZAPALNY A LICZNE INTERWENCJE WIELOPOZIOMOWEJ MIAŻDŻYCY U PACJENTKI Z ZAWAŁEM SERCA Z UNIESIENIEM ODCINKA ST

AFILIACJA: Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Oddział Kliniczny Kardiologii Interwencyjnej z Pododdziałem Intensywnego Nadzoru Kardiologicznego, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II; Szpital Powiatowy, Chrzanów

Wstęp: Stan zapalny może nasilać zaawansowanie miażdżycy. Celem pracy jest przedstawienie 81-letniej pacjentki z ostrym zawałem mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST (STEMI), wielopoziomową miażdżycą oraz wywiadem licznych wcześniejszych epizodów sercowo-naczyniowych (4 zawały mięśnia sercowego oraz przejściowy epizod niedokrwienia mózgu, wynikający ze zwężenia prawej tętnicy szyjnej wewnętrznej), z cukrzycą w trakcie insulinoterapii, ciężkim nadciśnieniem tętniczym, przewlekłą chorobą nerek, zespołem Sjogrena oraz chorobą Hashimoto. Chora po wielokrotnych interwencjach sercowo-naczyniowych łącznie przebyła 4 procedury przezskórnej angioplastyki z powodu obustronnej miażdżycy tętnic kończyn dolnych, angioplastykę prawej tętnicy wieńcowej oraz 5 angioplastyk gałęzi przedniej zstępującej (LAD). Cztery miesiące wcześniej pacjentka była hospitalizowana z powodu późnej zakrzepicy w stenocie (DES), przeprowadzono aspiracyjną trombektomię oraz angioplastykę balonową. Wykonane testy agregacji płytek wykazały brak oporności na 75 mg kwasu acetylosalicylowego oraz graniczne zahamowanie agregacji płytek krwi 75 mg kłopidogrelu. Analizowany epizod STEMI ściany przedniej był związany z niemal całkowitym zamknięciem LAD w miejscu poprzednio implantowanego DES. Implantowano kolejny DES, który był związany z optymalną apozycją oraz powrotem TIMI 3. Kilka miesięcy później celem oceny wskazań do dalszej revascularyzacji przeprowadzono scyntyografię mięśnia serca, która wykazała obraz perfuzji lewej komory serca w badaniu spoczynkowym i po podaniu dipirydamolu w granicach normy oraz poprawę frakcji wyrzutowej lewej komory (wzrost EF z 45% do 60%). W badaniach laboratoryjnych stwierdzono leukocytozę (WBC $12,93 \times 10^3 / \mu\text{l}$), CRP 11,1 mg/l oraz fibrynogen 5,49 g/l, przy prawidłowym lipidogramie oraz leczeniu immunosupresyjnym.

Wnioski: Zaburzenia układu immunologicznego oraz choroby współistniejące mogą przyspieszać rozwój miażdżycy, komplikować jej przebieg oraz istotnie zwiększać rezydualne ryzyko sercowo-naczyniowe.

MAGDALENA MIJAS

STRES MNIEJSZOŚCIOWY ORAZ ZACHOWANIA ZDROWOTNE WŚRÓD OSÓB LGBT

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

Prowadzone od ponad dekady badania poświęcone zdrowiu i uwarunkowaniom zdrowia osób LGBT (lesbijki, geje, osoby biseksualne i transpłciowe) systematycznie dostarczają dowodów na znaczące rozbieżności w tym obszarze między wspomnianą grupą i generalną populacją (Lick, Durso, Johnson 2013). Osoby należące do mniejszości seksualnych częściej zapadają na depresję i zaburzenia lękowe (Cochran, Sullivan, Mays 2003), częściej używają tytoniu i wyrobów tytoniowych, częściej stosują substancje psychoaktywne oraz nadużywają alkoholu (Burgard, Cochran, Mays 2005), dotyka je również większe ryzyko ideacji i prób samobójczych (Hatzenbuehler 2011).

Poszukując wyjaśnienia opisanych zależności, badacze wskazują na doświadczenia społecznej stygmatyzacji i wykluczenia jako zasadnicze dla obniżenia psychicznego dobrostanu osób LGBT i przedstawicieli innych marginalizowanych społecznie grup mniejszościowych (Meyer 2003). Opisane uwarunkowania mają także negatywny wpływ na zdrowie fizyczne, znajdując wyraz nie tylko w obniżonych ogólnych ocenach własnego samopoczucia, ale także w zwiększonym rozpowszechnieniu nowotworów, chorób układu krążenia, astmy, cukrzycy oraz innych problemów zdrowotnych w tej populacji (Lick et al. 2013). Wskazane prawidłowości w dalszym ciągu wymagają szczegółowych badań, zwłaszcza takich, które umożliwiłyby eksplorację mechanizmów leżących u podłoża związków między doświadczeniami społecznej stygmatyzacji a psychofizycznym dobrom stanem osoby.

Celem proponowanego wystąpienia jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat obserwowanych poziomów zdrowia oraz jego wyznaczników w populacji osób LGBT, a także omówienie możliwych mechanizmów leżących u podłoża obserwowanych zależności. W podsumowaniu przedstawiony zostanie projekt badań własnych poświęconych zachowaniom zdrowotnym w populacji osób LGBT w Polsce.

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

ROLA ŻELAZA W LECZENIU RAN PRZEWLEKŁYCH WYWOŁANYCH PRZEZ BAKTERIE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

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

Powstanie biofilmu bakteryjnego znacznie utrudnia proces leczenia oraz zwykle wydłuża czas potrzebny do eradykacji zakażenia. Dlatego też ważnym zagadnieniem jest określenie warunków, które wpływają korzystnie na rozwój stanu zapalnego. W ramach zrealizowanych badań postanowiono sprawdzić rolę jonów Fe jako czynnika decydującego o ilości tworzonego biofilmu. Przewlekły proces zapalny toczący się w ranie cukrzycowej powoduje bowiem nie tylko nagromadzenie reaktywnych form tlenu, ale również pękanie drobnych naczyń krwionośnych uwalniających znaczne ilości jonów Fe, które mogą modyfikować ilościowe zmiany wytwarzanego egzopolisacharydu.

Wpływ jonów żelaza na produkcję biofilmu zbadano dla sześciu szczepów *P.aeruginosa*. W tym celu do 96-dółkowych płytek z powierzchnią adherencyjną (Greiner Bio-One, USA) dodawano 20 µl 24-godzinnej (OD=0,5 w skali McFarlanda) płynnej hodowli bakteryjnej zawieszonej w NaCl, a następnie dodawano po 180 µl badanych sterylnych pożywek: podłoże M9, podłoże M9 z jonami Fe [0,2 mM], podłoże TSB (Difco), podłoże TSB z jonami Fe [0,2 mM]. Końcowa ilość bakterii wynosiła 1×10^8 CFU/ml. Ilość produkowanego biofilmu oznaczano, stosując barwnik czerwień Kongo według zmodyfikowanej procedury Allison i wsp. (Allison i Sutherland 1984). Równocześnie z pomiarami biofilmu dokonywano pomiaru liczebności bakterii przez usuwanie biofilmu, homogenizację i rozcieńczanie w PBS w następujących odstępach czasu: 0, 4, 8 i 24 godzin. Liczbę bakterii mierzono za pomocą standardowej metody rozcieńczeń dziesięciokrotnych.

Otrzymane wyniki wykazały, że zawartość żelaza w podłożu hodowlanym może wpływać na ilość produkowanego biofilmu, jednak jest to cecha zależna od szczepu PAR. Największy wpływ jonów żelaza na przyrost biofilmu zaobserwowano dla szczepów zaliczonych do grupy o największej produkcji biofilmu, tj. PAR50 i PAR54.

Badania przeprowadzone w ramach grantów: N N 401 547040.

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

Leki dostępne bez recepty (OTC, *over the counter*) to leki wydawane bez przepisu lekarza. Podjęcie problematyki stosowania leków OTC stanowi istotny aspekt promocji zdrowia i zdrowia publicznego. Na przestrzeni lat zmieniała się koncepcja roli pacjenta w chorobie. Biomedyczny model zdrowia zakłada, że jest on biernym odbiorcą świadczeń medycznych, nie współpracuje, nie bierze udziału w terapii. Obecnie zauważa się wzrost świadomości pacjentów, spowodowany większym dostępem do wiedzy. Chcą oni mieć aktywny wpływ na swoje zdrowie i współuczestniczyć w procesie leczenia. Rozwijanie samodzielności w zapobieganiu lub łagodzeniu objawów jest korzystne ze społecznego i gospodarczego punktu widzenia. Jeśli tylko stosowane jest odpowiedzialnie, wpływa na lepsze funkcjonowanie systemu ochrony zdrowia. Zauważono, że z roku na rok zwiększa się odsetek społeczeństwa, który korzysta z leków dostępnych bez recepty. Na stosowanie leków OTC ma wpływ szereg czynników.

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

Z Departamentu Ewidencji Państwowych i Teleinformatyki w Warszawie pozyskano dane adresowe 1000 osób dorosłych zamieszkujących województwo małopolskie. Grupa ta została wybrana losowo. 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.

Zwrotność kwestionariuszy wyniosła 41,1%. Leki OTC stosowane były przez większość badanych. 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.

BEATA MRÓZEK, BARBARA KOŚCIELNIAK, PAULINA KOWALCZYK,
ANETA MANDA, PRZEMYSŁAW TOMASIK

WPLYW EKSPOZYCJI KRWI NA SILNE POLE MAGNETYCZNE NA SZYBKOŚĆ OPADANIA KRWINEK CZERWONYCH

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

Wstęp: Pola magnetyczne o dużej indukcji są coraz częściej wykorzystywane w medycynie, między innymi w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego. Badania wykazały znaczący wpływ silnych pól magnetycznych na organizmy żywe, choć przyjmuje się, że rezonans magnetyczny jest badaniem bezpiecznym. Nie wiadomo jednak, czy silne pole magnetyczne wpływa na wyniki badań laboratoryjnych. Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy poddanie próbki krwi działaniu pola magnetycznego w czasie badania rezonansem magnetycznym spowoduje zmiany w szybkości opadania krwinek czerwonych.

Materiał i metody: Pobrano w duplikatach po 1,8 ml krwi z żyły łokciowej od 5 pacjentów do próbek BD Vacutainer® ESR Tubes (Becton-Dickinson, Wielka Brytania) (buforowanych cytrynianem sodu) przeznaczonych do oznaczeń odczynu Biernackiego (OB). Próbkę badaną umieszczano przy pacjencie badanym rezonansem magnetycznym, próbki kontrolne były traktowane tak samo jak badane, tylko trzymano je w sąsiednim pomieszczeniu w czasie badania rezonansem. Szybkość opadania czerwonych ciałek krwi badano jednocześnie we wszystkich próbkach badanych i kontrolnych przy użyciu analizatora Sedi-15 (Becton-Dickinson, Wielka Brytania).

Wyniki: Nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic w szybkości opadania czerwonych ciałek krwi wyznaczonych przez analizator Sedi-15 po 1 godzinie (próbki badane średnio 3,6 mm, próbki kontrolne średnio 2,2 mm). Natomiast szybkość opadania czerwonych ciałek krwi w próbkach poddanych działaniu pola magnetycznego w rezonansie magnetycznym po dwóch godzinach była znamienne większa niż w próbkach kontrolnych (próbki badane średnio 12,0 mm, próbki kontrolne 6,5 mm; $p=0,002$; sparowany test t-Studenta).

Wnioski: Przeprowadzone badania wykazały, że ekspozycja krwi na działanie silnego pola magnetycznego w czasie badania rezonansem magnetycznym wpływa na szybkość opadania czerwonych ciałek krwi.

AGNIESZKA NALEPA*, EWA STĘPIEŃ*, BARBARA MAZIARZ**

MOŻLIWOŚCI ORAZ OGRANICZENIA TECHNOLOGII POMIARU OPORNOŚCI MIKROOBIEKTÓW (TUNABLE RESISTIVE PULSE SENSING) DO ANALIZY LICZBY ORAZ WIELKOŚCI ERYTROCYTÓW

AFILIACJA: * Instytut Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego, Zakład Fizyki Medycznej, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Diagnostyki, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Założenia i cel pracy: Obecnie do pomiaru wielkości oraz ilości erytrocytów, a także innych elementów morfotycznych krwi, wykorzystuje się przede wszystkim analizatory automatyczne, których działanie opiera się na pomiarze rozproszenia światła laserowego przez przepływający strumień komórek. Alternatywą dla powszechnie stosowanych analizatorów automatycznych może stać się urządzenie qMicro, którego działanie opiera się na technologii pomiaru oporności mikroobiektów – TRPS (ang. Tunable Resistive Pulse Sensing).

Celem badań była charakterystyka urządzenia qMicro w odniesieniu do możliwości jego późniejszego zastosowania do oceny liczby oraz wielkości (średnicy) erytrocytów.

Metodyka: W technologii TRPS zastosowano elektrody rozmieszczone po obu stronach cylindrycznego poru, które pozwalają na pomiar prądu wytwarzanego przez przepływające jony. Komórki, które wprowadzamy do obszaru pomiarowego, są zawieszone w buforze przewodzącym. W momencie, gdy komórka przechodzi przez mikropor, chwilowo blokowany jest przepływ prądu, co obserwujemy jako zmianę rezystancji. Wielkość tej zmiany jest proporcjonalna do wielkości danej komórki.

Materiał badawczy stanowiła krew od pacjentów z anemią makrocytarną, mikrocytarną oraz z prawidłowym rozmiarem erytrocytów (grupa kontrolna). Krew została poddana wirowaniu w kilku etapach w celu wyizolowania erytrocytów.

Wyniki i wnioski: Wstępnie przeprowadzone pomiary pozwalają zauważyć pewne ograniczenia stosowanej metody. Ze względu na skłonność erytrocytów do agregacji bardzo łatwo dochodzi do blokowania mikroporu. Ponadto używany w badaniach kalibrator wielkości (kuleczki polistyrenowe) nie stanowi odpowiedniego wzorca dla dyskoidalnego kształtu erytrocytów. Z drugiej strony uzyskano histogramy rozkładu wielkości erytrocytów, pokrywające się z tymi, które uzyskujemy, stosując standardowe analizatory. W przypadku dopracowania modelu matematycznego opisującego wielkość mierzonych obiektów można z powodzeniem stosować tę technologię do oceny rozmiaru erytrocytów.

MICHAŁ NATKANIEC, MICHAŁ PĘDZIWIATR, MATEUSZ WIERDAK

LAPAROSKOPOWA ADRENALEKTOMIA Z POWODU PHEOCHROMOCYTOMA JEST TRUDNIEJSZA NIŻ Z POWODU POZOSTAŁYCH WSKAZAŃ

AFILIACJA: II Katedra Chirurgii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Laparoskopowa adrenalectomia jest złotym standardem w leczeniu łagodnych guzów nadnerczy. Jednakże w literaturze niekiedy podnosi się problem różnic w chirurgicznym leczeniu guza chromochłonnego w porównaniu do adrenalectomii z powodu innych zmian.

Cel: Celem badania jest porównanie laparoskopowej adrenalectomii wykonywanej z powodu guza chromochłonnego oraz pozostałych wskazań.

Materiał i metody: Retrospektywną analizą zostało objętych 437 chorych leczonych z powodu guza nadnercza. Pacjentów podzielono na dwie grupy: pierwszą, którą stanowiło 124 pacjentów operowanych z powodu pheochromocytoma, i drugą, w której znalazło się 313 pacjentów operowanych z pozostałych wskazań. Obie grupy porównano pod względem: średniego czasu zabiegu, liczby konwersji, liczby powikłań, śródoperacyjnej utraty krwi, oraz przeanalizowano związek czasu zabiegu z wielkością guza w obu grupach.

Wyniki: Średni czas zabiegu w grupie pierwszej wyniósł 91 min, natomiast w grupie drugiej – 82 min ($p=0,016$). Zarówno w grupie pierwszej, jak i drugiej rozmiar guza korelował z czasem zabiegu (odpowiednio $p<0,0001$ i $p=0,0003$). Średnia utrata krwi w grupie pierwszej wyniosła 117 ml, w grupie drugiej – 54 ml ($p=0,0004$). Odsetek powikłań w grupie pierwszej i drugiej wyniósł odpowiednio 3% i 2,6% ($p=0,8542$). Odsetek powikłań w grupie pierwszej i drugiej był równy i wyniósł 1,6% ($p=0,99$).

Wnioski: Dłuższy czas operacji i większa utrata krwi w przypadku zabiegów z powodu pheochromocytoma przemawia za ich większą trudnością. Jednak pomimo tych różnic laparoskopowa adrenalectomia wykonywana z tego wskazania wydaje się skuteczną i bezpieczną metodą.

JULIA NAWROT*, ANETA SUDER**, KATARZYNA KOPEĆ-GODLEWSKA*/***

ODDZIAŁY SAMODZIELNIE PROWADZONE PRZEZ POŁOŻNE – PRZEGLĄD WYBRANYCH BADAŃ

AFILIACJA: * Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Oddział Kliniczny Neonatologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie; *** Szpital Położniczo-Ginekologiczny UJASTEK, Oddział Intensywnej Opieki Neonatologicznej i Patologii Noworodka

Założenia i cel pracy: Celem pracy jest przedstawienie specyfiki funkcjonowania Domów Narodzin w Polsce jako modelowych placówek opieki okołoporodowej sprawowanej przez położne. Dodatkowo, celem pracy jest analiza wybranych badań dotyczących opieki okołoporodowej sprawowanej samodzielnie przez położne w innych krajach europejskich. Praca ma charakter poglądowy.

Materiał i metody: W pracy korzystano z doniesień naukowych w języku polskim i angielskim zamieszczonych w bazach PubMed, EMBASE oraz w raporcie Cochrane z 2008 roku. Użyto następujących słów kluczowych: dom narodzin, *birth centre*, *midwife-led care*, model opieki, opieka okołoporodowa. Dokonano przeglądu dostępnej literatury w języku polskim pod kątem opieki okołoporodowej w miejscach alternatywnych do oddziału szpitalnego. Dane analizowano według następujących kryteriów: bezpieczeństwo rodzących i noworodka, śmiertelność i zachorowalność noworodków, odsetek wykonanych procedur medycznych takich jak epizjotomia oraz cięcie cesarskie i satysfakcja rodzących z porodu.

Wyniki i wnioski: Przeanalizowane dane wykazują porównywalny z placówkami szpitalnymi stopień bezpieczeństwa rodzących oraz płodu/noworodka, odsetek śmiertelności i zachorowalności noworodków, mniejszą liczbę procedur medycznych oraz większą satysfakcję rodzących z odbytego porodu. Oddziały samodzielnie prowadzone przez położne wydają się bezpieczną i korzystną alternatywą dla szpitalnej opieki okołoporodowej.

EWA NIEDZIELSKA-ANDRES, LUCYNA POMIERNY-CHAMIOŁO,
MAŁGORZATA FILIP

ZMIANY EKSPRESJI CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO Nf-κB W KONTEKŚCIE ZMIAN POZIOMU ASTROCYTAR- NEGO TRANSPORTERA DLA GLUTAMINIANU EAAT2 U SZCZURÓW WYKAZUJĄCYCH FENOTYP PODATNY LUB OPORNY NA ROZWÓJ UZALEŻNIENIA OD KOKAINY

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

Dane literaturowe ostatnich lat dowodzą, iż u ok. 20% osób rozpoczynających nadużywanie kokainy rozwija się uzależnienie. Podstawy neuromolekularne powyższych różnic fenotypowych są obecnie przedmiotem moich badań, bazujących na doniesieniach, iż między innymi zmiany adaptacyjne w układzie glutaminianergicznym generowane przez substancje uzależniające u zwierząt ułatwiają zachowanie poszukiwawcze i nawrót do nałogu. Jak dotąd wyniki badań dowodzą, że u zwierząt wykazujących fenotyp podatny na rozwój uzależnienia dochodzi do spadku ekspresji transportera dla glutaminianu EAAT2, natomiast do jego wzrostu dochodzi u zwierząt opornych na rozwój uzależnienia w prążkowie grzbietowym (DSTR) oraz jądrze półleżącym przegrody (NAC).

Ponadto, z danych literaturowych wynika, że ekspresja EAAT2 jest regulowana między innymi przez czynnik transkrypcyjny Nf-κB. Celem mojej pracy było sprawdzenie, czy poziom Nf-κB u szczurów wykazujących fenotyp podatny lub oporny na rozwój uzależnienia będzie korelował ze zmianami w obrębie transportera EAAT2 w DSTR oraz NAC.

W tym celu wygenerowano zwierzęta (n=25) zróżnicowane pod względem podatności na uzależnienie przy pomocy procedury warunkowanej preferencji miejsca. Szczurom (samce rasy Wistar, m=250–280 g) podawano kokainę w dawce 15 mg/kg. Do oznaczenia poziomu ekspresji białek użyto metody WesternBlot. Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji oraz testowi *post-hoc* Tukeya.

W wyniku przeprowadzonych analiz zaobserwowano w NAC znamienne spadki ekspresji Nf-κB u zwierząt wykazujących objawy uzależnienia oraz wzrost poziomu Nf-κB u zwierząt o fenotypie opornym. Natomiast w DSTR nie zaobserwowano zmian ekspresji Nf-κB w żadnej z badanych grup.

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, iż zmiany poziomu Nf-κB w NAC korelują ze zmianami w obrębie EAAT2. Wyniki jednak nie potwierdzają tych wniosków w stosunku do DSTR.

RYSZARD NOSALSKI, TOMASZ PAWEŁ MIKOŁAJCZYK,
JOANNA MACIĄG, TOMASZ JAN GUZIK

OKOŁONACZYNIOWY STAN ZAPALNY W PROCESIE STARZENIA U SZCZURÓW ZE SPONTANICZNYM NADCIŚNIENIEM TĘTNICZYM

AFILIACJA: Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wyniki z ostatnich lat wskazują na udział układu immunologicznego w patogenezie nadciśnienia tętniczego. W toku rozwoju nadciśnienia leukocyty akumulują się w okołonaczyniowej tkance tłuszczowej (PVAT). Mimo że proces starzenia jest głównym czynnikiem występowania nadciśnienia tętniczego, rola okołonaczyniowego stanu zapalnego w jego przebiegu pozostaje nieznana. Przy użyciu cytometrii przepływowej scharakteryzowano stan zapalny w PVAT u szczurów spontanicznie rozwijających nadciśnienie tętnicze (SHR) oraz szczurów kontrolnych (WKY) w dwóch punktach czasowych (6 i 12 miesięcy).

Wyniki: Liczba leukocytów infiltrujących PVAT była wyższa u 6-miesięcznych SHR w porównaniu do WKY ($1000,9 \pm 52,6$ vs $467,9 \pm 49,4$ kom/mg; $p < 0,01$). Podobny trend zaobserwowano u szczurów 12-miesięcznych (3008 ± 306 vs 950 ± 166 kom/mg; $p < 0,01$). Proces starzenia skutkował zwiększoną infiltracją leukocytów w PVAT szczurów WKY i SHR, niemniej jednak u szczurów SHR wzrost ten był bardziej dynamiczny. Praktycznie wszystkie subpopulacje leukocytów, takie jak: komórki NK ($101,8 \pm 13$ vs $12 \pm 1,6$ kom/mg; $p < 0,01$), makrofagi (204 ± 26 vs 91 ± 23 kom/mg; $p = 0,07$), komórki dendrytyczne (153 ± 19 vs 52 ± 12 kom/mg; $p < 0,05$) oraz limfocyty T (104 ± 11 vs 68 ± 7 kom/mg; $p < 0,05$), wykazywały zwiększoną liczbę w PVAT SHR w porównaniu do WKY. Ponadto ich liczba wzrastała u 12-miesięcznych zwierząt: NK (365 ± 43 vs 44 ± 15 kom/mg; $p < 0,01$), makrofagi (1374 ± 215 kom/mg vs 385 ± 87 kom/mg; $p < 0,01$), komórki dendrytyczne (234 ± 24 vs 117 ± 27 kom/mg; $p < 0,01$), limfocyty T (176 ± 9 vs 120 ± 21 kom/mg; $p < 0,05$). Proces starzenia powiązany był z wzrostem limfocytów T ($p < 0,01$) oraz komórek NK ($p < 0,01$) wyłącznie u SHR, podczas gry makrofagi istotnie wzrastały w obu grupach.

Wnioski: Nadciśnienie tętnicze powiązane jest z występowaniem okołonaczyniowego stanu zapalnego. Liczba leukocytów infiltrujących PVAT wzrasta z wiekiem, aczkolwiek wzrost ten jest bardziej dynamiczny w spontanicznym nadciśnieniu tętniczym i powiązany preferencyjnie z komórkami NK i limfocytami T.

MAGDALENA OLBERT, MAGDALENA GAWEL,
ANNA LIPKOWSKA, TADEUSZ LIBROWSKI

PORÓWNANIE WPŁYWU TLENKU CYNKU ORAZ NANOCZĄSTEK TLENKU CYNKU NA AKTYWNOŚĆ PRZECIWZAPALNĄ KETOPROFENU ORAZ OCENA DZIAŁANIA GASTROPROTEKCYJNEGO U SZCZURÓW

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

Cynk wykazuje działanie przeciwzapalne oraz gastroprotekcyjne. Nanocząstki tlenku cynku, co zostało wykazane w wielu badaniach, w porównaniu do tlenku cynku w postaci standardowej wykazują korzystniejszy efekt terapeutyczny (np. przeciwdepresyjny).

Celem pracy była ocena działania przeciwzapalnego jak również gastroprotekcyjnego tlenku cynku w postaci standardowej oraz jego nanocząstek podawanych przewlekle przez 2 tygodnie.

Badania prowadzono na szczurach rasy Wistar. Zwierzętom podawano przez 2 tygodnie wymienione związki dootrzewnowo w dawkach 7 mg/kg (tlenek cynku) oraz 14 mg/kg (nanocząstki tlenku cynku). W piętnastym dniu eksperymentu zwierzętom podano ketoprofen w dawkach 5, 10 oraz 20 mg/kg. Działanie przeciwobrzękowe testowano w karageninowym obrzęku tylnej łapy szczura (Winter i Lence), natomiast działanie gastroprotekcyjne oceniano według skali Komatsu.

W przypadku nanocząstek tlenku cynku oraz tlenku cynku zaobserwowano statystycznie istotne zmniejszenie obrzęku w drugiej oraz trzeciej godzinie eksperymentu.

Zgodnie z wcześniej publikowanymi danymi dotyczącymi działania przeciwobrzękowego ketoprofenu, nie wykazano wpływu nanocząstek tlenku cynku podawanych dootrzewnowo w dawce 14 mg/kg oraz tlenku cynku w dawce 7 mg/kg (i.p.) na aktywność przeciwzapalną ketoprofenu. Wymienione związki mogą natomiast wykazywać działanie ochronne na błonę śluzową żołądka podczas leczenia niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi.

Następne planowane eksperymenty to podanie przewlekle nanocząstek tlenku cynku w dawce 7 mg/kg oraz tlenku cynku w dawce 14 mg/kg dootrzewnowo.

PATRYCJA OSTROGÓRSKA*, KATARZYNA LORENC*, ANNA DZIAD*,
ANETA SUDER*, AGNIESZKA KULIG*, IWONA OPACH*, AGNIESZKA GNIADK**

PIERWSZE DNI W ODDZIALE INTENSYWNEJ TERAPII NOWORODKA – CZY ABSOLWENCI SĄ DOBRZE PRZYGOTOWANI DO PRACY?

AFILIACJA: * Oddział Kliniczny Neonatologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie; ** Zakład Zarządzania Pielęgniarstwem i Pielęgniarstwa Epidemiologicznego, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Pomimo profilaktyki powikłań ciąży i rozwoju nowoczesnych metod diagnostyczno-terapeutycznych w przypadku jej zagrożenia liczba noworodków hospitalizowanych w oddziałach intensywnej terapii nadal wzrasta. Najlepszym modelem nadzoru nad tymi pacjentami jest kompleksowa opieka interdyscyplinarnego zespołu terapeutycznego.

Celem pracy była ocena wiedzy studentów fizjoterapii, pielęgniarstwa i położnictwa na temat programu wczesnej stymulacji i opieki rozwojowej noworodka oraz porównanie wiedzy studentów w zależności od uczelni i kierunku.

Badanie przeprowadzono wśród 351 studentów trzeciego roku na kierunkach fizjoterapia, pielęgniarstwo i położnictwo na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum w Krakowie (UJCM), w Akademii Wychowania Fizycznego im. Bronisława Czecha w Krakowie (AWF) oraz w Państwowej Wyższej Szkole Zawodowej w Tarnowie (PWSZ). Metodą badawczą była anonimowa ankieta zawierająca 32 pytania z zakresu neonatologii i organizacji pracy na intensywnej terapii noworodka.

Z badania wynika, że poziom wiedzy studentów położnictwa jest wyższy niż poziom wiedzy studentów pielęgniarstwa i fizjoterapii, co prawdopodobnie jest związane z programem kształcenia na kierunku położnictwo, w ramach którego istnieje odrębny przedmiot o charakterze teoretycznym i praktycznym – neonatologia i opieka neonatologiczna. Poziom wiedzy studentów fizjoterapii UJCM i AWF nie różni się. Hipoteza badawcza zakładała, że studenci AWF mają wyższy poziom wiedzy ze względu na udział w zajęciach praktycznych na intensywnej terapii noworodka. Z kolei studenci pielęgniarstwa PWSZ mają wyższy poziom wiedzy niż studenci pielęgniarstwa UJCM. Powyższe różnice składają się do porównania sylabusów przedmiotów i kompetencji wykładowców na poszczególnych uczelniach. Wiedza studentów zależy od zainteresowania pracą na oddziale neonatologicznym lub pediatrycznym. W przyszłości warto przeanalizować poziom wiedzy studentów kierunku lekarskiego oraz problemy lekarzy związane z kształceniem w trakcie specjalizacji z neonatologii lub pediatrii.

DAWID PANEK, JUSTYNA GODYŃ, ANNA WIĘCKOWSKA,
TOMASZ WICHUR, BARBARA MALAWSKA

SYNTEZA I BADANIE NOWYCH POTENCJALNYCH LIGANDÓW WIELOFUNKCYJNYCH O DZIAŁANIU HAMUJĄCYM β -SEKRETAZĘ I CHOLINOESTERAZY, Z UGRUPOWANIEM FENYLOALKILOWYM

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

Choroba Alzheimera jest poważnym schorzeniem neurodegeneracyjnym, o złożonym, wielokierunkowym patomechanizmie. Z uwagi na ten fakt, w celu otrzymania nowych, skuteczniejszych leków uzasadnione wydaje się projektowanie cząsteczek działających na więcej niż jeden cel biologiczny, zgodnie z teorią leków wielofunkcyjnych.

Celem pracy było otrzymanie serii nowych heterocyklicznych pochodnych fenylo-alkiloaminowych, o zrównoważonej aktywności hamującej enzymy wpływające na procesy pamięciowe w ośrodkowym układzie nerwowym, tj. acetylocholinoesterazę (AChE) i/lub butyrylocholinoesterazę (BuChE) oraz β -sekretazę. Punktem wyjściowym do projektowania struktur były otrzymane uprzednio w Zakładzie Fizykochemicznej Analizy Leku UJCM silne inhibitory AChE i BuChE. W celu nadania dodatkowej aktywności hamującej β -sekretazę wprowadzano do środkowego fragmentu cząsteczki zasadowe atomy azotu, które w założeniu powinny oddziaływać z fragmentami kwasów asparaginowych, występujących w triadzie katalitycznej enzymu. Sprawdzano, czy wprowadzanie różnych heterocyklicznych fragmentów struktur w miejsce alkilowego linkera nadaje nową aktywność hamującą β -sekretazę i zmienia istniejącą zdolność oddziaływania z cholinoesterazami. Otrzymano i przebadano pochodne piperazyny, 1,3-diazyny oraz 3-amino piperydyny, podstawione przy atomach azotu fragmentami alkilosacharyny, -ftalimidu oraz -fenylu. Zsyntetyzowano cztery serie związków, które poddano testom w warunkach *in vitro*, w kierunku oceny ich zdolności hamowania enzymów. Uzyskane wyniki wykazały dla pochodnych piperazyny oraz 3-aminopiperydyny umiarkowaną aktywność w kierunku hamowania cholinoesteraz, jednakże słabszą w stosunku do wyjściowych, modyfikowanych cząsteczek. W teście hamowania β -sekretazy otrzymano wyniki wskazujące na pojawienie się słabych zdolności hamujących dla pochodnych piperazyny i 3-aminopiperydyny. Wnioski uzyskane z badania zależności między strukturą i aktywnością zostaną wykorzystane przy dalszym projektowaniu nowych potencjalnych wielofunkcyjnych inhibitorów.

KATARZYNA PAŃCZYK, ANNA WASZKIELEWICZ, HENRYK MARONA

**SYNTEZA I BADANIA FARMAKOLOGICZNE
W GRUPIE POCHODNYCH AMINOALKANOLI
ORAZ PIPERAZYNY O SPODZIEWANEJ AKTYWNOŚCI
W OBRĘBIE UKŁADU KRĄŻENIA
ORAZ OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO**

AFILIACJA: Zakład Chemii Bioorganicznej, Katedra Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

W Zakładzie Chemii Bioorganicznej UJCM prowadzone są prace syntetyczne pochodnych aminoalkanoli oraz piperazyny o spodziewanym powinowactwie do receptorów serotonergicznych oraz adrenergicznych, między innymi receptorów 5-HT_{1A}, 5-HT₇ i α_1 [1, 2]. Receptory te stanowią cel molekularny dla leków wykorzystywanych w terapii chorób ośrodkowego układu nerwowego (np. depresja, padaczka, ból neuropatyczny) oraz krążenia (np. nadciśnienie, arytmia).

Celem prezentowanej pracy jest synteza związków będących pochodnymi chiralnych i achiralnych aminoalkanoli oraz piperazyny, a następnie ewaluacja właściwości farmakologicznych otrzymanych substancji. Praca stanowi kontynuację badań realizowanych w Zakładzie Chemii Bioorganicznej we współpracy z Katedrą Farmakodynamiki Wydziału Farmaceutycznego UJCM, a także National Institutes of Health (USA).

Zamierzone substancje zostały otrzymane metodą dwuetapowej syntezy chemicznej. Czystość związków badano techniką chromatografii cienkowarstwowej (TLC) oraz za pomocą analizy spektralnej mas sprzężonej z chromatografią cieczową (LC-MS). Strukturę związków potwierdzono analizą widm ¹H NMR.

Związki w formie zasad lub rozpuszczalnych w wodzie chlorowodorków poddano badaniom powinowactwa do odpowiednich receptorów adrenergicznych (badania na receptory serotonergiczne są w toku) oraz wstępnym badaniom farmakologicznym w obrębie układu krążenia i/lub ośrodkowego układu nerwowego. W dalszym etapie planowane są poszerzone badania farmakologiczne dla wybranych związków oraz badania ich bezpieczeństwa (właściwości mutagenne – test Ames).

Bibliografia

1. Marona H. et al., Synthesis, α -adrenoceptors affinity and α_1 -adrenoceptor antagonistic properties of some 1,4-substituted piperazine derivatives, *Pharmazie* 2011, 66 (10): 733–739.
2. Waszkielewicz A. M. et al., Synthesis and Evaluation of Antidepressant-like Activity of Some 4-Substituted 1-(2-methoxyphenyl)Piperazine Derivatives, *Chem. Biol. Drug Des.* 2015, 85 (6), 326–335.

PATRYCJA PELKA, AGNIESZKA SKOWRON

WPLYW OPIEKI FARMACEUTYCZNEJ NA WIEDZĘ I JAKOŚĆ ŻYCIA PACJENTÓW Z CHOROBA REFLUKSOWĄ PRZELYKU

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

Leki stosowane w terapii refluksu, tj. inhibitory pompy protonowej (IPP) i antagoniści rec. H_2 ($atgH_2$), są dostępne na receptę oraz w sprzedaży odręcznej. Przewlekłe, niekontrolowane przez lekarza stosowanie tych leków może prowadzić do ich nadużywania i wystąpienia działań niepożądanych.

Celem pracy było zbadanie wpływu opieki farmaceutycznej na wiedzę pacjentów zażywających leki z grupy inhibitorów pompy protonowej oraz antagonistów rec. H_2 na temat choroby refluksowej i jej leczenia oraz ich jakość życia.

Metodyka: Badanie interwencyjne typu *pre-post*, tj. grupa badana jest jednocześnie grupą kontrolną. Kryterium włączenia: dorośli pacjenci ze zdiagnozowaną chorobą refluksową zażywający leki z grupy IPP lub $atgH_2$, którzy podpisali pisemną zgodę na udział w badaniu. Interwencja farmaceutyczna: 3–4 spotkania o charakterze edukacyjnym, przegląd lekowy i plan opieki farmaceutycznej. Czas trwania programu u każdego pacjenta: 4–5 tygodni. Narzędzia ankietowe: autorski kwestionariusz wiedzy, ankiety jakości życia: Sf-36v2 oraz QOLRAD-HB. Badanie prowadzone za zgodą Komisji Bioetycznej.

Wyniki: Do badania włączono 25 pacjentów (12 kobiet, 13 mężczyzn). Średnia wieku pacjentów: 48 lat, średni BMI 27,7; 17 – otyłych lub z nadwagą, 2 – z niedowagą. U 15 pacjentów stwierdzono w przeszłości infekcję *H. pylori* i przeprowadzono skuteczną eradykację. W momencie włączenia do badania 23 pacjentów zażywało leki z grupy IPP, 2 – $atgH_2$. Przeprowadzono 93 wizyty. W wyniku interwencji farmaceutycznej ogólna wiedza pacjentów na temat choroby wzrosła o 38%, z czego najbardziej pacjenci pogłębili swoją wiedzę na temat leków. Średnie wyniki z ankiet oceniających jakość życia uległy poprawie, według QOLRAD o 17–29% dla ponad 68% pacjentów.

Wnioski: Opieka farmaceutyczna poprawia wiedzę i jakość życia pacjentów z chorobą refluksową.

JAKUB PIĄTKOWSKI, ANNA SKALNIAK, DOROTA PACH,
ALICJA HUBALEWSKA-DYDEJCZYK

ZNACZENIE WYBRANYCH MUTACJI GENETYCZNYCH W PATOFIZJOLOGII, WCZESNEJ DIAGNOSTYCE I OPTYMALIZACJI LECZENIA GUZÓW NEUROENDOKRYNNYCH PRZEWODU POKARMOWEGO

AFILIACJA: Katedra i Klinika Endokrynologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Badanie retrospektywne prowadzące do poznania podłoża genetycznego nowotworów neuroendokrynnych układu pokarmowego (GEP-NEN) w stopniu umożliwiającym rozszerzenie wiedzy o etiologii choroby oraz odkrycia genetycznych markerów złośliwości.

Cel badania: Ustalenie częstości występowania wybranych polimorfizmów genów: *SMAD4*, *DCC*, *CDKN2A*, *PGR*, promotora genu *IL2* oraz w regionie promotorowym genu *IL10* u chorych z GEP-NEN. Określenie znaczenia ww. polimorfizmów we wczesnej diagnostyce GEP-NEN.

Metodyka: Analiza polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP): rs121912578 (*SMAD4*, Asp493His), rs2229080 (*DCC*, Arg201Gly), rs8005354 (*DAD1*, zamiana T/C w intronie), rs2069762 (-330 T/G w promotorze genu *IL2*), rs3731198 (*CDKN2A*, zamiana A/G w intronie), rs1042839 (*PGR*, His770His), rs2243123 (*IL12A*, zamiana C/T w intronie) oraz rs1800872 (-592 C/A w regionie promotorowym genu *IL10*) na aparacie MasterCycler firmy Eppendorf. Oznaczenia wykonano z pełnej krwi obwodowej metodą TaqMan. Izolacje DNA przeprowadzono przy użyciu zestawu (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen). Ilościowy i jakościowy pomiar DNA przeprowadzono aparatem BioPhotometer plus firmy Eppendorf oraz metodą elektroforezy w żelu agarozowym.

Wyniki: Dla grupy 49 pacjentów z rozpoznaniem GEP-NET oraz odpowiedniej grupy kontrolnej otrzymano odpowiednio: Gen *DCC* rs2229080. Częstość rzadszego allele w grupie badanej i kontrolnej odpowiednio 22,22% i 20%. Gen *DAD1* rs8005354: 45,65% vs 45,45%. Gen *IL2* rs2069762 32,56% vs 35%. Gen *CDKN2A* rs3731198 17,78% vs 10%. Gen *PGR* rs1042839 14,13% vs 22,73%. Gen *IL12A* rs2243123: 35,89% vs 36,36%. Gen *IL10* rs1800872: 50% vs 41,67%.

Wnioski: W niektórych z badanych loci widać tendencje do częstszego lub rzadszego występowania niektórych alleli w grupie osób z GEP-NEN w porównaniu do grupy kontrolnej. Uzyskany rezultat sugeruje, że niektóre z badanych polimorfizmów mogą mieć znaczenie w określeniu ryzyka zachorowania na nowotwory neuroendokrynnego układu pokarmowego.

MAGDALENA PIROG

ANALIZA PORÓWNAWCZA WPLYWU ULTRA-NISKICH I STANDARDOWYCH DAWEK HORMONALNEJ TERAPII ZASTĘPCZEJ NA GENERACJĘ TROMBINY I SPRAWNOŚĆ FIBRYNOLIZY U PACJENTEK PO MENOPAUZIE

AFILIACJA: Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Ocena wpływu różnych dawek hormonalnej terapii zastępczej (HTZ) na powstawanie i rozpuszczanie skrzepu fibrynowego u pacjentek po menopauzie.

Cel pracy: Analiza porównawcza wpływu stosowania ultra-niskich i standardowych dawek hormonalnej terapii zastępczej na powstawanie trombiny i sprawność fibrynolizy u pacjentek po menopauzie.

Metodyka: Do badania włączonych zostało 150 pacjentek Kliniki Endokrynologii Ginekologicznej, które losowo przypisano do jednej z trzech grup: 50 otrzymało 1 mg 17b-estradolu w połączeniu z 5 mg dydrogesteronu, 50 – 0,5 mg 17 b-estradolu z 2,5 mg dydrogesteronu, a 50 nie otrzymało żadnej terapii. U wszystkich pacjentek oznaczono parametry generacji trombiny i fibrynolizy przed leczeniem i po 24 tygodniach leczenia.

Wyniki: Po 24 tygodniach terapii u pacjentek stosujących standardowe dawki HTZ w porównaniu z pacjentkami stosującymi ultra-niskie dawki HTZ stwierdzono 8% wzrost endogennego potencjału trombiny (ETP), 7% wzrost czasu lizy skrzepu (CLT), 13% wzrost stężenia antygenu PAI oraz 43% wzrost aktywności PAI (dla wszystkich $p < 0,05$). W porównaniu z grupą kontrolną u pacjentek po 24-tygodniowej terapii standardowymi dawkami HTZ zaobserwowano: 8% wzrost ETP, 2% wzrost CLT, 33% spadek stężenia antygenu PAI oraz 40% wzrost aktywności PAI (dla wszystkich $p < 0,05$).

Wnioski: Standardowe dawki HTZ zwiększają generację trombiny i zmniejszają sprawność fibrynolizy, natomiast ultra-niskie dawki HTZ nie wywierają znaczącego wpływu na powstawanie i rozpuszczanie skrzepu fibrynowego.

MONIKA POBIEGA*, AGNIESZKA CHMIELARCZYK*, THOMAS GUILLARD**,
PIOTR B. HECZKO*, JADWIGA WOJKOWSKA-MACH*

WYSOKA CZĘSTOŚĆ IZOLACJI GENÓW OPORNOŚCI NA FLUOROCHINOLONY WŚRÓD KLINICZNYCH SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* POCHODZĄCYCH Z PRZYPADKÓW ZAKAŻEŃ NOWORODKÓW O BARDZO MAŁEJ MASIE URODZENIOWEJ

AFILIACJA: * Katedra Mikrobiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** CHU Reims, Hôpital Robert Debré, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Francja

Fluorochinolony należą do jednej z najczęściej stosowanych grup antybiotyków. Choć z powodu możliwych skutków ubocznych nie są dedykowane dla pacjentów pediatrycznych, bywają stosowane w przypadku braku innej opcji terapeutycznej.

Celem badania była analiza częstości występowania genów oporności na fluorochinolony kodowanych plazmidowo (PMQR) wśród szczepów *Escherichia coli* pochodzących z przypadków zakażeń u noworodków z bardzo małą masą urodzeniową. Większość dotychczasowych badań PMQR dotyczy szczepów pochodzących od osób dorosłych.

Określono minimalne stężenie hamujące (MIC) dla wybranych leków z grupy fluorochinolonów. Geny *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* i *oqxAB* wykrywano przy pomocy *real-time* PCR i pirosekwencjonowania. Transfer genów PMQR przeprowadzono przy pomocy koniugacji.

Sześć szczepów (5%) było niewrażliwych na ciprofloksacynę, 13 na ofloksacynę, 7 na lewofloksacynę; 22 posiadało geny PMQR. Gen *qnrB* zidentyfikowano u 7 szczepów, *qnrS* u 2. Nie zidentyfikowano szczepów niosących *qnrA*, *qnrD*, *qnrC*, *qepA* lub *oqxAB*. Gen *aac(6')-Ib-cr* występował u 22 szczepów. Szczepy *qnr*-dodatnie częściej produkowały beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum (ESBL) niż szczepy *qnr*-negatywne ($p=0,0003$), co może sugerować związek pomiędzy występowaniem *qnr* i ESBL. Szczepy PMQR-dodatnie posiadały wyższe wartości MIC₅₀ dla ciprofloksacyny niż szczepy PMQR-ujemne. U 5 szczepów zidentyfikowano współwystępowanie genów ESBL i *qnr* oraz *aac(6')-Ib-cr* na jednym plazmidzie.

Wyniki wskazują, że wysoka częstość izolacji szczepów zawierających geny *qnr* może być związana z procesem selekcji podczas ekspozycji szczepu na antybiotyki. Nawet jeśli fluorochinolony nie są lekami dedykowanymi dla noworodków, szczepy *E. coli* przenoszą geny PMQR. Wysoka częstość występowania tych genów budzi duży niepokój, gdyż w łatwy sposób mogą one zostać przekazane na inne szczepy w procesie horyzontalnego transferu genów.

KRZYSZTOF POCIECHA*, ELŻBIETA WYSKA*,
SEBASTIAN BAŚ**, MARTA WOYCIECHOWSKA**, JACEK MŁYNARSKI**

WPŁYW ŁĄCZNEGO PODANIA PREDNIZOLONU ORAZ INHIBITORA KASPAZ NA STOPIEŃ APOPTOZY GRASICY W MODELU SEPSY U MYSZY

AFILIACJA: * Zakład Farmakokinetiki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Sepsa jest jedną z najczęstszych przyczyn zgonów wśród pacjentów leczonych na oddziałach intensywnej terapii. Jednym z mechanizmów wstrząsu septycznego jest anergia immunologiczna wywołana apoptozą tymocytów. Glikokortykosteroidy, często stosowane w leczeniu tego zespołu chorobowego, mimo niewątpliwie korzystnego wpływu na wiele parametrów biochemicznych mogą nasilać apoptozę tkanek limfatycznych.

Celem badań było określenie wpływu prednizolonu oraz nieselektywnego inhibitora kaspaz (Z-VAD-FMK), podanych osobno oraz w kombinacji, na stopień apoptozy grasic myszy z eksperymentalną sepsą wywołaną poprzez podwiązanie i nakłucie kątnicy (model CLP).

W badaniach wykorzystano samce myszy CD-1. Zwierzęta podzielono na pięć grup: grupa Sham-operated; grupa CLP; grupa CLP, która otrzymała prednizolon w dawce 10 mg/kg i.p.; grupa CLP, która otrzymała Z-VAD-FMK (1 mg/kg i.v.) oraz grupa CLP, której podano łącznie prednizolon oraz Z-VAD-FMK (we wszystkich grupach n=5). Po 24 h od wywołania sepsy myszy uśmiercono przez dekapitację, wyizolowano grasicę, część narządów zamrożono w -80°C, a z pozostałych części wyizolowano tymocyty. W celu określenia stopnia apoptozy i nekrozy komórki poddano barwieniu aneksyną V oraz jodkiem propidyny, a następnie analizowano przy użyciu cytometru przepływowego. Określono również aktywność kaspazy 3 w grasicy metodą fluorymetryczną.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że największa liczba tymocytów aneksyno-pozytywnych występowała w grupie CLP, otrzymującej prednizolon (średnia=49%). W grupie CLP liczba komórek apoptotycznych była istotnie mniejsza (średnia=38%). W grupach CLP otrzymujących Z-VAD-FMK lub Z-VAD-FMK i prednizolon liczbę tymocytów apoptotycznych określono na poziomie odpowiednio 27% i 28%. Wyniki uzyskane przy pomocy cytometrii przepływowej korespondowały ze zmianami aktywności kaspazy w badanych grupach.

Podsumowując, równoczesne podanie inhibitora kaspaz ograniczyło proapoptotyczny efekt glikokortykosteroidu w grasicach zwierząt z sepsą.

SABINA PODLEWSKA*/**, ENZA LACIVITA***, MARCELLO LEOPOLDO***,
ANDRZEJ J. BOJARSKI*

NARZĘDZIA DO OCENY STABILNOŚCI METABOLICZNEJ *IN SILICO*

AFILIACJA: * Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; *** Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet w Bari, Włochy

Nieustanny wzrost możliwości i skuteczności różnorodnych narzędzi obliczeniowych sprawia, że są one wykorzystywane niemal na każdym etapie procesu projektowania nowych leków – nie tylko do oceny potencjalnej aktywności związków chemicznych, lecz również do wstępnej ewaluacji własności fizyko-chemicznych, farmakokinetycznych czy potencjalnej toksyczności.

Przedstawione badania były związane z konstrukcją narzędzia do przewidywania stabilności metabolicznej związków chemicznych *in silico*. Badania przeprowadzono w podejściu opartym o budowę i właściwości znanych ligandów oraz w oparciu o strukturę przestrzenną wybranych podtypów cytochromu P450.

Badania przeprowadzono dla wybranych ligandów receptora serotoninowego 5-HT₇ – serii długołańcuchowych arylopipezazyn. Związki scharakteryzowano za pomocą jedno-, dwu- i trój- wymiarowych deskryptorów molekularnych (PaDEL-Descriptor, QikProp), a model predykcyjny skonstruowano w oparciu o modyfikację maszyny wektorów nośnych przystosowanej do realizacji zadań regresyjnych (*ligand-based*). Z kolei w podejściu *structure-based* związki zadokowano do kryształów wybranych izoform CYP450 (CYP2D6, CYP3A4, CYP1A2, CYP2C9), uzyskane kompleksy ligand-receptor opisano przy pomocy deskryptorów oddziaływań strukturalnych (SIFt), a ocenę stabilności przeprowadzono przy wykorzystaniu protokołu do automatycznej oceny wyników dokowania, uwzględniającego schemat oddziaływań danego związku z poszczególnymi podtypami CYP.

Opracowane narzędzia okazały się skuteczne w przewidywaniu stabilności metabolicznej związków. Z uwagi na złożoność problemu ich skuteczność jest większa w przypadku analizy związków należących do określonej grupy chemicznej. Dalsze badania będą poświęcone optymalizacji skonstruowanych metodologii pod kątem ich wykorzystania w eksperymentach przesiewowych (*virtual screening*).

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (www.ncn.gov.pl) w ramach grantu PRELUDIUM 2013/09/N/NZ2/01917.

BARTOSZ POMIERNY, WERONIKA KRZYŻANOWSKA,
BOGUSŁAWA BUDZISZEWSKA

NARZĘDZIA DO OCENY STABILNOŚCI METABOLICZNEJ *IN SILICO*

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 wszyscy do czynienia w wielu sytuacjach każdego dnia. Znane są ich właściwości gonadotoksyczne, hematotoksyczne jednakże działanie na ośrodkowy układ nerwowy nie było dotychczas tematem szczegółowych badań naukowych. 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). W badaniach *in vivo* na szczurach rasy Wistar wykazaliśmy również, że EGE indukują stres oksydacyjny oraz upośledzają metabolizm glukozy w korze czołowej mózgu, hipokampie, mózdzku. Celem naszych ostatnich badań było określenie wpływu EGE na proces apoptozy mózgu szczura w warunkach *in vivo*. W tym celu zastosowano 4-tygodniowe narażenie na 2-butoksyetanol (BE), 2-fenoksyetanol (FE), oraz 2-etoksyetanol (EE) poprzez podskórną iniekcję w dawce 2,5 mmol/kg m.c. Nasze badania wykazały, że BE oraz FE znacząco zwiększają ekspresję aktywnych form kaspazy-3 oraz -9 oraz obniżają ekspresję białek antyapoptotycznych (Bcl-2 i Bcl-xL), zwiększając równocześnie ekspresję białek proapoptotycznych (Bax i Bak). Uzyskane wyniki mogą wynikać z hipotezy, że w badanych strukturach mózgu szczura dochodzi równocześnie do zaburzenia metabolizmu glukozy oraz indukcji stresu oksydacyjnego, a takie zmiany mogą prowadzić do wejścia komórek mózgu na ścieżkę apoptozy. Mechanizm indukcji procesu apoptozy wydaje się zależny od modulowania aktywności kinaz z rodziny kinaz aktywowanych mitogenem – MAPK (p38, JNK, ERK) przez EGE bądź ich metabolity.

LECH POPIOLEK*, IWONA GAWLIK**, ANNA OSTACHOWSKA**

ANALIZA ZWIĄZKÓW POMIĘDZY WYBRANYMI ZMIENNYMI PSYCHOLOGICZNYMI A OBECNOŚCIĄ POWIKŁAŃ NARZĄDOWYCH NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

AFILIACJA: * Katedra Psychoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Wstęp: Nadciśnienie tętnicze (NT) jest schorzeniem bardzo powszechnym, obarczonym wieloma następstwami. Ze względu na powagę problemu od wielu lat prowadzi się badania nad „profilem psychologicznym” osób z NT. Dotychczasowe analizy nie wyodrębniają jednak wśród osób badanych tych jednostek, u których występują bezobjawowe powikłania narządowe NT (PNNT). Niniejsza praca stara się uzupełnić tę lukę w badaniach.

Cel: Ocena związków pomiędzy wybranymi zmiennymi psychologicznymi a obecnością PNNT.

Materiał i metody: Dotychczas przebadano grupę 50 osób (46% kobiet) z rozpoznaniem NT w wieku 22–70 lat. Dane medyczne wykorzystywane w badaniu pochodziły z większego projektu prowadzonego w Katedrze Chorób Wewnętrznych i Gerontologii UJCM. W ramach tego badania u pacjentów oceniano między innymi wskaźniki przerostu lewej komory serca (LVMI, RWT) oraz prędkość fali tętna (PWV). Dane psychometryczne pozyskiwane były za pomocą testów psychologicznych, oceniających zmienne osobowościowe (NEO-FFI, MMPI-2, DS-14, EAS-D) oraz sposoby radzenia sobie ze stresem (PSS-10, CISS, Mini-COPE).

Wyniki: Osoby z PNNT różnią się istotnie od osób bez PNNT pod względem niektórych zmiennych. U osób z patologicznie podwyższoną PWV stwierdzono niższy poziom neurotyczności, negatywnej emocjonalności, obwiniania siebie oraz odczuwanego stresu. W przypadku jednego ze wskaźników przerostu lewej komory serca (RWT) osoby z PNNT uzyskały niższe wyniki w skalach: styl skoncentrowany na emocjach, styl skoncentrowany na unikaniu, niezadowolenie oraz strach. Pozostałe wyniki zostaną przedstawione na plakacie.

Wnioski: Wyniki dotychczasowych analiz wskazują na to, że osoby bez PNNT osiągają istotnie wyższe wyniki w skalach uznawanych za niepożądane, takich jak np. neurotyczność, strach, poziom odczuwanego stresu. Jest to zjawisko bardzo ciekawe, ale mechanizm tej zależności pozostaje niejasny. Dlatego też istotne jest prowadzenie dalszych badań w tym kierunku.

BEATA POWROŹNIK, KAROLINA SŁOCZYŃSKA, ELŻBIETA PĘKAŁA

PRÓBA OPRACOWANIA MIKROPLYTKOWEGO TESTU *VIBRIO HARVEYI*

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

Założenia: Możliwość zastosowania szybkich i tanich testów mikrobiologicznych do wstępnej oceny potencjalnych kancerogenów i mutagenów stanowi cenną alternatywę dla badań na zwierzętach [1].

Cel pracy: Przedmiotem moich badań jest próba opracowania bakteryjnego testu *Vibrio harveyi* w formie mikroplytki, mogącego znaleźć zastosowanie do oceny potencjału mutagennego nowych związków chemicznych o potencjalnym działaniu leczniczym.

Metodyka: Eksperymenty pilotażowe przeprowadzono wykorzystując szczep *Vibrio harveyi* BB7. *V. harveyi* są drobnoustrojami naturalnie wrażliwymi na działanie neomycyny. Dopiero pod wpływem działania różnych mutagenów mogą powstawać mutanty neomycynoodporne. W badaniach jako mutagen wzorcowy wykorzystano N-tlenek-*N*-nitrochinoliny.

Wyniki: W pierwszych eksperymentach próbowano ustalić czas inkubacji potrzebny do osiągnięcia wzrostu bakterii na poziomie OD₆₀₀ wynoszącym 0,1. Jest to właściwy moment, aby dodać mutagen oraz substancje badane. Celem kolejnego eksperymentu było ustalenie stężenia neomycyny. Jest to jeden z kluczowych punktów testu, ponieważ w teście *V. harveyi* mutagenność badanej substancji określa się na podstawie wzrostu frakcji mutantów opornych na neomycynę. Stężenie neomycyny wynoszące 100 µg/ml najefektywniej hamowało wzrost bakterii, nie powodując efektu cytotoksycznego. Obecnie podjęto próbę ustalenia stężenia mutagenu wzorcowego.

Wnioski: Mikroplytkowy bakteryjny test *Vibrio harveyi* jest szybką, kompleksową i ekonomiczną metodą *in vitro*, mogącą znaleźć zastosowanie do wykrywania właściwości mutagennych nowo zsyntetyzowanych związków chemicznych. W teście mikroplytkowym stwierdzono mniejsze zużycie odczynników i materiałów, a co za tym idzie mniejszą ilość odpadów, mniejszy nakład pracy i mniejsze narażenie badacza na substancje mutagenne.

Badania sfinansowano z dotacji celowej dla młodych naukowców nr K/DSC/001410 oraz ze środków na badania statutowe nr K/ZDS/004118.

Bibliografia

1. Pękała E. et al., *Mutat. Res.* 2013, 758 (1–2), 18–22.

KATARZYNA PRZECZOWSKA-POMIERNY, BARBARA PABIAŃCZYK,
DANIEL ATTARD, ELŻBIETA WYSKA

BADANIA NAD WPLYWEM EKSPERYMENTALNEJ SEPSY NA FARMAKOKINETYKĘ LEKÓW O WYSOKIM WSPÓLCZYNNIKU EKSTRAKCJI WĄTROBOWEJ

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

W przebiegu sepsy dochodzi do zmian w funkcjonowaniu wielu narządów, które w istotny sposób mogą wpływać na procesy farmakokinetyczne, jakim lek podlega w ustroju. Większość dotychczas prowadzonych badań dotyczyła antybiotyków, eliminowanych głównie przez nerki. Niewiele jest informacji na temat farmakokinetyki innych leków, zwłaszcza eliminowanych na drodze metabolizmu wątrobowego w przebiegu tego zespołu chorobowego.

Celem niniejszych badań była ocena wpływu eksperymentalnej sepsy na parametry farmakokinetyczne leków o wysokim współczynniku ekstrakcji wątrobowej na przykładzie enancjomerów werapamilu.

Badania przeprowadzono na myszach, samcach rasy CD-1. Zwierzętom z sepsą (model CLP) 24 godziny po przeprowadzeniu procedury (późna faza sepsy) podano werapamil (racemat, D=1 mg/kg, i.v.), a następnie w różnych punktach czasowych pobierano krew i tkanki do oznaczeń. Grupę kontrolną stanowiły myszy zdrowe. Enancjomery werapamilu oznaczono w osoczu, wątrobie i nerce chiralną metodą HPLC z detekcją fluorymetryczną. Ponadto, w 4, 13 i 24 h od wywołania sepsy badano zmiany w przepływach krwi przez wątrobę i nerki techniką Dopplera, poziom amin katecholowych oraz oceniono stopień uszkodzenia wątroby (ALAT i AspAT). Parametry farmakokinetyczne oszacowano stosując analizę bezmodelową (WinNonlin 6.4).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na niemal dwukrotną redukcję przepływu krwi przez wątrobę i nerki, istotny wzrost stężenia enzymów wątrobowych i amin katecholowych oraz znaczne obniżenie klirensu całkowitego obu enancjomerów werapamilu we krwi w późnej fazie sepsy. Ponadto zaobserwowano obniżenie stosunku pola pod krzywą zależności stężenia od czasu dla wątroby do pola pod krzywą zależności stężenia od czasu dla osocza ($AUC_{\text{wątrob}}/AUC_{\text{osocza}}$) w przypadku obu enancjomerów oraz brak wpływu obniżenia przepływu nerkowego na dystrybucję enancjomerów werapamilu do tego narządu.

Podsumowując, sepsa w istotny sposób wpływa na eliminację leków intensywnie metabolizowanych w wątrobie.

MAGDALENA PRZYBYLSKA-FELUŚ*, AGATA FURGAŁA**,
MALGORZATA ZWOLIŃSKA-WCISŁO***, JOLANTA KASZUBA-ZWOIŃSKA**,
PIOTR THOR**, TOMASZ MACH*

ZALEŻNOŚĆ STĘŻEŃ WYBRANYCH ENTERO- HORMONÓW OD AKTYWNOŚCI MIOELEKTRYCZNEJ ŻOŁĄDKA U CHORYCH NA CELIAKIĘ

AFILIACJA: * Katedra Gastroenterologii i Hepatologii oraz Chorób Zakaźnych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Patofizjologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Zakład Dietetyki Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Celiakia jest enteropatią zapalną spowodowaną trwałą nietolerancją glutenu. Wtórnie do przewlekłego stanu zapalnego jelita cienkiego obserwuje się zaburzenia w obrębie autonomicznego układu nerwowego, które mogą powodować zaburzenia motoryki górnego odcinka przewodu pokarmowego. U chorych na celiakię obserwowano nieprawidłowe stężenia greliny, natomiast do tychczas nie rejestrowano aktywności mioelektrycznej w tej grupie chorych.

Cel: Celem pracy była analiza zależności stężeń enterohormonów od aktywności mioelektrycznej żołądka u chorych na celiakię.

Metodyka: Osoczowe stężenia enterohormonów (greliny i polipeptydu trzustkowego) na czczo oznaczano u 25 chorych na celiakię (8 mężczyzn, 17 kobiet, średnia wieku $42,4 \pm 15,8$ lat). Celiakię potwierdzono serologicznie oraz histopatologicznie. Aktywność mioelektryczna żołądka była oceniana podczas elektrogastrografii wykonywanej na czczo oraz po standaryzowanym posiłku. Powyższe wyniki zostały porównane z grupą kontrolną (9 mężczyzn, 21 kobiet, średnia wieku $42,1 \pm 9,2$ lat).

Wyniki: Chorzy na celiakię, w porównaniu do grupy kontrolnej, na czczo mieli niższe stężenie greliny $156,8 \pm 86,7$ pg/ml vs $260,2 \pm 87,6$ pg/ml ($p=0,0002$). Natomiast stężenie polipeptydu trzustkowego było wyższe u chorych na celiakię $265,2 \pm 306,3$ pg/ml vs $54,1 \pm 54,6$ pg/ml w porównaniu do grupy kontrolnej ($p=0,0005$).

W grupie chorych na celiakię, w porównaniu do grupy kontrolnej, obserwowano obniżony % normogastrii ($54,8 \pm 24,5$ vs $86 \pm 12,3\%$, $p=0,02$) i sprzężenia fal wolnych ($61,1 \pm 17$ vs 67 ± 18 , $p=0,01$). U chorych na celiakię po posiłku nie obserwowano wzrostu tych parametrów ($p<0,05$).

Wnioski: Celiakia upośledza aktywność mioelektryczną żołądka oraz profil wydzielniczy eneterohormonów. Obserwowane zmiany mogą wynikać ze zmian neurohormonalnych wtórnych do przewlekłego procesu zapalnego w obrębie przewodu pokarmowego.

JOANNA PUDŁO*/**, PIOTR LISZANIAŃSKI***, JACEK LELAKOWSKI*/**

ANALIZA INTERWENCJI ORAZ PRZEPROGRAMOWAŃ IMPLANTOWANYCH KARDIOWERTERÓW- DEFIBRYLATORÓW U PACJENTÓW Z KARDIOMIOPATIA ROZSTRZENIOWĄ W OBSERWACJI ODLEGŁEJ

AFILIACJA: * Klinika Elektrokardiologii, Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II; *** Oddział Kardiologiczny, Szpital Powiatowy w Chrzanowie

Wstęp: Opieka nad pacjentem z implantowanym kardiowerterem-defibrylatorem (ICD) polega na regularnych wizytach kontrolnych, podczas których na podstawie uzyskanych danych podejmowana jest decyzja o przeprogramowaniu ICD bądź pozostawieniu dotychczasowych parametrów.

Cel pracy: Celem pracy była ocena liczby interwencji, przeprogramowań oraz czynników wpływających na zmianę parametrów ICD u pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową z implantowanymi urządzeniami ze wskazań profilaktyki pierwotnej nagłego zgonu sercowego (SCD).

Materiał i metody: Do badania włączono kolejnych 143 pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową z implantowanym ICD ze wskazań prewencji pierwotnej SCD w latach 2010–2011. Analizowano wszystkie kolejne wizyty ambulatoryjne w Poradni Kontroli Kardiowerterów. Oceniano zmienne: wiek, obecność choroby niedokrwiennej serca (ChNS), migotania przedsionków (AF), LVEF, klasa NYHA, obecność interwencji oraz liczba i powody przeprogramowań ICD.

Wyniki: Podczas obserwacji (od 3,7 do 259,9 tyg., mediana: 154,7) przeprowadzono 731 wizyt kontrolnych. Wystąpiły 92 interwencje u 54 pacjentów (37,7%) oraz 444 przeprogramowania. Nie stwierdzono wpływu etiologii kardiomiopatii (wskutek ChNS lub bez ChNS), wieku oraz klasy NYHA na liczbę modyfikacji jakiegokolwiek z parametrów ICD. U pacjentów z AF częściej zmieniano parametry stymulacji niż u pacjentów bez AF ($p=0,016$). Stwierdzono korelację pomiędzy liczbą interwencji a całkowitą liczbą przeprogramowań ($r=0,3$; $p<0,05$). Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy LVEF a liczbą przeprogramowań detekcji arytmii komorowych ($r=-0,18$; $p<0,05$), między LVEF a liczbą interwencji ICD ($r=-0,2$; $p<0,05$).

Wnioski: Pacjenci z interwencjami mieli więcej przeprogramowań ICD. Pacjenci z AF mieli częściej zmieniane parametry stymulacji. Pacjenci z niską LVEF mieli więcej interwencji oraz więcej przeprogramowań w strefie detekcji arytmii komorowych.

MALGORZATA RADOŃ-POKRACKA, KATARZYNA KUŚMIERSKA-URBAN,
MAGDALENA NOWAK, HUBERT HURAS

EFEKTY SUPLEMENTACJI PENTOKSYFILINY, KWASU ACETYLOSALICYLOWEGO ORAZ KWASU DOKOZAHEKSAENOWEGO NA WEWNĄTRZMACICZNE OGRAŃCZENIE WZRASTANIA PŁODU

AFILIACJA: Klinika Położnictwa i Perinatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Mechanizmy leżące u podłoża wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrastania (IUGR) nie są dostatecznie poznane, a zahamowaniu wzrastania towarzyszy nieprawidłowy przepływ naczyniowy tętnicy pępowinowej. Pentoksylina (PTXF) zmniejsza lepkość krwi, usprawnia mikrokążenie i ukrwienie tkanek, a tym samym poprawia przepływ krwi w jednostce łożyskowo-płodowej. Kwas dokozaheksaenowy (DHA) jest najpowszechniej występującym wielonienasyconym kwasem tłuszczowym w obrębie tkanki mózgowej i w siatkówce, jego suplementacja w trakcie ciąży wpływa na poprawę rozwoju płodu. Kwas acetylosalicylowy (ASA) w małych dawkach wywiera działa przeciwplatekcyjne, usprawniając krążenie maciczne.

Cel: Celem pracy była ocena wpływu suplementacji DHA, PTXF oraz ASA na wzrastanie płodu.

Metodyka: 63 ciężarne pacjentki z podejrzeniem IUGR losowo przydzielono do jednej z grup: grupa A: 35 pacjentek otrzymujących PTXF (400 mg 2x dziennie); grupa B: 15 pacjentek otrzymujących PTXF i DHA (DHA: 500 mg 2x dziennie); grupa C: 6 pacjentek otrzymujących PTXF i ASA (ASA: 75 mg raz dziennie); grupa D: 7 pacjentek nieotrzymujących PTXF, DHA, ASA. Ocenie podlegały indeks pulsacji naczyniowej w tętnicy pępowinowej, zmiana w szacowanej masie płodu po tygodniu wdrożonej terapii oraz waga urodzeniowa noworodka.

Wyniki: Średnia masa urodzeniowa była wyższa w grupie A ($1700 \text{ g} \pm 563 \text{ g}$) i w grupie C ($1764 \text{ g} \pm 558 \text{ g}$) w porównaniu do grupy D ($1498 \text{ g} \pm 638 \text{ g}$). Również średni wzrost szacowanej masy płodu po 7 dniach terapii był wyższy w grupie A ($126 \text{ g} \pm 172 \text{ g}$) i grupie C ($204 \text{ g} \pm 301 \text{ g}$) w odniesieniu do grupy D ($41 \text{ g} \pm 167 \text{ g}$). Nie zaobserwowano różnic w indeksie pulsacji tętnicy pępowinowej oraz efektów ubocznych zastosowanej suplementacji.

Wnioski: Potrzeba dalszych badań celem potwierdzenia wstępnych obserwacji i uzyskania istotności statystycznej.

ALEKSANDRA RAK*, KATARZYNA RAŻNY*, KLAUDIA LUSTYK*, JACEK SAPA*,
VITTORIO CANALE**, PAWEŁ ZAJDEL**

POSZUKIWANIE NOWYCH UROSELEKTYWNYCH α_1 -ADRENOLITYKÓW W GRUPIE ARYLOSULFONAMI- DOWYCH POCHODNYCH ARYLOKSYALKILOAMIN

AFILIACJA: * Zakład Wstępnych Badań Farmakologicznych, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Antagoniści receptorów α_1 -adrenergicznych są obecnie najczęściej stosowanymi lekami u chorych z łagodnym rozrostem gruczołu krokowego w celu rozluźnienia mięśni gładkich prostaty i zmniejszenia oporu przepływu moczu. Po ich podaniu obserwuje się szybką poprawę parametrów urodynamicznych, jednak w wielu przypadkach jako efekt niepożądany prowadzą one do nadmiernego efektu hipotensyjnego. W związku z powyższym strategia prowadzonych badań ma na celu uzyskanie bardziej uroselektywnych związków.

W pierwszym etapie badań dla nowej grupy arylosulfonamidowych pochodnych aryloksyalkiloamin wykonano testy przesiewowe, które obejmowały ocenę powinowactwa do receptorów α_1 i α_2 -adrenergicznych oraz preferencyjności do podtypów A i B α_1 -AR. Kolejno, dla najbardziej aktywnych związków, przeprowadzono ocenę aktywności hipotensyjnej po jednokrotnym podaniu dożylnym u normotensyjnych szczurów, a także wykonano badania wpływu na działanie presyjne metoksaminy w celu potwierdzenia ich właściwości α -adrenolitycznych.

Wszystkie dotychczas badane związki wykazały istotne powinowactwo do receptorów α_1 -adrenergicznych ($K_i=19\text{--}90$ nM). Potwierdzeniem ich właściwości antagonistycznych w stosunku do receptora α_1 -adrenergicznego było zniesienie presyjnego działania metoksaminy. Z porównania wyliczonych wartości $EC_{50_{\alpha_1B/\alpha_1A}}$ wynika, że wybrane związki charakteryzowała preferencyjność wobec receptora α_{1A} -adrenergicznego (1,5–6-krotna). Podane w zakresie dawek 2–5 mg/kg nie zmniejszały istotnie ciśnienia skurczowego i rozkurczowego u normotensyjnego szczura.

Otrzymane wyniki mogą wskazywać, iż badane struktury charakteryzują się uroselektywnością, co może być rezultatem ich preferencyjnego działania w obrębie podtypów A i D receptora α_1 -adrenergicznego. Celem potwierdzenia tej hipotezy będzie wykonanie poszerzonych badań farmakologicznych na izolowanych narządach oraz ocena parametrów urodynamicznych u szczurów z indukowanym testosteronem rozrostem prostaty.

Badania finansowane w ramach projektu NCN2011/03/B/NZ7/00724.

KATARZYNA RAŻNY*, MAREK BEDNARSKI*, ALEKSANDRA RAK*,
JACEK SAPA*, KATARZYNA KULIG**, HENRYK MARONA***

BADANIA NOWYCH ZWIĄZKÓW O WŁAŚCIWOŚCIACH α 1-ADRENOLITYCZNYCH W EKSPERYMENTALNYCH MODELACH ZWIERZĘCYCH NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

AFILIACJA: * Zakład Wstępnych Badań Farmakologicznych, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Zakład Chemii Bioorganicznej, Katedra Chemii Organicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Współczesna farmakologia wymaga od leku hipotensyjnego nie tylko typowej obojętności metabolicznej, ale dodatkowych właściwości, jakimi są między innymi poprawa upośledzonej funkcji śródbłonna i korygowanie zaburzeń profilu węglowodanowo-lipidowego. Stąd też przebadano nowo zsyntetyzowane związki hipotensyjne o właściwościach α 1-adrenolitycznych w celu wykazania ich potencjalnego działania plejotropowego. 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 160–380 g. W eksperymencie nadciśnienie tętnicze indukowanego wg modelu: 20% NaCl, DEX, DOCA-salt, fruktozowego oraz L-NAME. Pomiary ciśnienia przeprowadzano przy pomocy aparatury do nieinwazyjnego pomiaru ciśnienia krwi u gryzoni – LE 5007 Panlab Harvard Apparatus, zgodnie z metodą NIBP (Non-Invasive Blood Pressure), w oparciu o puls na tętnicy ogonowej szczura. W celu zbadania wpływu związków na czynność śródbłonna pobrano narządy od szczurów znieczulonych tiopentalem (75 mg/kg i.p). Oznaczenia wykonano na aparaturze przeznaczony 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 znamiennej statystycznie wzrost ciśnienia tętniczego. Poszczególne modele różniły się osiąganym maksymalnym średnim ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym krwi (mmHg) oraz czasem potrzebnym do wyindukowania nadciśnienia. Spośród modeli do dalszych badań nad właściwościami plejotropowymi nowo zsyntetyzowanych związków wybrano model L-NAME, który spowodował istotne uszkodzenie funkcji śródbłonna. Wstępna analiza pozwoliła wyłonić spośród związków te, które nieznacznie przywróciły upośledzoną funkcję śródbłonna. Przebadane dotychczas związki spośród nowych α 1-adrenolityków miały korzystny wpływ na parametry profilu węglowodanowo-lipidowego.

TOMASZ RODACKI*, PAWEŁ ZAGRODZKI*/**

STOSOWANIE PRZEZ FARMACEUTÓW PREPARATÓW UZUPEŁNIAJĄCYCH DIETĘ, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM SUPLEMENTÓW DLA OSÓB AKTYWNYM FIZYCZNIE

AFILIACJA: * Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Fizykochemii Jądrowej, Instytut Fizyki Jądrowej, Polska Akademia Nauk, Kraków

Założenia: Krajowa Rada Suplementów i Odżywek określa suplementy i odżywki jako produkty złożone z substancji odżywczych i będące uzupełnieniem normalnej żywności. W 2013 roku w polskich aptekach 24,4% sprzedaży ilościowej produktów bez recepty stanowiły suplementy diety. Ich wartość na rynku preparatów z kategorii OTC (*over the counter*) wyniosła 33,42%.

Cel pracy: Zbadanie zjawiska suplementacji diety przez farmaceutów pracujących w aptekach. Ocena częstości oraz rodzaju stosowanych preparatów.

Materiał i metody: Posługując się kwestionariuszem autorskim, przeprowadzono badania ankietowe wśród 256 farmaceutów z województw małopolskiego, świętokrzyskiego i opolskiego. Pytania dotyczyły stosowania przez ankietowanych suplementów diety, ilości oraz rodzaju przyjmowanych preparatów. Szczególną uwagę poświęcono suplementom dla osób uprawiających sport.

Analiza wyników: Połowa badanych deklarowała spożywanie suplementów diety. Wśród nich 31% stosowało jeden preparat, 27% spożywało dwa produkty, a 23% stosowało trzy i więcej suplementów diety. Spośród wszystkich respondentów 8,59% zadeklarowało spożywanie suplementów multiwitaminowych, 7% spożywało preparaty zawierające korzeń żeń-szenia, 4% ankietowanych suplementowało dietę preparatami magnezu. Witaminę D stosowało 1,17% respondentów. W przypadku osób uprawiających sport po preparaty zawierające w swym składzie kofeinę sięgało 5,86% farmaceutów, zaś 3,91% respondentów stosowało l-karnitynę. Po preparaty z kreatyną sięgało 1,56% farmaceutów.

Wnioski: Farmaceuci chętnie spożywali suplementy diety. Najczęściej stosowane były preparaty multiwitaminowe, a spośród produktów dla sportowców dużą popularnością cieszyła się l-karnityna. Niewielki odsetek respondentów zadeklarował stosowanie witaminy D. Spośród odżywek dla osób aktywnych fizycznie rzadziej wybierana była kreatyna. Taki wybór preparatów świadczyć może, iż decyzje dotyczące suplementacji nie zawsze są wsparte dowodami naukowymi oraz aktualnymi wytycznymi.

BARTŁOMIEJ ROSPOND*, GRZEGORZ KAZEK**, MAŁGORZATA FILIP*

OCENA GĘSTOŚCI I POWINOWACTWA RECEPTORÓW DOPAMINOWYCH D2 W ZWIERZĘCYM MODELU KOMPULSYWNEGO OBJADANIA SIĘ

AFILIACJA: * Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Wstępnych Badań Farmakologicznych, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Otyłość określa się mianem epidemii XXI wieku. U ludzi nadmierna konsumpcja pokarmu bogatego w cukry proste i tłuszcze wytwarza – oprócz zmian metabolicznych – zaburzenia w mózgu, w tym spadek gęstości receptorów dopaminowych D2 w prążkowiu (Volkow et al. 2011).

Celem pracy była analiza gęstości receptorów D2 w grzbietowym prążkowiu u szczurów poddanych okresowej lub stałej ekspozycji na dietę wysokotłuszczową lub cukrową. Dorosłe szczury, samce rasy Wistar, przetrzymywano w osobnych klatkach, w standardowych warunkach przy odwróconym cyklu dzień-noc. Przez 5 tygodni doświadczenia niegłodzone zwierzęta ($n=8$ /grupę) otrzymywały: (I) standardową dietę (kontrola), (II) dietę wysokocukrową lub tłuszczową – stały dostęp, dietę wysokocukrową / 2 godz. dziennie lub tłuszczową / 2 godz. dziennie (sposób „binge”). Zmiany w gęstości i powinowactwie receptorów D2 wykonano przy użyciu znakowego trytem antagonisty receptorów D2 ($[^3H]$ spiperon; 0,25–8,0 nM), a wiązanie niespecyficzne wyznaczono stosując antagonistę receptorów D2 (50 nM (+)-butaclamol). Uzyskane wyniki analizowano przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji i testu *post hoc* Tukeya.

Przeprowadzone badania wykazały znamienny statystycznie wzrost gęstości receptorów D2 w prążkowiu w grupie zwierząt przyjmujących stale paszę wysokocukrową ($F(2,21)=74,44$; $p<0,0001$), natomiast zwierzęta pobierające w sposób „binge” paszę wysokocukrową oraz te, które przyjmowały paszę wysokotłuszczową (niezależnie od schematu podawania), nie różniły się od grupy kontrolnej. Co więcej, w grupach „binge” odnotowano znamienny spadek powinowactwa w prążkowiu w grupie zwierząt poddanych ekspozycji na dietę wysokocukrową ($F(2,18)=97,85$; $p<0,0001$) lub wysokotłuszczową ($F(2,18)=15,09$; $p=0,0001$), co także potwierdza wystąpienie zaburzeń funkcjonalnych w mózgu pod wpływem pokarmu.

SABINA RYBKA*, JOLANTA OBNISKA*, ANNA RAPACZ**, BEATA WIKLIK*

SYNTEZA NOWYCH N-ZASAD MANNICHA POCHODNYCH 3-BENZYLO- I 3-(1-FENYLOETYLO-PIROLIDYNO-2,5-DIONU O POTENCJALNEJ AKTYWNOŚCI PRZECIWDRGAWKOWEJ

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

W Katedrze Chemii Farmaceutycznej UJCM od lat prowadzone są szerokie badania w grupie pochodnych 1,3-podstawionego pirolidyno-2,5-dionu. Wśród tego typu pochodnych wysoką aktywnością charakteryzowały się N-zasady Mannicha, które w położeniu-3 układu imidowego zawierały dwa pierścienie fenylowe odsunięte do niego o grupę metinową, 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 przeciwpadaczkowych [1, 2]. Postanowiono kontynuować badania w tej grupie pochodnych, prowadząc kolejne modyfikacje strukturalne oraz sprawdzając, jaki wpływ na aktywność przeciwdrgawkową będzie miało usunięcie jednego pierścienia fenylowego lub zastąpienie go grupą metylenową.

Synteza zaplanowanych nowych serii N-zasad Mannicha była prowadzona kilkietapowo. W pierwszym etapie zsyntetyzowano kwas 2-benzylbursztynowy i kwas 2-(1-fenyletylobursztynowy, które stanowiły substraty do dalszej syntezy. W kolejnym etapie w wyniku reakcji cyklokondensacji otrzymano imidy tych kwasów. Finalne produkty zsyntetyzowano w wyniku reakcji aminometylowania odpowiednich imidów 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 UJCM. Badania te wykazały, że usunięcie jednego pierścienia fenylowego bądź zamiana go na grupę metylenową w ugrupowaniu benzhydrylowym spowodowało spadek aktywności przeciwdrgawkowej w porównaniu z wcześniej otrzymanymi pochodnymi pirolidyno-2,5-dionu.

Badanie finansowane z grantu NCN: DEC-2013/11/N/NZ7/00426.

Bibliografia

1. J. Obniska et al., *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2013, 346, 71–82.
2. Rybka S. et al., *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2014, 347, 1–9.

JAKUB SCHABIKOWSKI*, MICHAŁ ZAŁUSKI*, ANNA DRABCZYŃSKA*,
KATARZYNA STANUCH*, TADEUSZ KAR CZ*, CHRISTA E. MÜLLER**,
KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

POSZUKIWANIA LIGANDÓW RECEPTORÓW ADENOZY- NOWYCH WŚRÓD POCHODNYCH 1,3-DIALKILOPIRYMIDO- ORAZ PIRAZYNO[2,1-F]PURYNODIONÓW

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

Do tej pory opisane zostały cztery podtypy receptorów adenozynowych, tj. A_1 , A_{2A} , A_{2B} , A_3 . Posiadają one różne rozmieszczenie w tkankach oraz odmienne właściwości farmakologiczne i biochemiczne. Modulacja ich aktywności może znaleźć zastosowanie w terapii chorób układu sercowo-naczyniowego, oddechowego, odpornościowego oraz chorób neurodegeneracyjnych.

Odnalezienie nowych, selektywnych ligandów receptorów adenozynowych było celem wielu badań prowadzonych w ostatnich latach. Na podstawie wcześniejszych wyników zaprojektowano dwie serie anelowanych pochodnych ksantyn. Każda seria zawierała związki różniące się podstawnikami w pozycji 1 i 3 układu ksantynowego oraz dobudowanym pierścieniem heterocyklicznym.

Zaplanowane związki otrzymywano dwiema metodami. W pierwszej metodzie związki finalne uzyskano poprzez syntezę układu ksantynowego, dobudowanie pierścienia heterocyklicznego, połączenie z pochodną fenolową oraz otrzymanie eterów w reakcji z odpowiednimi pochodnymi chloro(aryl)alkilowymi lub też otrzymanie końcowych amidów poprzez etap estru oraz stapianie z odpowiednimi alikloaminami. W drugiej metodzie strukturą początkową była 1,3-dibutyloksantyna. Kolejne etapy polegały na dobudowie pierścienia heterocyklicznego, połączeniu z pochodną fenolową, otrzymaniu estru oraz wprowadzeniu alikloaminy. Zsyntetyzowane pochodne poddano badaniom na powinowactwo do receptorów adenozynowych (rA_1 , rA_{2A} , hA_{2B} , hA_3).

Analiza zależności struktura aktywność wykazała, że związki z pierścieniem pirymidynowym posiadają wyższe powinowactwo do receptorów adenozynowych. Przeprowadzone badania pozwoliły potwierdzić, że podstawniki w pozycji 1 i 3 oraz rodzaj dobudowanego pierścienia heterocyklicznego mogą wpływać na powinowactwo badanych ligandów. W dalszych badaniach postaramy się określić, czy główny wpływ na powinowactwo posiadają podstawniki w pozycji 1 i 3, dobudowany pierścień heterocykliczny, czy też rodzaj, wielkość oraz typ wiązania dystalnego podstawnika badanej cząsteczki.

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

ANNA SKALNIAK, AGATA JABROCKA-HYBEL, JAKUB PIĄTKOWSKI,
ALICJA HUBALEWSKA-DYDEJCZYK, DOROTA PACH

JAKIE CZYNNIKI UCHRONIĄ NAS PRZED CHOROBA HASHIMOTO?

AFILIACJA: Katedra i Klinika Endokrynologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenie i cel pracy: Choroba Hashimoto (HT) należy do grupy chorób autoimmunizacyjnych tarczycy. Cytowane od lat dane, mówiące, że choroba ta dotyka 5% populacji, wydają się niedoszacowane. Pomimo niepodważalnego znaczenia czynników genetycznych w rozwoju choroby obserwowany wzrost liczby zachorowań w ciągu ostatnich lat nasuwa wielu badaczom myśl, że pewne czynniki środowiskowe mogą wywoływać wystąpienie objawów HT u osób predysponowanych. Celem pracy jest sprawdzenie kilku z najpopularniejszych współczesnych teorii dotyczących czynników potencjalnie wpływających na rozwój HT.

Metodyka: Do badania włączono 480 pełnoobjawowych pacjentów z HT. Choroba Hashimoto była rozpoznawana na postawie jednoczesnej obecności pierwotnej niedoczynności tarczycy, wymagającej leczenia lewotyroksyną, z obecnością przeciwciał antyTPO oraz charakterystycznego obrazu USG tarczycy o obniżonej echogeniczności, przy braku podwyższonego miana przeciwciał hTRAB. Grupę kontrolną stanowiło 150 zdrowych osób, których wyniki badań obejmujące TSH, fT4, antyTPO, hTRAB i USG tarczycy wskazywały na brak choroby tarczycy. Grupa kontrolna nie odbiegała istotnie od badanej pod kątem danych demograficznych. U wszystkich osób przeprowadzony został szczegółowy wywiad, uwzględniający czynniki środowiskowe, jak również obciążenie rodzinne.

Wyniki i wnioski: Porównano grupę badaną i kontrolną pod względem: występowania innych chorób przewlekłych, występowania chorób autoimmunizacyjnych u krewnych I stopnia, przebytych chorób zakaźnych, zażywanych leków, nawyku palenia papierosów, wywiadu ginekologicznego, szczegółowych nawyków żywieniowych oraz sposobu radzenia sobie z sytuacjami stresowymi.

Badanie pozwoliło na zweryfikowanie kilku powszechnie głoszonych teorii, w szczególności hipotez o znaczeniu spożywanych ilości jodu, selenu, błonnika, nabiału czy konserwantów, potencjalnym znaczeniu indeksu glikemicznego czy rzuceniu palenia papierosów jako czynnika wyzwalającego chorobę.

DOMINIK SKIBA**, RYSZARD NOSALSKI**, TOMASZ MIKOŁAJCZYK**,
RAFAL OLSZANECKI***, JACEK JAWIEN***, FRANCISCO RIOS*,
AUGUSTO C. MONTEZANO*, RHIAN M. TOUYZ*, TOMASZ J. GUZIK**

PRZECIWMIAŻDŻYCOWY EFEKT AGONISTY RECEPTORA MAS (AVE0991). WPŁYW NA INFILTRACJĘ I AKTYWACJĘ MAKROFAGÓW W TKANCE TŁUSZCZOWEJ OKOŁOAORTALNEJ

AFILIACJA: * Institute of Cardiovascular and Medical Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK; ** Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Katedra Farmakologii, 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. Mysiom ApoE^{-/-} oraz myszom z grupy kontrolnej (C57BL/6) podawano placebo lub substancję AVE0991 zmieszaną z paszą. Poziom infiltracji makrofagów do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej oraz ich polaryzacji został określony przy użyciu cytometru przepływowego.

Wyniki: U myszy ApoE^{-/-} w wieku 24 tyg. suplementacja AVE0991 znacząco zmniejszyła powierzchnię blaszki miażdżycowej w aorcie ($6,20 \pm 1,05\%$ vs $2,45 \pm 0,82\%$; $p < 0,05$). W tkance tłuszczowej okołoaortalnej infiltracja makrofagów była wyższa u myszy ApoE^{-/-} w stosunku do grupy kontrolnej w 16 tyg. (265 ± 39 komórek/mg vs 431 ± 94 komórek/mg; $p < 0,05$) oraz w 24 tyg. (305 ± 36 komórek/mg vs 414 ± 44 komórek/mg; $p < 0,05$). Suplementacja AVE0991 przyczyniła się do zmniejszenia infiltracji makrofagów w 16 tyg. (233 ± 44 komórek/mg; $p < 0,05$ vs ApoE^{-/-}) oraz 24 tyg. (267 ± 17 komórek/mg; $p = 0,08$ vs ApoE^{-/-}). W celu wyjaśnienia tego mechanizmu przeprowadzono eksperyment *in vitro* na hodowli ludzkich monocytów (linia THP-1) stymulowanych TNF- α (20 ng/ml) w obecności AVE0991 (10 μ M). Preinkubacja z AVE0991 zmniejszyła produkcję mRNA indukowanego przez TNF- α dla MCP-1 ($114 \pm 12,3$ vs $73 \pm 4,7$; $p < 0,05$), IL-8 ($72 \pm 4,1$ vs $53 \pm 8,8$; $p < 0,05$) oraz IL-1 β (72 ± 43 vs $16 \pm 9,5$; $p < 0,05$).

Wnioski: AVE0991 (mimetyk angiotensyny-1-7) efektywnie hamuje powstawanie blaszki miażdżycowej oraz infiltrację makrofagów do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej. Prawdopodobnie w procesie tym dużą rolę odgrywa zmniejszona produkcja IL1 β oraz MCP-1 w monocytach.

IRENA SMAGA-MAŚLANKA*, JOANNA JASTRZĘBSKA**,
BEATA BYSTROWSKA*, MAŁGORZATA FILIP*/**

ROLA UKŁADU ENDOKANABINOIDOWEGO W ZWIERZĘCYCH MODELACH DEPRESJI

AFILIACJA: * Katedra Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Pracownia Uzależnień Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

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 endokannabinoidowego w patogenezie depresji i w działaniu leków przeciwdepresyjnych.

Celem tego badania była ocena zmian poziomów endokannabinoidów, tj. anandamidu (AEA) i 2-arachidonyloglicerolu (2-AG) w różnych strukturach mózgowych zwierząt z indukowaną (bulbektomia) i genetyczną (Wistar-Kyoto) depresją metodą LC-MS/MS.

U szczurów bulbektomizowanych zaobserwowano spadek poziomu AEA w korze przedczołowej, hipokampie i prążkowiu oraz wzrost AEA w jądrze półleżącym przegrody, tymczasem poziom 2-AG wzrastał w korze przedczołowej lub spadał w jądrze półleżącym przegrody. U szczurów rasy Wistar-Kyoto zaobserwowano wzrost poziomu AEA w korze przedczołowej oraz spadek AEA w prążkowiu, zaś poziom 2-AG ulegał obniżeniu w korze przedczołowej.

Badania wskazują, że zaburzenie poziomów endokannabinoidów jest zaangażowane w patogenezę depresji, ale tkankowe poziomy lipidowych mediatorów są zależne od rodzaju modelu.

Badania były finansowane z grantu badawczego (UMO-2012/05/B/NZ7/02589) Narodowego Centrum Nauki w Krakowie oraz z badań statutowych (K/ZDS/00-1425) Uniwersytetu Jagiellońskiego.

BOGNA SMIAŁEK-MAZGAJ*, JERZY A. SOBAŃSKI*, KRZYSZTOF RUTKOWSKI*,
EDYTA DEMBIŃSKA*, MICHAŁ MIELIMĄKA*, ŁUKASZ MÜLDNER-
-NIECKOWSKI*, KATARZYNA CYRANKA*, KATARZYNA KLASA**

OBJAWY DYSOCJACYJNE JAKO PREDYKTORY SKUTECZNOŚCI INTENSYWNEJ PSYCHOTERAPII PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI NERWICOWYMI I ZABURZENIAMI OSOBOWOŚCI

AFILIACJA: * Katedra Psychoterapii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Psychoterapii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Cel: Oszacowanie wartości predykcyjnej objawów dysocjacyjnych w kontekście efektywności psychoterapii zaburzeń nerwicowych i zaburzeń osobowości.

Metodyka: Wyniki intensywnego leczenia psychoterapią w oddziale dziennym oceniano za pomocą testów osobowości oraz kwestionariuszy objawowych. Analiza powiązań pomiędzy wynikami przed terapią i po terapii a objawami dysocjacyjnymi została przeprowadzona za pomocą analiz regresji logistycznej, prowadzących do oszacowania współczynników OR i ich 95% przedziałów ufności.

Wyniki: Różne miary poprawy objawowej oraz poprawy w zakresie osobowości są w różny sposób powiązane z poszczególnymi objawami dysocjacyjnymi, jak również z ogólnym nasileniem tych objawów. Wśród objawów dysocjacyjnych zgłaszanych przed leczeniem kilka wydaje się powiązanych z istotnie wyższym ryzykiem niekorzystnego wyniku psychoterapii – są to: problemy z koncentracją (OR=2,73; 95% CI 1,44–5,17), problemy z pamięcią (OR=2,15 95% CI 1,46–3,16), roztargnienie (OR=2,08 CI 1,27–3,38).

Wnioski: Wyniki badania pilotażowego sugerują istnienie pewnych powiązań pomiędzy objawami dysocjacyjnymi zgłaszanymi przed leczeniem a wynikami leczenia intensywną psychoterapią. Objawy zidentyfikowane jako najbardziej istotnie związane z niekorzystnymi wynikami terapii to problemy z pamięcią i koncentracją.

AGNIESZKA SROKA*, TOMASZ GOSIEWSKI*, DOMINIKA SALAMON*,
AGNIESZKA LUDWIG-GAŁĘZOWSKA**, PIOTR RADKOWSKI***,
PIOTR MAJOR****, MACIEJ STANEK****, MACIEJ MATŁOK****,
PAWEŁ WOLKOW***, MACIEJ T. MAŁECKI**, MAŁGORZATA BULANDA*

ANALIZA JAKOŚCIOWA FLORY BAKTERYJNEJ BIOPTATÓW Z DWUNASTNICY U PACJENTÓW Z OTYŁOŚCIĄ I CUKRZYCĄ TYPU 2 Z ZASTOSOWANIEM SEKWENCJONOWANIA NOWEJ GENERACJI (NGS)

AFILIACJA: * Katedra Mikrobiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Ośrodek Genomiki Medycznej Omicron, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; **** II Katedra i Klinika Chirurgii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia: Pacjenci z otyłością i cukrzycą typu 2 wykazują odmienny skład jakościowy bakteryjnej flory, zasiedlającej początkowy odcinek jelita cienkiego.

Cele: Celem pracy była ocena jakościowa oraz porównanie głównych typów bakteryjnej flory, pochodzącej z wycinków dwunastnicy w grupach pacjentów z cukrzycą typu 2, otyłością oraz w grupie kontrolnej z zastosowaniem sekwencjatora nowej generacji.

Metodyka: Materiałem poddanym badaniom były wycinki dwunastnicy pobrane za pomocą gastroskopu od 38 dorosłych pacjentów:

- z otyłością bez cukrzycy typu 2 (n=19), (I)
- z cukrzycą typu 2 i otyłością (n=8), (II)
- bez cukrzycy typu 2, z prawidłową masą ciała (n=11), (K)

Z pobranych fragmentów izolowano i amplifikowano DNA metodą PCR. Analizę metagenomiczną przeprowadzono w oparciu o protokół i platformę do sekwencjonowania MiSeq (Illumina).

Wyniki: Dominujące we wszystkich trzech grupach są bakterie należące do typów: *Firmicutes* (41,6%) i *Proteobacteria* (40,4%), pozostałe to: *Acinobacteria* (9,5%), *Fusobacteria* (3,8%) oraz *Bacteroidetes* (2,5%). W grupie (II) procentowa zawartość bakterii należących do typów *Proteobacteria* i *Firmicutes* różni się istotnie statystycznie w porównaniu do grupy (K). Nie zaobserwowano takich różnic, gdy porównywano grupy (I) i (II).

Wnioski: W przeprowadzonych badaniach charakterystyczny dla grupy (II) jest procentowy spadek bakterii należących do typu *Firmicutes* oraz wzrost *Proteobacteria*. Procentowy rozkład głównych typów bakterii w grupie (I) jest zbliżo-

ny do występującego w grupie (II). Różnice istotne statystycznie występują pomiędzy grupą (I) i (II) a (K).

Projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej UJ (KBET/81/B/2010) oraz był finansowany ze środków NCN (2011/03/D/NZ5/00551).

ANETA STACHOWICZ*, RAFAŁ OLSZANECKI*, MACIEJ SUSKI*,
DARIUSZ ADAMEK**, RYSZARD KOR BUT*

W PŁY W AKTYWACJI MITOCHONDRIALNEJ DEHYDRO- GENAZY ALDEHYDOWEJ (ALDH2) PRZEZ ALDA-1 NA ZMIANY NEURODEGENERACYJNE W MÓZGACH MYSZY Z WYŁĄCZONYM GENEM DLA APOLIPOPROTEINY E

AFILIACJA: * Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Ka-
tedra Patomorfologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Badania ostatnich lat wskazują na ważny udział dysfunkcji mitochondriów w rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Mitochondrialna dehydrogenaza aldehydowa (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 zmiany neurodegeneracyjne u myszy z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E (apoE^{-/-}) (zwierzęcy model wczesnych stadiów choroby Alzheimera).

Do eksperymentów użyto samic myszy apoE^{-/-} w wieku 8 tygodni. Badane były następujące grupy zwierząt: myszy dzikie (C57BL/6J) i apoE^{-/-} karmione standardową dietą oraz myszy apoE^{-/-}, którym podawano Alda-1 zmieszane z dietą bez podgrzewania, w dawce 10 mg/kg masy ciała/dzień. Do dalszych badań wykorzystano metody histologiczne, immunohistochemiczne oraz molekularne: *real-time* PCR i etykietowanie izobaryczne – iTRAQ. Długotrwała aktywacja ALDH2 przez Alda-1 spowodowała nieznaczne zmniejszenie zmian histopatologicznych obserwowanych w mózgu myszy apoE^{-/-}, co związane było ze spadkiem poziomu adduktów 4-HNE-białko w korze czołowej i osoczku krwi. Co ciekawe, w korze czołowej i hipokampie myszy apoE^{-/-} zaobserwowano spadek ekspresji genów związanych z procesami neurogenezy oraz biogenezą mitochondriów. Podawanie Alda-1 normalizowało część z powyższych zmian. Dodatkowo, w mózgach myszy apoE^{-/-} stwierdzono spadek ekspresji białek fosforylacji oksydacyjnej, białek zaangażowanych w procesy neuroplastyczności, przekaz sygnału oraz reakcje antyoksydacyjne. Natomiast administracja Alda-1 wpłynęła na zwiększenie ekspresji białek związanych z neuroplastycznością, egzocytozą neuroprzekazników oraz białek odpowiedzialnych za regulację transkrypcji genów związanych z formowaniem pamięci.

Podsumowując, podawanie Alda-1 prowadziło do poprawy obrazu histopatologicznego w mózgach myszy apoE^{-/-} oraz korzystnie wpłynęło na zmiany ekspresji genów i białek związanych z funkcją mitochondriów oraz procesami neuroplastyczności.

JOANNA STEFAN*, KATARZYNA KUŚ*, KAMIL KAMIŃSKI**,
KRZYSZTOF SZCZUBIAŁKA**, MARIA NOWAKOWSKA**, RYSZARD KORBUT*

WPLYW NOWYCH, MODYFIKOWANYCH KATIONOWO POLISACHARYDÓW NA METABOLIZM LIPIDÓW W DOŚWIADCZALNYM MODELU MIAŻDŻYCY U MYSZY APOE-KNOCKOUT

AFILIACJA: * Katedra Farmakologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Pullulan, chitozan i dekstran, polisacharydy pochodzenia naturalnego, zostały poddane chemicznej kationowej modyfikacji. Otrzymano w ten sposób biokompatybilne polimery o dobrej biodostępności: pullulan-GTMAC (Pull-GTMAC) i dekstran-GTMAC (Dex-GTMAC) oraz modyfikowany kationowo chitozan (HTCC). Zmodyfikowane polisacharydy przebadano pod kątem ich wpływu na ekspresję genów odpowiedzialnych za metabolizm lipidów w eksperymentalnym modelu miażdżycy z użyciem myszy genetycznie modyfikowanych: apoE-knock-out. Kationowe polisacharydy podawano zwierzętom *per os* w dawce 300 mg/kg m.c./dobę przez 18 tygodni wraz z paszą. Wykazano, że Pull-GTMAC powoduje znamieny statystycznie wzrost poziomu mRNA (Real-Time PCR) receptora LDL (receptor dla cząsteczek LDL) w wątrobie. Pull-GTMAC powoduje także podwyższenie ekspresji genu receptora RXRA („upregulację” receptora retinoidu X alfa), ale działanie to okazało się nieistotne statystycznie. Efektem działania dekstranu-GTMAC jest natomiast znamienne statystycznie obniżenie poziomu mRNA receptorów RXRA i statystycznie istotny wzrost ekspresji reduktazy HMG-CoA (reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A). HTCC istotnie obniża ekspresję receptorów PPARA (receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów alfa) i RXRA. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na prawdopodobny potencjał przeciwmiażdżycowy kationowych polisacharydów, wynikający z ich ingerencji w ekspresję genów metabolizmu lipidów.

JAKUB STĘPNIEWSKI, PAWEŁ RUBIŚ, PIOTR PODOLEC

UŻYTECZNOŚĆ WYBRANYCH PARAMETRÓW KLINICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH W KWALIFIKACJI CHORYCH Z OSTRĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ KRAŻENIA DO DIAGNOSTYKI INWAZYJNEJ W MOMENCIE PRZYJĘCIA DO SZPITALA

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

Wstęp: Zaostrzenie niewydolności serca (ADHF) wiąże się ze wzrostem markerów sercowych, co niekoniecznie wynika z ostrego niedokrwienia. Nie wszyscy chorzy wymagają pilnej diagnostyki inwazyjnej.

Cele: Ocena użyteczności parametrów klinicznych i biochemicznych w kwalifikacji chorych z ADHF do pilnej rewaskularyzacji (R).

Metodyka: Przeanalizowano dane 58 chorych z ADHF spełniających kryteria włączenia (podejrzanie OZW; brak uniesień odcinka ST w EKG; wywiad HF (EF $\leq$ 40%); NYHA III lub IV).

Wyniki: 36 (62%) pacjentów było w klasie III wg NYHA. Średnia EF wynosiła $27\pm 10,8\%$, a średni poziom NT-pro BNP 5253 ± 6369 pg/ml. 36 (62%) miało w wywiadzie CAD. Poziom troponiny T (hsT) wynosił $0,181\pm 0,428$ ng/ml, CKMB $28,2\pm 26,1$ U/l. Zmiana hsT (Δ hsT) i CKMB (Δ CKMB) wynosiły $0,212\pm 0,829$ i $5,25\pm 35,2$. 42 (72%) pacjentów poddano koronarografii (K). $\frac{1}{2}$ chorych poddanych K wymagało R. Pacjenci wymagający R mieli wyższy poziom hsT i CKMB ($0,428$ vs $0,044$, $p=0,009$ i 41 vs 20 , $p=0,032$). Δ hsT, Δ CKMB oraz NYHA nie różniły się pomiędzy chorymi z R i bez R ($0,012$ vs $0,7$, $p=0,09$; $5,54$ vs $26,8$, $p=0,08$; $p=0,3$). Wyściowy poziom hsT niezależnie przewidywał konieczność wykonania R (OR=1,01, 95% CI: 1,002 – 1,02; ROC=0,72, dla hsT $>0,069$ pg/ml), a brak wywiadu CAD wykluczał (OR=0,09, 95% CI: 0,01 – 0,4). Pacjenci poddani K wymagali dłuższego pobytu w szpitalu niż ci bez K (odpowiednio 7,25 vs 5,1 dni, $p=0,06$).

Wnioski: Pacjenci z ADHF mieli podwyższone markery uszkodzenia mięśnia sercowego. Blisko $\frac{2}{3}$ chorych zostało poddanych koronarografii. Spośród nich połowa nie wymagała wykonania angioplastyki naczyń wieńcowych. W tej grupie chorych czas hospitalizacji był dłuższy. Doprecyzowanie kryteriów kwalifikacyjnych do koronarografii chorych z ADHF wymaga dalszych badań.

ANETA SUDER*, JULIA NAWROT**, ANNA DZIAD*,
PATRYCJA OSTROGÓRSKA*, KATARZYNA LORENC*

ZESTAWIENIE ZABURZEŃ MOGĄCYCH WYSTĄPIĆ U NOWORODKA MATKI Z CUKRZYCĄ

AFILIACJA: * Klinika Neonatologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie; ** Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Cukrzyca ciążowa (GDM) jest jednym z najczęściej występujących powikłań w okresie ciąży i stanowi zagrożenie zarówno dla kobiety ciężarnej, jak i rozwijającego się płodu. Rozwój cukrzycy ciążowej jest zwykle bezobjawowy, dlatego zaburzenia węglowodanowe można wykryć jedynie za pomocą badania stężenia glukozy we krwi. Aktualnie prowadzone badania przesiewowe w kierunku wykrycia GDM mają istotne znaczenie, ponieważ potwierdzono, że nawet małego stopnia hiperglikemia w czasie ciąży zdecydowanie zwiększa ryzyko powikłań noworodkowych i położniczych.

W niniejszej pracy omówiono schorzenia mogące wystąpić u noworodków matek z cukrzycą, wśród których wyróżnia się: makrosomię, hipotrofię wewnątrzmaciczną, wcześniactwo, wady wrodzone, zaburzenia metaboliczne oraz urazy okołoporodowe.

Makrosomia płodów z GDM występuje z częstością ok. 25–42% i oznacza masę ciała powyżej 90. percentyla w stosunku dla masy należnej dla wieku ciążowego. Zdecydowanie rzadziej występuje przeciwstawny zespół – hipotrofia wewnątrzmaciczna, obejmująca noworodki, których masa urodzeniowa jest poniżej dziesiątego centyla siatek odpowiadających wiekowi ciążowemu i występuje u kobiet długo chorujących na cukrzycę. Wcześniactwo w grupie matek chorych na cukrzycę obejmuje 10–30% przypadków i jest wyższe niż u matek zdrowych. Noworodkom urodzonym przedwcześnie mogą towarzyszyć poważne powikłania, takie jak: niedotlenienie, krwawienia około- i dokomorowe, zespół zaburzeń oddychania i infekcje. Szacuje się, że wady rozwojowe występują w 6–9% ciąż kobiet z cukrzycą. Noworodki matek chorych na cukrzycę po porodzie narażone są na występowanie następujących zaburzeń metabolicznych: hipoglikemii (25–50%), hipokalcemii (10–50%) i hipomagnezdemii (30–75%), które manifestują się objawami ze strony OUN i układu krążenia.

Słowa kluczowe: cukrzyca ciążowa, makrosomia, hipoglikemia.

JOANNA SURAJ */**, MARIA WALCZAK */**

METODA JEDNOCZESNEGO OZNACZANIA WIELOBIAŁKOWEGO PANELU WYBRANYCH BIOMARKERÓW DYSFUNKCJI ŚRÓDBŁONKA W MATERIALE MYSIM Z ZASTOSOWANIEM TECHNIKI *micro*LC/MS-MRM

AFILIACJA: * Zakład Farmakokinetiki i Farmacji Fizycznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński

Dynamiczny rozwój zaawansowanych technik analitycznych, w szczególności spektrometrii mas, przyczynił się do rozwoju proteomiki jako wiodącego narzędzia w naukach biomedycznych i biologii molekularnej. Zastosowanie nowoczesnych metod bioanalitycznych, łączących proces trawienia enzymatycznego białek i oznaczenia ilościowe otrzymanych unikalnych i powtarzalnych sekwencji peptydowych, pozwoliło na wprowadzenie tzw. proteomiki celowanej, ukierunkowanej na identyfikację i analizę ilościową białek znanych oraz nowych, potencjalnych biomarkerów jako wczesnych wskaźników rozwoju dysfunkcji narządowej.

Celem badań było opracowanie nowoczesnego wielobiałkowego panelu, pozwalającego na wykrywanie oraz ilościowe oznaczanie wybranych białek przy pomocy precyzyjnie wyselekcjonowanych sekwencji peptydowych takich białek, jak: czynnik von Willebranda (vWF), adiponektyna (ADN), syndekan-1 (SDC-1) i rozpuszczalnych form cząsteczek adhezyjnych: cząsteczek adhezji międzykomórkowej (ICAM-1) i cząsteczek adhezji komórkowej naczyń (VCAM-1) w materiale mysim.

W badaniu wytypowane sekwencje peptydowe oznaczano za pomocą techniki *micro*LC/MS-MRM. Specyfiką opracowanej metodyki było wieloetapowe przygotowanie próbek biologicznych. Użyta strategia uwzględniała pomiar całkowitego stężenia białka w badanej próbce, trawienie enzymatyczne próbki trypsyną wieprzową, odsalanie próbek za pomocą *micro*SPE oraz oznaczenia LC/MS. Zastosowano połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (*micro*LC, Dionex Ultimate 3000) sprzężonej z wysokoczułym spektrometrem mas (QTRAP 5500, ABSciex) wyposażonym w źródło jonów typu electrospray (ESI).

W przyszłości opracowana metodyka jednoczesnego oznaczania wielu markerów w jednej próbce będzie służyła jako narzędzie diagnostyczne licznych schorzeń przebiegających w następstwie uszkodzenia śródbłonna naczyniowego do

prognozowania przebiegu chorób, a także jako narzędzie w procesie skutecznego monitorowania i indywidualizacji farmakoterapii.

Opracowaną metodykę zastosowano do oceny profilu wybranych biomarkerów w osoczu myszy zdrowych, myszy z mutacją punktową w receptorze leptyny (db/db- model cukrzycowy) oraz myszy miażdżycowych (ApoE-knock-out mice).

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

BARTŁOMIEJ SZPYRA, GRZEGORZ KWIATKOWSKI, ALEKSANDER KONTUREK

PROSPEKTYWNA ANALIZA ŚRÓDOPERACYJNEJ LOKALNEJ ANESTEZJI Z WYKORZYSTANIEM ROPIWAKAINY ORAZ ADRENALINY U PACJENTÓW PODDAWANYCH ALLOPLASTYCE STAWU BIODROWEGO I KOLANOWEGO

AFILIACJA: Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie, Oddział Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu

Wstęp: Celem pracy była prospektywna, randomizowana ocena zastosowania śródoperacyjnego znieczulenia miejscowego ropiwakainą i adrenaliną podczas alloplastyki stawu kolanowego oraz biodrowego.

Metody: Analizowano 62 pacjentów zakwalifikowanych do operacji alloplastyki biodra i kolana. Pacjenci zostali zrandomizowani odpowiednio do grupy interwencyjnej A: otrzymującej śródoperacyjne znieczulenie nasiękowe złożone z 30 mg ropiwakainy oraz 1,5 mg adrenaliny oraz grupy B: niepoddawanej dodatkowym interwencjom. 35 pacjentów przygotowywanych do alloplastyki biodra i 27 przygotowywanych do alloplastyki kolana zostało przydzielonych do grup A i B. Analizowano poziom bólu okołoperacyjnego oraz zużycie leków przeciwbólowych.

Wyniki: Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w zużyciu leków przeciwbólowych. Częściej stosowano paracetamol w grupie interwencyjnej w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w przedoperacyjnym poziomie bólu w grupie interwencyjnej vs grupa kontrolna (5,6 vs 5,4 $p=0,655$, $p<0,05$). Zaobserwowano istotnie statystycznie mniejszy średni poziom bólu w dobie operacyjnej (5,5 vs 7,2 wg VAS, $p=0,000$, $p<0,05$) oraz istotne statystycznie różnice poziomu bólu przed zabiegiem w porównaniu do bólu w dobie operacyjnej (0 vs 1,6 wg VAS, $p=0,000$, $p<0,05$) i istotne statystycznie różnice poziomu bólu w siódmej dobie pooperacyjnej w porównaniu do bólu przed zabiegiem operacyjnym (-0,4 vs -0,1 wg VAS, $p=0,029$, $p<0,05$). W siódmej dobie pooperacyjnej nie zaobserwowano różnic w średnim poziomie bólu w obu grupach (5,2 vs 5,5 $p=0,244$, $p<0,05$).

Wnioski: Stosowanie śródoperacyjnej lokalnej anestezji z wykorzystaniem ropiwakainy oraz adrenaliny zmniejsza odczuwany przez pacjentów poziom bólu, natomiast nie wpływa na zużycie leków przeciwbólowych.

MAŁGORZATA SZURGOT, WALENTYNA BALWIERZ

ANALIZA CZYNNIKÓW ROKOWNICZYCH U DZIECI ZE ZWOJAKIEM ZARODKOWYM WSPÓŁCZULNYM

AFILIACJA: Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, 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 177 dzieci z NBL leczonych w Klinice Onkologii i Hematologii Dziecięcej w Krakowie w latach 1991–2014. Dane kliniczne są opracowywane na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej. W analizach uwzględniono: dane demograficzne, lokalizację guza, stopień zaawansowania, rodzaj przerzutów, typ budowy histologicznej, markery biochemiczne i genetyczne oraz badania obrazowe. Na podstawie przeprowadzonych analiz zostaną zdefiniowane nowe niekorzystne czynniki rokownicze w NBL.

Wyniki: Wśród 177 badanych dzieci (średni wiek 3,1 lat) więcej było chłopców (57,6%) i dzieci powyżej 1. roku życia (67,8%). Stopnie zaawansowania 1., 2., 3., 4. i 4s stwierdzono odpowiednio u: 13 (7,4%), 20 (11,3%), 51 (28,8%), 79 (44,6%) i 14 (7,9%) dzieci. Guz pierwotny najczęściej (79,1%) występował w jamie brzusznej. Wśród 152 ocenionych guzów, amplifikację genu MYCN stwierdzono w 24 (15,8%), najczęściej (79,2%) w 4. stopniu. Spośród 132 ocenionych guzów 51 miało korzystną, 81 niekorzystną budowę histopatologiczną. W badanej grupie zmarło 57 dzieci (32,2%), wznowa choroby wystąpiła u 41 (23,2%).

Podsumowanie: Zbadana dotychczas grupa pacjentów była zróżnicowana pod względem czynników klinicznych, biologicznych i histologicznych. Wstępne analizy wskazują, że częstość niekorzystnych czynników rokowniczych w badanej populacji jest porównywalna z danymi z piśmiennictwa.

SYLWIA ŚWIĄTEK*, JOANNA I. LOCH**,
KRZYSZTOF LEWIŃSKI**, BARBARA JACHIMSKA*

FUNKCJONALNE WARSTWY WOŁOWEJ β-LAKTOGLOBULINY JAKO NOŚNIKI BIOMOLEKUŁ

AFILIACJA: * Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków; ** Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Wołowa β-lakoglobulina (LGB) jest globularnym białkiem, którego funkcja nie została jednoznacznie poznana, jednakże przypuszcza się, że LGB jest transportem hydrofobowych substancji, takich jak retinol, witamina D3 czy kwasy tłuszczowe, co pozwala na jej potencjalne zastosowanie jako nośnika biomolekuł [1]. Z badań literaturowych wynika, iż oddziaływanie LGB z ligandami silnie zależy od pH roztworu i wynika z przejścia Tanforda [2]. Główne miejsce wiążące w LGB zlokalizowane jest we wnętrzu β-baryłki, drugie umiejscowione jest na powierzchni cząsteczki [3]. Badano efektywność tworzenia kompleksów LGB z tetrakainą (TCA) – lekiem stosowanym w anestezjologii. Budowa strukturalna TCA jest zbliżona do naturalnych ligandów LGB, takich kwasy tłuszczowe. Wszystkie mają budowę liniową. Ze względu na podobieństwo strukturalne oraz rozmiar wiązek ten został wybrany jako potencjalny ligand LGB o znaczeniu biomedycznym. Przeprowadzono charakterystykę fizykochemiczną zarówno LGB, jak i kompleksów LGB-TCA. Wyznaczono potencjał zeta oraz punkt izoelektryczny, wykorzystując metodę ruchliwości elektroforetycznej z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej. Zmierzone widma UV-vis dla LGB, TCA oraz kompleksów LGB-TCA. Efektywność adsorpcji LGB rejestrowano, stosując mikrowagę kwarcową z monitorowaniem dyssypacji energii (QCM-D). Zbadano korelację efektywności adsorpcji LGB (masę oraz grubość warstw białkowych) na powierzchni złota z pH i siłą jonową roztworu. Określono optymalne warunki dla wiązania ligandów przez LGB. Jednocześnie przeprowadzone badania wykazały, że utworzone warstwy białkowe na sensorze QCM mogą być wykorzystane do badania oddziaływań białka z wybranymi hydrofobowymi ligandami, takimi jak tetrakaina.

Bibliografia

1. G. Kontopidis, *J. Dairy Sci.*, 87 (2004), 785–796.
2. B. Y. Qin, *Biochemistry*, 37 (1998), 14014–14023.
3. M-C. Yang, *Proteins*, 71 (2008), 1197–1210.

Podziękowania: Badania sfinansowane przez NCN: grant OPUS4 2012/07/B/ST5/00767.

ANNA ŚWITOŃ, KAMILA ROGUSZ

WPLYW SPRAWNOŚCI FIZYCZNEJ NA WYSTĘPOWANIE DEPRESJI U OSÓB STARSZYCH

AFILIACJA: Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Procesy starzenia wiążą się z występowaniem „wielochorobowości”, która w znacznym stopniu przyczynia się do upośledzenia biologicznego funkcjonowania chorych, pogłębiania się niesprawności, w konsekwencji doprowadzając do kalectwa oraz zmian zachowania w sferze psychicznej i społecznej, tym samym obniżając jakość życia. Osoby starsze narażone są na występowanie zespołów depresyjnych, które należą do grupy tzw. wielkich problemów geriatrycznych ze względu na znaczne upośledzenie funkcjonowania nie tylko w aspekcie psychicznym, ale także fizycznym.

Założenia i cel pracy: Celem pracy była ocena sprawności fizycznej oraz występowania depresji u osób starszych zamieszkujących dom pomocy społecznej.

Materiały i metody: Badaniem objęto 30 pensjonariuszy jednego z krakowskich domów pomocy społecznej. Kryterium włączenia stanowiło: wiek powyżej 65. roku życia, logiczny kontakt z pacjentem oraz samodzielność w poruszaniu się. Badanie kliniczne obejmowało wielowymiarową ocenę sprawności fizycznej za pomocą Senior Fitness Test. Oceniono ponadto ryzyko wystąpienia oraz stopień depresji za pomocą Geriatrycznej Skali Oceny Depresji („Wersja 15-punktowa” wg Yesavage’a JA).

Wyniki: Wyniki przeprowadzonych badań wykazały ograniczenia w sprawności fizycznej pensjonariuszy, a także ryzyko wystąpienia depresji. Pensjonariusze z niskim wynikiem sprawności fizycznej byli bardziej narażeni na występowanie zespołów depresyjnych w stosunku do osób, które wykazywały się większą sprawnością fizyczną.

Wnioski: Postępujące procesy starzenia powodują obniżenie sprawności fizycznej i funkcjonalnej osób starszych, co skutkuje zmianami w sferze psychicznej i społecznej, zwiększając ryzyko pojawienia się zespołów depresyjnych. Dlatego też opieka nad chorymi powinna uwzględniać wszystkie aspekty niesprawności, które dotyczą osób starszych.

KAROLINA TOKARCZYK, BARBARA JACHIMSKA

ODDZIAŁYWANIA ALBUMINY Z DENDRYMERAMI TYPU PAMAM

AFILIACJA: Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków

Celem niniejszej pracy było określenie natury oddziaływań dendrymerów poli(amidoaminowych) PAMAM G6 z białkami osocza. Dendrymery, ze względu na unikalną strukturę oraz fizykochemiczne właściwości, stały się popularną grupą polimerów sferycznych, obecnie szeroko badaną pod względem zastosowań biomedycznych. Mogą być wykorzystywane jako czynniki antybakteryjne, antygrzybiczne i antywirusowe, a także jako nośniki farmakoforowe. Ze względu na znaczny rozwój nanochemii ta specyficzna grupa nanomerycznych związków makrocząsteczkowych może stać się podstawą nanomedycyny, zastępując wiele konwencjonalnych metod leczenia.

Zastosowanie zróżnicowanych metodologii do analizy struktur dendrymerów tworzących się na powierzchni adsorpcyjnej, między innymi wieloparametrowego powierzchniowego rezonansu plazmonów (MP-SPR), mikrowagi kwarcowej z monitorowaną dysypacją energii (QCM-D), mikroskopii sił atomowych (AFM) oraz rentgenowskiego spektrometru fotoelektronów (XPS), umożliwiło ilościowy opis kinetyki adsorpcji tych makrocząsteczek oraz wyznaczenie korelacji pomiędzy strukturą dendrymerów a efektywnym ładunkiem cząsteczki, morfologią i stabilnością tworzonych kompleksów dendrymer/białko osocza.

Skorelowanie stopnia jonizacji dendrymerów z własnościami monowarstw dendrymerów otrzymane z zastosowaniem metody QCM-D oraz MP-SPR pozwoliło otrzymać informacje na temat mechanizmu odwracalnego pęcznienia struktury dendrymerów typu PAMAM. Pomiaru te wyraźnie wskazują na istotny wpływ pH oraz siły jonowej na konformację struktury cząsteczki dendrymeru spowodowaną zmianą stopnia jonizacji grup aminowych.

Badania te mają ponadto ważny aspekt aplikacyjny, ponieważ mechanizmy oddziaływań dendrymerów z białkami osocza nie są jeszcze precyzyjnie opracowane. Otrzymane wyniki przyczynią się do lepszego zrozumienia fizykochemicznych mechanizmów formowania kompleksów dendrymery/białko o kontrolowanej architekturze i funkcjonalności. Według wielu opinii wielofunkcyjne makrocząsteczki o wymiarach manometrycznych będą w przyszłości podstawą medycyny i w wielu przypadkach zastąpią obecnie stosowane nośniki leków.

Praca finansowana z grantu NCN OPUS4 2012/07/B/ST5/00767.

ALEKSANDER TRĄBKA-ZAWICKI*, GRZEGORZ GAJOS**,
BARTŁOMIEJ GUZIK*, KRZYSZTOF ŻMUDKA*

FUNKCJE PŁYTEK KRWI U PACJENTÓW PO NAGŁYM ZATRZYMANIU KRĄŻENIA LECZONYCH INTERWENCYJNIE W WARUNKACH HIPOTERMII TERAPEUTYCZNEJ

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

Wstęp: Wytyczne towarzystw naukowych zalecają u pacjentów leczonych interwencyjnie z wszczepieniem stentów naczyniowych (PCI) stosowanie podwójnego leczenia przeciwplatekowego (DAPT) celem zapobiegania powikłaniom zakrzepowym oraz u pacjentów po nagłym zatrzymaniu krążenia (NZK) stosowanie hipotermii terapeutycznej (MTH).

Cel: Celem badania była ocena efektu działania DAPT w warunkach MTH zastosowanej u pacjentów po NZK.

Metodyka: Do badania włączono 12 kolejnych pacjentów leczonych pierwotną PCI z powodu ostrego zespołu wieńcowego powikłanego pozaszpitalnym NZK, u których zastosowano MTH. Każdemu pacjentowi około zabiegowo podano wysycającą dawkę ASA 300 mg i Tikagreloru 180 mg, a następnie kontynuowano DAPT. Funkcje płytek krwi (PLT) oceniano za pomocą agregometrii optycznej w trzech odstępach czasowych: przed podaniem nasycającej dawki DAPT, przy średniej temp. ciała $35,4 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ (Basal^{35,4°C}), w trakcie stosowania MTH, przy średniej temp. ciała $32,3 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ (MTH^{32,3°C}) oraz w normotermii (NT), przy średniej temp. ciała $36,7 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (NT^{36,7°C}). Kryterium skutecznego zahamowania funkcji PLT przez ASA był próg poniżej 20% reaktywności PLT, dla Tikagreloru próg poniżej 50% reaktywności PLT.

Wyniki: Średni odsetek reaktywności PLT po zastosowanym leczeniu ASA między pomiarami czasowymi Basal^{35,4°C} vs MTH^{32,3°C} zmniejszył się z $36 \pm 34\%$ do $2 \pm 1\%$; ($p < 0,05$). W okresie normotermii średni odsetek reaktywności PLT wynosił $2 \pm 1\%$. Stwierdzono skuteczne zahamowanie PLT przez ASA w okresie MTH i normotermii u wszystkich pacjentów. W wyniku zastosowanego leczenia Tikagrelorem reaktywność PLT między pomiarami czasowymi Basal^{35,4°C} vs MTH^{32,3°C} zmniejszyła się z $62 \pm 17\%$ do $25 \pm 22\%$; ($p < 0,05$). U dwóch pacjentów (16%) w okresie MTH nie uzyskano skutecznego zahamowania funkcji PLT po wysy-

cającej dawce Tikagreloru. Po osiągnięciu normotermii wykazano skuteczne zahamowanie PLT przez Tikagrelor u wszystkich pacjentów ze średnim odsetkiem reaktywności PLT $25 \pm 9\%$.

Wnioski: U nieprzytomnych pacjentów po NZK leczonych pierwotną PCI w warunkach obniżonej temperatury dochodzi do zmniejszenia agregacji PLT po zastosowaniu ASA i Tikagreloru. Jednak u dwóch pacjentów w okresie MTH nie uzyskano skutecznego zahamowania PLT po zastosowanym leczeniu Tikagrelorem. W okresie hipotermii i w trakcie całej hospitalizacji nie stwierdzono ostrej zakrzepicy w stencie.

MARCIN WALIGÓRA, GRZEGORZ KOPEĆ, KAMIL JONAS, PATRYCJA PIECZKA,
ANNA TYRKA, PIOTR PODOLEC

PRZYDATNOŚĆ EKG DO OCENY POWIĘKSZENIA PRAWEGO PRZEDSIONKA U PACJENTÓW Z IDIOPATYCZNYM TĘTNICZYM NADCIŚNIENIEM PŁUCNYM

AFILIACJA: Klinika Chorób Serca i Naczyń, Instytut Kardiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wstęp: Powiększenie prawego przedsionka (RAE) często towarzyszy nadciśnieniu płucnemu, a przesiewowo można go poszukiwać za pomocą badania elektrokardiograficznego. Celem pracy była ocena przydatności EKG w ocenie występowania przerostu prawego przedsionka u pacjentów z idiopatycznym tętniczym nadciśnieniem płucnym oraz weryfikacja zalecanych kryteriów w odniesieniu do badania referencyjnego.

Metodyka: Do badania włączono chorych z rozpoznanym idiopatycznym tętniczym nadciśnieniem płucnym z rytmem zatokowym, u których możliwe było wykonanie rezonansu magnetycznego serca (cMR). RAE definiowano jako powiększenie jego indeksowanej $>5 \text{ cm}^2/\text{m}^2$ w cMR. W elektrokardiogramie przerost definiowano jako amplitudę dodatnich załameków $P > 0,25 \text{ mV}$ w II oraz $> 0,15 \text{ mV}$ w V1.

Wyniki: Do badania włączono 38 kolejnych pacjentów z idiopatycznym tętniczym nadciśnieniem płucnym (26; 68,4% kobiet) w wieku $45,3 \pm 15,8$ lat. Amplituda załamka P wynosiła odpowiednio $0,168 \pm 0,07 \text{ mV}$ w odprowadzeniu II oraz $0,094 \pm 0,048 \text{ mV}$ w V1. Średnia powierzchnia prawego przedsionka wynosiła $17,76 \pm 5,88 \text{ cm}^2/\text{m}^2$. Przynajmniej jedno z elektrokardiograficznych kryteriów RAD występowało u 13 pacjentów, podczas gdy obiektywnie RAD stwierdzono na podstawie cMR u 25 pacjentów. Kryterium RAE w II odprowadzeniu cechuje się niską czułością (32%) i wartością predykcyjną ujemną (43%) oraz wysoką swoistością (100%) i wartością predykcyjną dodatnią (100%). Podobnie kryterium RAE w V1 cechuje się niską czułością (24%) i wartością predykcyjną ujemną (38,7%) oraz wysoką swoistością (92%) i wartością predykcyjną dodatnią (85,7%).

Wnioski: Zalecane kryteria przerostu prawego przedsionka cechują się dużą swoistością oraz wartością predykcyjną dodatnią i niską czułością oraz wartością predykcyjną ujemną w rozpoznawaniu stanu faktycznego. Zwraca uwagę duży odsetek wyników fałszywie ujemnych.

ANNA WASIK*, ANNA PARTYKA*, MAGDALENA JASTRZĘBSKA-WIĘSEK*,
MARCIN KOŁACZKOWSKI*/**, ANNA WESOŁOWSKA*

ANKSJOLITYCZNA AKTYWNOŚĆ ADN-2013, NOWEJ POCHODNEJ INDOLOBENZAMIDU, W ZWIERZĘCYCH MODELACH LĘKU

AFILIACJA: * Zakład Farmacji Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Firma Farmaceutyczna Adamed Sp. z o.o., Czosnów k/Warszawy

Optymalizacja farmakoterapii schizofrenii stanowi duże wyzwanie dla badaczy i klinicystów zarówno ze względu na zróżnicowany i kompleksowy obraz psychopatologiczny choroby, jak i częste współwystępowanie innych zaburzeń psychicznych, np. lękowych czy depresyjnych. Jednym z postulowanych rozwiązań jest poszukiwanie nowych leków przeciwpsychotycznych z dodatkową aktywnością w kierunku ww. objawów afektywnych.

ADN-2013, nowy analog aripiprazolu, będący pochodną indolobenzamidu, ze względu na swój unikalny multireceptorowy profil powinowactwa względem receptorów dopaminowych i serotoninowych oraz wykazaną w modelach zwierzęcych aktywność przeciwpsychotyczną, wydaje się obiecującą strukturą.

Celem niniejszej pracy było określenie potencjalnej aktywności przeciwlękowej ADN-2013 w zwierzęcych modelach lęku: teście konfliktu wg Vogla i podniesionego labiryntu krzyżowego u szczurów.

Wykazano, iż ADN-2013, badany w zakresie dawek 0,3–3 mg/kg, w dawce 1 i 3 mg/kg powoduje istotny wzrost liczby prób picia wody karanych prądem elektrycznym i liczby liżnięć u szczurów, odpowiednio o 380 i 321% dla prób oraz 370 i 309 % dla liżnięć. Badanie kontrolne, oceniające wpływ badanego związku, podanego w aktywnych dawkach, na pragnienie i wrażliwość bólową, potwierdziło specyficzność uzyskanego efektu anksjolitycznego.

ADN-2013, podany w dawce 0,03 mg/kg, powoduje istotne zwiększenie czasu spędzonego w ramionach otwartych podniesionego labiryntu krzyżowego (o 209%) oraz liczby wejść do ramion otwartych (o 194 %). W aktywnej dawce testowany związek nie wpływa znamienne na spontaniczną aktywność eksploracyjną szczurów.

Podsumowując, ADN-2013 wykazuje specyficzną aktywność przeciwlękową w szczurzych modelach lęku, wykorzystujących odmienne bodźce awersyjne. Dalsze badania nad mechanizmami leżącymi u podłoża obserwowanych efektów są w toku.

Badania zostały sfinansowane z funduszy UJCM w ramach projektów: K/ZDS/004121 i K/DSC/001980)

AGATA WASILEWSKA, ANNA STOCHEL-GAUDYN, KRZYSZTOF FYDEREK

WPLYW WYŁĄCZNEGO LECZENIA ŻYWIENIOWEGO INDUKUJĄCEGO REMISJĘ NA SKŁAD MASY CIAŁA PACJENTÓW PEDIATRYCZNYCH Z NOWO ROZPOZNANĄ CHOROBAŁĄ LEŚNIEWSKIEGO-CROHNA

AFILIACJA: Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywnienia, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Choroba Leśniowskiego-Crohna w 20% przypadków rozpoczyna się w dzieciństwie i jest związana z niedożywieniem, zaburzeniami wzrastania, opóźnieniem rozwoju płciowego oraz obniżeniem gęstości mineralnej kości. Już w momencie rozpoznania 20–67% dzieci prezentuje niedobory masy ciała i zaburzenie składu masy ciała.

Cel pracy: Analiza składu masy ciała u pacjentów w momencie rozpoznania choroby Leśniowskiego-Crohna oraz po 6-tygodniowym kursie wyłącznego leczenia żywieniowego.

Materiał i metody: Badaniem objęto 30 pacjentów z nowo rozpoznaną chorobą Crohna: 18 chłopców i 12 dziewczynek (7 do 17 lat), średnia wieku wynosiła 14 ($14,1 \pm 2,68$). U wszystkich pacjentów indukcję remisji uzyskano 6-tygodniowym kursem wyłącznego leczenia żywieniowego. W momencie rozpoznania oraz po uzyskaniu remisji wykonano badanie bioimpedancji elektrycznej oraz pomiary antropometryczne.

Wyniki: U 29 dzieci występowała łagodna postać choroby, u 1 dziewczynki postać umiarkowana. W momencie rozpoznania BMI wynosiło średnio 17 ($16,8 \pm 2,67$), u 26 pacjentów rozpoznano niedobór masy do wzrostu (śr. -16%), u 8 dzieci niedobór wzrostu do wieku. Po zakończeniu leczenia żywieniowego BMI wynosiło średnio 19 ($18,7 \pm 2,86$), niedobór masy do wzrostu występował u 17 pacjentów (śr. -12,7%). U 19 pacjentów uzyskano wzrost beztłuszczowej masy ciała średnio o 6,2% ($\pm 3,97$), u 16 pacjentów wzrost wody wewnątrzkomórkowej średnio o 8% ($7,7 \pm 4,57$).

Wnioski: Leczenie żywieniowe indukujące remisję wpływa na normalizację zaburzeń składu masy ciała u pacjentów pediatrycznych.

KATARZYNA WAWRZYCKA-ADAMCZYK, JOANNA KOSAŁKA,
ANNA WŁUDARCZYK, BOGDAN JAKIELA, JACEK MUSIAŁ

FENOTYP LIMFOCYTÓW T CD4+ W ZAOSTRZENIU ZIARNINIAKOWATOŚCI Z ZAPALENIEM NACZYŃ (GPA)

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

Ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (GPA) należy do chorób autoimmunologicznych z obecnością przeciwciał przeciw ziarnistościom neutrofili. Patogeneza choroby jest złożona, a jednym z zaburzeń układu immunologicznego obserwowanych u chorych z GPA jest nieprawidłowa aktywacja limfocytów T. Funkcja poszczególnych komórek tej grupy zależy między innymi od ekspresji receptorów chemokinowych na ich powierzchni oraz profilu produkowanych przez nie cytokin.

Celem badania było sprawdzenie, czy zaburzenia na poziomie podklas limfocytów T mają związek z zaostrzeniami GPA.

Metodą cytometrii przepływowej przeanalizowano podtypy limfocytów T pod kątem ekspresji antygenów: CD4, CD8, CCR7, CD45RA i receptorów chemokinowych: CCR7, CXCR3, CCR4, CCR6, CCR10 w grupach: 20 pacjentów w zaostrzeniu GPA oraz 23 w remisji choroby. Powyższe dane zestawiono z danymi klinicznymi i laboratoryjnymi.

U chorych w zaostrzeniu GPA w porównaniu do grupy bez cech aktywności choroby stwierdzono zwiększony odsetek dziewiczych limfocytów CD4+ (odpowiednio: mediana 35,95% vs 21,2%) oraz zmniejszony odsetek limfocytów T EM CD4+ (odpowiednio: mediana 22,85% vs 34,7%). Pomędzy wskazanymi grupami pacjentów nie wykazano różnic w obrazie odsetkowym poszczególnych podtypów limfocytów pomocniczych. Zaobserwowano związek pomiędzy odsetkiem limfocytów T EM CD4+ a czasem trwania choroby (dodatnia korelacja, $r=0,38$; $p<0,05$) i wskaźnikiem aktywności choroby BVAS (korelacja ujemna, $r=-0,38$; $p<0,05$).

Wyniki badania sugerują, że fenotypy komórek CD4+ w grupie chorych z zaostrzeniem GPA i w remisji choroby różnią się od siebie – obserwowano przesunięcia proporcji pomiędzy limfocytami dziewiczymi a komórkami efektorowymi pamięci. Może to mieć związek z różnicą w średniej długości trwania choroby pomiędzy obiema grupami.

MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ

AKRALNE ZMIANY MELANOCYTOWE W POPULACJI POLSKIEJ

AFILIACJA: Katedra i Klinika Dermatologii, 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 pogrubiły i wieloskładnikowy.

Cel pracy: Analiza porównawcza obrazów wzorców dermoskopowych występujących w okolicach akralnych u pacjentów badanych w Klinice Dermatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie gromadzonych w latach 2008–2014.

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.

Wyniki: Na podeszwach stóp najczęściej występowały kolejno wzorce dermoskopowe: wzorec typu kratka, wzorec włókienkowy, wzorec równoległy. Wzorec włókienkowy występował najczęściej w okolicy niosącej ciężar, wzorec typu kratka w okolicy łuku, wzorec równoległy w okolicach innych. Dodatkowo wykryto wzorce przemawiające za złośliwym charakterem zmian. Na dłoniach wyniki były następujące: najczęstszy był wzorec typu kratka, kolejny wzorec równoległy oraz siateczkowaty. $\frac{2}{3}$ zmian melanocytowych zlokalizowane były na skórze powierzchni dłoni, $\frac{1}{3}$ 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 oraz zależność typu wzorca od wieku pacjentów.

IGA WĄSOWSKA

WPLYW POZIOMU WYKSZTAŁCENIA PIELĘGNIAREK NA WYSTĘPOWANIE BARIER WE WDRAŻANIU EVIDENCE-BASED NURSING PRACTICE (EBNP). BADANIA WSTĘPNE

AFILIACJA: Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Pielęgniarstwa Klinicznego, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Z metaanaliz wynika, że pacjenci otrzymujący opiekę pielęgniarską opartą o wiarygodne doniesienia naukowe mają lepsze wyniki niż ci, którzy otrzymują opiekę bazującą na tradycyjnej praktyce. Niemniej jednak wdrożenie Evidence-Based Nursing (EBN) do praktyki nadal wydaje się problematyczne i nie jest wystarczająco promowane w środowisku pielęgniarskim. Główną przeszkodą do pokonania we wdrażaniu EBN w szerszym zakresie jest nazwanie i zidentyfikowanie podstawowych czynników ograniczających praktykowanie pielęgnowania opartego na dowodach naukowych.

Cel: Celem pracy było zbadanie wpływu poziomu wykształcenia pielęgniarek na występowanie barier we wdrażaniu EBN do codziennej praktyki.

Materiały i metody: Badania przeprowadzono metodą sondażu diagnostycznego, z wykorzystaniem autorskiego kwestionariusza ankiety na podstawie skali The Barriers to Research Utilization (Funk, Champagne 2010). W badaniach wstępnych wzięło udział 100 pielęgniarek z jednego z krakowskich szpitali.

Wyniki: Zaobserwowano silną korelację pomiędzy poziomem wykształcenia a znajomością koncepcji EBN (zdecydowanie znane lub znane: tytuł magistra – 93%; wykształcenie średnie – 8,5%) ($p < 0,001$). Badani z wykształceniem średnim znacznie częściej zgadzali się, że doniesienia naukowe i literatura są trudno dostępne (57%), w porównaniu z osobami z wykształceniem wyższym magisterskim – 4% ($p < 0,001$). Ponad 51% badanych z wykształceniem średnim twierdzi, że następstwa EBN są niejasne dla praktyki, badani z tytułem magistra twierdzą tak w 7% ($p < 0,001$). Prawie wszyscy respondenci z wykształceniem średnim uważają, że nie czują się zdolni do oceny wiarygodności badań (96%), respondenci z tytułem magistra twierdzą tak w 25% ($p < 0,01$). Respondenci z wykształceniem średnim znacznie częściej (85%) uważają, że współpracownicy i przełożeni nie będą chcieli pomóc w implementacji EBN w miejscu pracy, w porównaniu z magistrami – 14% ($p < 0,0001$).

Wnioski: Pielęgniarki z wykształceniem średnim nie wiedzą, czym jest koncepcja EBN. Pielęgniarki z wykształceniem średnim dostrzegają też więcej barier dla realizacji EBN w codziennej praktyce niż pielęgniarki z wykształceniem magisterskim.

BARBARA WIDLIŃSKA, MARCIN WALIGÓRA,
GRZEGORZ KOPEĆ, PIOTR PODOLEC

FUNKCJA PRAWEJ KOMORY A WYDOLNOŚĆ PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁYM ZAKRZEPOWO- -ZATOROWYM NADCIŚNIENIEM PŁUCNYM (CTEPH)

AFILIACJA: Oddział Kliniczny Chorób Serca i Naczyń, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Cel: Zakrzepowo-zatorowe nadciśnienie płucne to podwyższone ciśnienie w tętnicy płucnej spowodowane przewlekłym zamknięciem tętnic łożyska płucnego przez zorganizowane skrzepliny. Prowadzi ono do przerostu i zaburzeń funkcji prawej komory serca oraz do zgonu. Celem pracy była ocena zależności między funkcją skurczową prawej komory a wydolnością fizyczną pacjentów z przewlekłym zakrzepowo-zatorowym nadciśnieniem płucnym (CTEPH).

Metodyka: Do badania włączono 23 kolejnych chorych (13 kobiet i 10 mężczyzn) z CTEPH. W rezonansie magnetycznym oceniano frakcję wyrzutową prawej komory, a wydolność fizyczną mierzono w teście 6-minutowego marszu oraz testem spiroergometrycznym.

Wyniki: Średni wiek pacjentów wynosił 65,5 lat (53–82). U wszystkich pacjentów funkcja skurczowa lewej komory była prawidłowa (EF 53,5% mediana 50–69). Maksymalny pobór tlenu na szczycie wysiłku (VO_{2max}) wynosił 10,15 ml/kg/min (6,6–12,7). Średni dystans marszu wynosił 286 m (252–384). Wykazano istotną korelację pomiędzy VO_{2max} i frakcją wyrzutową prawej komory ($r=0,74$; $p<0,05$). Nie stwierdzono związku między dystansem w teście 6-minutowego marszu a czynnością skurczową prawej komory ($p>0,05$).

Wnioski: Zmniejszona frakcja wyrzutowa prawej komory serca jest związana ze zmniejszoną wydolnością fizyczną u pacjentów z CTEPH.

MALGORZATA WILUSZ, PATRYCJA SZYBOWSKA, AGNIESZKA BRZEZICKA,
BARBARA KLICH, KRYSZYNA SZTEFKO

WIARYGODNOŚĆ OZNACZANIA PROFILU LIPIDOWEGO I HbA1c PRZY UŻYCIU APARATU COBAS b101

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

Postęp technologii w zakresie urządzeń pozwalających na wykonanie oznaczeń laboratoryjnych w miejscu opieki nad pacjentem (POCT, *point-of-care testing*) daje coraz większe możliwości uzyskiwania wyników, które mogą być wykorzystane w diagnostyce i monitorowaniu chorób naczyniowosercowych i cukrzycy.

Cel pracy: Porównanie wyników oznaczeń profilu lipidowego (cholesterol, CHOL; cholesterol frakcji HDL, HDLC, triglicerydy, TG) oraz stężenia HbA1c uzyskanych przy użyciu analizatora POC Cobas b101 (Roche) i automatu biochemicznego Vitros 5.1 FS (Ortho-Clinical Diagnostics).

Metodyka: Stężenie porównywanych parametrów oznaczono u 98 dzieci ze zdiagnozowaną cukrzycą typu 1 (HbA1c) i 42 dzieci z chorobami nerek (CHOL, HDLC, TG) równoległe na aparacie Cobas b101 i automacie. Stężenie cholesterolu frakcji LDL (LDLC) oznaczono bezpośrednio na automacie Vitros, a na aparacie Cobas b101 LDLC był automatycznie obliczany z równania Friedewalda. Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o testy nieparametryczne. Obliczono błąd oraz współczynnik korelacji.

Wyniki: Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy wynikami CHOL, HDLC, TG i HbA1c uzyskanymi przy pomocy obu aparatów. Współczynniki korelacji (r) oraz błąd systematyczny (bias %) dla oznaczonych parametrów przy użyciu Cobas i Vitros wynosiły: HbA1c: $r=0,977$ i 4,13% (średnia: 7,4 mmol/l – Cobas, 7,1 mmol/l – Vitros); CHOL: $r=0,976$ i -1,82%; (średnia: 4,86 mmol/l – Cobas, 4,77 mmol/l – Vitros); TG: $r=0,990$ i -1,56%; (średnia: 1,61 mmol/l – Cobas, 1,62 mmol/l – Vitros); LDL: $r=0,958$ i 5,22% (średnia: 2,85 mmol/l – Cobas, 2,66 mmol/l – Vitros); HDL: $r=0,914$ i -0,18% (średnia: 1,27 mmol/l – Cobas, 1,31 mmol/l – Vitros).

Wniosek: Urządzenie POC Cobas b101 może być wykorzystywane do monitorowania pacjentów z cukrzycą oraz zaburzeniami lipidowymi.

ANNA WŁUDARCZYK, KAMIL POŁOK, ANDRZEJ HAŁEK,
KATARZYNA WAWRZYCKA, JACEK GÓRKA, WOJCIECH SZCZEKLIK

PACJENCI Z UKŁADOWYMI ZAPALENIAMI NACZYŃ LECZENI NA ODDZIALE INTENSYWNEJ TERAPII. CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA I PORÓWNANIE Z INNYMI UKŁADOWYMI CHOROBYMI TKANKI ŁĄCZNEJ

AFILIACJA: II Katedra Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Założenia i cel pracy: Porównanie przebiegu leczenia i rokowania u pacjentów w stanie zagrożenia życia w przebiegu układowego zapalenia naczyń i innych chorób o podłożu immunologicznym leczonych w Oddziale Intensywnej Terapii (OIT).

Metody: Przeszukano elektroniczną ewidencję pacjentów leczonych na Oddziale Intensywnej Terapii Kliniki Alergii i Immunologii UJCM w latach 2001–2014 pod kątem rozpoznania systemowej choroby tkanki łącznej lub zapalenia naczyń. Historie choroby wybranych pacjentów zostały przeanalizowane celem uzyskania danych demograficznych, wyników badań dodatkowych oraz przebiegu leczenia i ewentualnych danych dotyczących zgonu w trakcie hospitalizacji. Stopień ciężkości choroby i uszkodzenia narządowego oceniano przy użyciu skal APACHE, SAPS i SOFA.

Wyniki: Do badania włączono 74 pacjentów z układowymi chorobami tkanki łącznej, w tym 23 z układowymi zapaleniami naczyń (ZN) oraz 51 z innymi chorobami autoimmunologicznymi (AI), takimi jak toczeń układowy trzewny, reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie wielomięśniowe, twardzina układowa i inne. Średni wiek pacjentów z ZN wynosił 52,7 ($\pm 15,5$) lat i nie różnił się istotnie od wieku pacjentów z AI 51,2 ($\pm 17,2$); $p=0,071$. W grupie ZN było znacząco więcej mężczyzn (47,8% vs 19,6%; $p=0,01$). Pacjenci z ZN znajdowali się w cięższym stanie ogólnym – wyniki punktowe w skalach APACHE II ($28,3 \pm 10,4$ vs $22,6 \pm 9,4$; $p=0,022$), SAPS II ($61,0 \pm 19,7$ vs $41,0 \pm 19,6$); $p=0,0001$) i SOFA ($10,1 \pm 4,1$ vs $7,4 \pm 5,0$; $p=0,03$) były istotnie wyższe. W tej grupie stwierdzono również większą śmiertelność na OIT (60,9% vs 35,3%; $p=0,04$).

Wnioski: Pacjenci z układowymi zapaleniami naczyń w porównaniu z innymi chorymi z układowymi chorobami tkanki łącznej leczonymi na OIT znajdują się w cięższym stanie ogólnym i mają gorsze rokowanie.

AGNIESZKA WOJTANOWSKA-KROŚNIAK*, ANNA WASZKIELEWICZ**,
MONIKA PAPIEŻ***, DANIEL ZAŁUSKI****, PAWEŁ ZAGRODZKI*****

WPLYW WYBRANYCH POCHODNYCH KSANTONU NA SEKRECJĘ INSULINY W MODELU *IN VITRO*

AFILIACJA: * Zakład Bromatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Chemii Bioorganicznej, Katedra Chemii Organicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; *** Zakład Cytobiologii, Katedra Farmakobiologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; **** Katedra i Zakład Farmakognozji, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ***** Instytut Fizyki Jądrowej im. H. Niewodniczańskiego, Polska Akademia Nauk, Kraków

Wstęp: Ksantony to związki polifenolowe należące do jednych z najmocniejszych antyoksydantów. W przyrodzie istnieje ponad 200 różnych ksantonów. Każdy z nich posiada nieco inny mechanizm działania, a gdy występują razem, działają synergistycznie, poprawiając stan zdrowia w różnych jednostkach chorobowych. Dotychczas udowodniono wiele pozytywnych działań tych związków w chorobach nowotworowych, nadciśnieniu, silnej depresji, wahaniach nastroju po klimakterium, padaczce, infekcjach bakteryjnych, chorobach reumatycznych, przewlekłych bólach, reakcjach alergicznych, infekcjach jamy ustnej. Związki te podnoszą również wytrzymałość immunologiczną organizmu, działają przeciw-wirusowo, przeciwwgrzybiczo, przeciwgorączkowo i przeciwzapalnie. Jednym z badanych obecnie kierunków aktywności tych związków jest działanie przeciwcukrzycowe.

Cel: Celem pracy było sprawdzenie, czy nowo zsyntezowane pochodne ksantonu będą wykazywały działanie stymulujące komórki beta trzustki do sekrecji insuliny w modelu *in vitro*.

Metodyka: Nowo zsyntezowane związki w roztworach o stężeniu 10^{-5} M inkubowano przez 1 godzinę z komórkami beta trzustki linii RIN m5f. Następnie w nadsączy oznaczono stężenie insuliny metodą fluorescencyjną przy użyciu testu AlphaLISA Human Insulin Kit. Wyniki pomiarów porównano w stosunku do pobudzenia sekrecji insuliny przez roztwór pobudzający zawierający 11 mM glukozy.

Wyniki: Otrzymane wyniki porównano z wzorcowym roztworem pobudzającym (11 mM glukozy), którego aktywność pobudzająca wynosiła 100%. Spośród przebadanych 19 nowych związków 11 pobudzało wydzielanie insuliny, w tym 3 silnie (51–68%), 5 średnio (22–41%), a 3 słabo (4–8,5%). Osiem związków nie wykazywało żadnej aktywności insulinosekrecyjnej.

Wnioski: Potwierdzono aktywność przeciwcukrzycową kilku badanych pochodnych ksantonu. Spośród nich wybrano 3 związki do dalszych badań.

DAGMARA WÓJCIK, KATARZYNA MAGIEROWSKA, ZBIGNIEW ŚLIWOWSKI,
MARCIN MAGIEROWSKI, TOMASZ BRZozowski, SŁAWOMIR KWIECIEŃ

UDZIAŁ CZUCIOWYCH WŁÓKIEN AFERENTNYCH, ASPIRYNY I PEROKSYDACJI LIPIDÓW W PATOGENEZIE STRESOWYCH USZKODZEŃ BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA

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

Założenia: Mikrokrażenie żołądkowe odgrywa istotną rolę w utrzymaniu integralności błony śluzowej żołądka. Czuciowe włókna aferentne są zaangażowane w regulację śluzówkowego przepływu krwi. Uszkodzenia stresowe stanowią poważny problem kliniczny. Zniszczenie włókien czuciowych przez wysokie dawki kapsaicyny upośledza gojenie się wrzodów żołądka. Słabo zbadana jest rola reaktywnych form tlenu w tym procesie.

Cel pracy: Celem naszych badań było określenie roli reaktywnych form tlenu w oddziaływaniu włókien czuciowych podczas stresu (WRS).

Metodyka: Eksperymenty zostały przeprowadzone na szczurach rasy Wistar. Liczba uszkodzeń błony śluzowej żołądka oceniana była planimetrycznie. W celu określenia poziomu malonyldialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE), jak również aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), posłużono się metodami spektrofotometrycznymi.

Wyniki: Wykazaliśmy, że inaktywacja włókien czuciowych prowadzi do zwiększenia liczby uszkodzeń indukowanych przez WRS. W procesie tym ważną rolę odgrywa stres oksydacyjny, którego odzwierciedleniem jest tkankowy wzrost stężenia MDA i 4-HNE (wskaźnik peroksydacji lipidów), jak również spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Aspiryna, zaaplikowana w niskiej dawce, ma działanie antyoksydacyjne, prawdopodobnie spowodowane przez jej metabolity, posiadające właściwości zmiatacza wolnych rodników tlenowych. Gastroprotekcja indukowana przez pentoksyfilinę także związana jest ze zmniejszeniem nasilenia stresu oksydacyjnego. Protekcja ta była, przynajmniej częściowo, osłabiana przez aspirynę.

Wnioski: Czuciowe włókna aferentne uczestniczą w patogenezie wrzodów. Peroksydacja lipidów odgrywa istotną rolę w tym zjawisku.

URSZULA WÓJTOWICZ

TELEMEDYCYNĄ: ZDALNE MONITOROWANIE PACJENTA Z ASTMĄ

AFILIACJA: Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Opieki Ginekologicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Specjalistyczne Poradnie Lekarskie „Dobry Lekarz”

Cel badania: Opisanie zastosowania urządzenia do zdalnego monitorowania pacjenta z astmą i ocena jego efektywności.

Materiał i metody: Badanie pilotażowe przeprowadzono wśród 43 pacjentów z astmą w wieku 13–70 lat. Badani leczeni byli kortykosteroidami, wziewnymi długo działającymi beta-mimetykami i eksperymentalnie lekiem biologicznym. Przez okres 6 miesięcy badani byli zdalnie monitorowani (ocena objawów astmy, PEF, FEV) przez personel medyczny. System telemedyczny składał się z platformy w sieci internetowej (dostęp dla personelu medycznego, otrzymywanie mailowych alarmów o stanie pacjenta) i zestawu dla badanego zawierającego elektroniczny pikflometr i smartfon umożliwiające codzienne wypełnianie kwestionariuszy (ACQ, AQLQ, EQ-5D-5L) i przesyłanie danych do personelu medycznego.

Wyniki: Wstępne wyniki wskazują na zadowolenie pacjentów z opieki telemedycznej. Większość badanych wskazywała na poczucie większej kontroli nad chorobą, oszczędzanie czasu i kosztów podróży. U niewielkiej części pacjentów występowały trudności z obsługą elektronicznego pikflometru i smartfonu.

Wnioski: Zdalne monitorowanie może umożliwić pacjentowi z astmą większą kontrolę nad chorobą i własnym życiem. Może także ograniczyć potrzebę wizyt w szpitalu i gabinecie lekarskim, tym samym zapewniając oszczędność czasu i kosztów podróży.

AGNIESZKA WRÓBEL, KRZYSZTOF OLEŚ, JACEK SKŁADZIEN

IgG4 RELATED DISEASES – NOWA JEDNOSTKA CHOROBY W OBRĘBIE OCZODOŁU

AFILIACJA: Katedra i Klinika Otolaryngologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Założenia: IgG4 related disease jest ostatnio zidentyfikowanym schorzeniem układu immunologicznego charakteryzującym się odczynem zapalnym w zaatakowanych organach.

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 retrospektywnie i prospektywnie chorych operowanych w ostatnich 11 latach 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 CMUJ 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 limfocytarnoplazmatycznym nie potwierdzono rozpoznania IgG4-RD.

Wnioski: Najczęściej rozpoznawanymi łagodnymi zmianami w obrębie oczodołu są pseudoguzy. Występowanie pseudoguzów zapalnych skorelowane jest z opisaną po raz pierwszy w 2010 roku, przez Japońskich naukowców, grupą chorób powiązanych z IgG4 (ang. IgG4 related disease; IgG4-RD). IgG4-RD może służyć jako tło dla rozwoju chłoniaka typu MALT, nie jest natomiast skorelowana z naciekiem limfocytarno-plazmatycznym w obrębie oczodołu. Rozpoznanie IgG4-RD 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.

KAROLINA WYRZUC, EWA OTRĘBSKA-MACHAJ,
JADWIGA HANDZLIK, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

POSZUKIWANIE INHIBITORÓW BIAŁKOWYCH POMP LEKOOPORNOŚCI BAKTERII GRAM UJEMNYCH W GRUPIE ARYLOPIPERAZYNOWYCH POCHODNYCH KWASU 5,5-DIFENYLO-3-HYDANTOINOOCETOWEGO

AFILIACJA: Katedra Technologii I Biotechnologii Środków Leczniczych, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; Faculté de Médecine et de Pharmacie, Transporteurs Membranaires, Chimiorésistance et Drug-Design, UMR-MD1, 27 Bd Jean Moulin, 13385 Marseille cedex 05, France

Lekooporność bakteryjna jest obecnie jednym z najpoważniejszych globalnych zagrożeń zdrowia publicznego na świecie. Białkowe systemy wyrzutu, które zostały zidentyfikowane u bakterii Gram, stanowią jeden z podstawowych mechanizmów pojawiającej się lekooporności, a ich nadekspresja obniża efektywność prowadzonych antybiotykoterapii. Główną strategią zwalczania tego problemu jest poszukiwanie związków będących ich inhibitorami, tzw. EPIs [1]. Interesującą grupą związków o potencjalnych właściwościach EPIs są pochodne hydantoinowe. Wcześniejsze badania wykazały szczególnie istotne znaczenie amfifilowego charakteru związków dla spodziewanej aktywności wobec mechanizmów lekooporności związanych z pompami wyrzutu.

Dla trzech wybranych arylopiperazynowych pochodnych kwasu 5,5-difenylo-3-hydantoinooctowego (1-3) określono własne działanie przeciwbakteryjne (MIC), wpływ na wartość MIC różnych antybiotyków, a także dokonano oceny ich zdolności do inhibicji bakteryjnych pomp wyrzutu w teście Real Time Efflux (RTE). Badane połączenia nie wykazały własnej aktywności przeciwbakteryjnej, obniżały 2–4-krotnie MIC kwasu nalidyksowego i/lub sparfloksacyliny w szczepie *E.aerogenes* z nadekspresją pompy (CM64). Związki 1 i 3 wykazywały właściwości inhibitora w teście RTE [2]. Na podstawie otrzymanych wyników zaplanowano modyfikacje związku 3, obejmujące układ aromatyczny fenylopiperazyny oraz długość linkera pomiędzy piperazyną a hydantoiną. Celem otrzymania pochodnych 4-11 wykonano szereg 4-etapowych syntez obejmujących: reakcję Bucherera Berga, reakcję estryfikacji, N-alkilowanie oraz reakcję z odpowiednią piperazyną. Finalnym etapem była deprotekcja grupy estrowej w pozycji 3 pierścienia hydantoiny. Połączenia te zostaną poddane ocenie aktywności hamującej mechanizmy lekooporności w szczepach klinicznie istotnych patogennych bakterii.

Badania były częściowo finansowane z programu K/ZDS/003323.

Bibliografia

1. Mahamoud A. et al., *Curr. Drugs Targets*, 7 (2006), 843–847.
2. Handzlik J. et al., *Eur. J. Med. Chem.*, 46 (2011), 5807–5816.

AGNIESZKA ZABIEGAŁA, RADOSŁAW ŚPIEWAK

OCENA ŚRODOWISKOWYCH CZYNNIKÓW RYZYKA ROZWOJU ALERGII KONTAKTOWEJ NA SKŁADNIKI KOSMETYKÓW

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

Alergia kontaktowa jest formą nabytej nadwrażliwości typu opóźnionego. Czynnikami uczulającymi są substancje chemiczne o małej masie cząsteczkowej (hapteny). Kosmetyki należą do najważniejszych środowiskowych źródeł uczulających haptentów.

Celem niniejszej pracy była ocena skali narażenia konsumentów na składniki uczulające kosmetyków oraz próba oceny związku między tym narażeniem a częstością uczuleń na składniki.

Materiał i metody: Praca jest wykonana w trzech etapach. W pierwszym etapie zgromadzono dane na temat występowania składników o znanym potencjale uczulających w kosmetykach do codziennej pielęgnacji ciała sprzedawanych w Krakowie w okresie od sierpnia do listopada 2013 roku. Kolejno na podstawie baz danych przeanalizowano funkcje poszczególnych składników preparatów, a wyodrębnione składniki INCI zsumowano pod kątem częstości występowania w grupie preparatów typu *leave-on* oraz *rinse-off* w produktach dla dzieci oraz dla dorosłych. W drugim etapie przeprowadzono metaanalizę danych epidemiologicznych na temat częstości występowania uczuleń na składniki kosmetyków. W trzecim etapie, na podstawie danych uzyskanych w poprzednich etapach, podjęta zostanie próba oceny związku między narażeniem a częstością uczuleń na poszczególne składniki analizowanych produktów kosmetycznych.

Wyniki: Do analizy włączono 1846 unikatowych produktów kosmetycznych, w składzie których wyodrębniono 328 haptentów (pełniących przynajmniej jedną z czterech funkcji: konserwantów, barwników, filtrów kosmetycznych, substancji zapachowych, do analizy włączono jednocześnie lanolinę). Na podstawie przeprowadzonej metaanalizy danych epidemiologicznych dla 328 haptentów uzyskano 5578 publikacji (96 stanowi źródło danych epidemiologicznych nt. alergii kontaktowej na składniki kosmetyków). Istotnym czynnikiem mającym wpływ na częstość występowania alergii kontaktowej w badanych populacjach poza stężeniem testowanego haptentu jest typ badanej populacji – w przypadku populacji z wypryskiem wartość ta istotnie wzrasta.

Wnioski: Ograniczenie ekspozycji środowiskowej na haptenty o stwierdzonym potencjale uczulającym może stać się efektywnym narzędziem profilaktyki alergii kontaktowej.

ANNA ZAJĄC*, ANDRZEJ KASPROWICZ**,
ANNA BIAŁECKA**, WIESŁAW BARABASZ*

ANALIZA CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ORAZ KORELACJI STANÓW ZAPALNYCH DRÓG RODNYCH U KOBIET W WIEKU ROZRODCZYM

AFILIACJA: * Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja, Kraków;
** Centrum Badań Mikrobiologicznych i Autoszczepionek im. Jana Bobra, Kraków

Założenia i cel pracy: Wskazanie częstości i współwystępowania czynników etiologicznych stanów zapalnych narządu rodowego u kobiet w wieku rozrodczym z województwa małopolskiego. Uzyskanie wyników pozwoli na porównanie ich z danymi z innych województw Polski oraz innych krajów.

Metodyka: Materiał do badań stanowiło 6000 wymazów z pochwy i kanału szyjki macicy pobranych od kobiet w wieku rozrodczym (18–50 lat), które były diagnozowane w Centrum Badań Mikrobiologicznych i Autoszczepionek im. Jana Bobra w Krakowie w 2014 roku. Przeprowadzono kompleksowe badania mikrobiologiczne dróg rodnych w kierunku: bakterii tlenowych, beztlenowych, grzybów drożdżopodobnych, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* i mykoplazm urogenitalnych. Pierwszym etapem badania było pobranie materiału, pomiar pH, wykonanie preparatu barwionego metodą Grama oraz ocena stopnia czystości pochwy. Drugim etapem było wykonanie posiewów redukcyjnych na podłoża podstawowe i wybiórcze oraz 24-godzinna hodowla w temperaturze 37°C. Trzecim etapem była identyfikacja bakterii i grzybów drożdżopodobnych, ocena mykoplazm urogenitalnych (*Mycoplasma* IST2, bioMerieux) oraz hybrydyzacja molekularna *Chlamydia trachomatis* (Test PA-CE 2, Gen Probe).

Wyniki: U 51% (n=3060) kobiet wykryto obecność czynnika etiologicznego – stan zapalny. W 38% (n=2280) przypadków stwierdzono obecność pojedynczego czynnika etiologicznego (głównie *Candida albicans*), a w 13% przypadków wykryto ich dwa lub więcej (n=780).

Wnioski: Zaobserwowano korelację pomiędzy występowaniem waginozy bakteryjnej a zakażeniem mykoplazmami urogenitalnymi.

MAGDALENA ZAJĄC*, BOŻENA MUSZYŃSKA**,
PAWEŁ KOMENDACKI*, WŁODZIMIERZ OPOKA*

OZNACZANIE METODĄ DP ASV CYNKU UWOLNIONEGO DO SZTUCZNYCH SOKÓW TRAWIENNYCH Z NIEPRZETWORZONYCH I PRZETWORZONYCH TERMICZNIE OWOCNIKÓW *BOLETUS EDULIS*

AFILIACJA: * Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Materiał do analizy stanowiły świeże owocniki *Boletus edulis*, zebrane ze stanu naturalnego. Gatunek ten wybrano ze względu na popularność wśród konsumentów i właściwości lecznicze. Celem pracy było określenie zawartości cynku w owocnikach *B. edulis* przed obróbką termiczną, naśladującą procedury przygotowywania potraw z grzybów, i po niej.

50 g świeżych owocników zamrożono i suszono metodą liofilizacji. Następnie owocniki (5 g) rozdrobniono, zalano 80 ml wody destylowanej i gotowano na termostатовanej łaźni wodnej w aparacie Soxhleta. Po tym czasie owocniki termicznie przetwarzanych grzybów zamrożono i liofilizowano. Przygotowane naważki (500 mg) umieszczono w kolbkach zawierających 10 mL roztworu sztucznej śliny w temperaturze 37°C i wytrząsano przez 1 min. Otrzymaną zawiesinę odwirowano i zdekantowano, a pozostałość po trawieniu umieszczono w 10 mL soku żołądkowego i wytrząsano przez 15, 60, 120 min. Czynności powtórzono, a do pozostałości materiału dodano 10 ml sztucznego soku jelitowego i wytrząsano przez 150 min. Otrzymane próbki mineralizowano, dodając 1 mL kwasu azotowego (V) w mineralizatorze UV w ciągu 48 godzin.

W eksperymencie wykazano znaczące różnice pomiędzy uwalnianiem cynku z owocników *B. edulis* nieprzetwarzanych i przetwarzanych termicznie. Ilość cynku uwolnionego z przetwarzanych owocników wahała się w zakresie 3,11–7,38 mg/100 g s.m., natomiast w próbkach bez obróbki termicznej była w granicach 0,37–2,12 mg/100 g s.m. Termiczne przetwarzanie owocników powoduje, że uwalniają one do sztucznych soków trawiennych znacznie większe ilości cynku, przez co stają się jego dobrym źródłem w diecie (dzienne zapotrzebowanie dla organizmu człowieka wynosi 15 mg). Udowodniono, że metoda DP ASV jest skuteczna do oznaczania jonów cynku(II) w materiale grzybowym.

MICHAŁ ZAŁUSKI*, AGNIESZKA OLEJARZ*, TADEUSZ KARCZ*,
CHRISTA MÜLLER**, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ*

**N-9 ARYLOALKILOWE POCHODNE
1,3-DIMETYLOPIRYMIDO[2,1-F]PURYNODIONÓW
O AKTYWNOŚCI HAMUJĄCEJ MONOAMINOOKSYDAZĘ B
JAKO ZWIĄZKI O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU
W CHOROBACH NEURODEGENERACYJNYCH**

AFILIACJA: * Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Katedra Chemii Farmaceutycznej I, Instytut Farmaceutyczny, Reński Uniwersytet Fryderyka Wilhelma, Bonn, Niemcy

Zespół Parkinsona jest chorobą ośrodkowego układu nerwowego, która objawia się zaburzeniami w wykonywaniu sekwencji ruchowych zarówno dowolnych, jak i mimowolnych. Wzrost zachorowalności oraz wydłużający się okres życia ludzi spowodował, że zespół Parkinsona jest obecnie drugą pod względem częstości występowania chorobą neurodegeneracyjną na świecie. Dostępna farmakoterapia pomimo dużej skuteczności nie jest pozbawiona działań niepożądanych, a w późniejszych stadiach choroby niejednokrotnie okazuje się niewystarczająca z powodu postępującej degeneracji neuronów dopaminergicznych. Nowa strategia projektowania potencjalnych leków w chorobach neurodegeneracyjnych oparta jest na poszukiwaniu struktur o wielokierunkowym działaniu. Przykładem może być związek CSC o działaniu antagonistycznym do receptorów A_{2A} adenozynowych i równoczesnym działaniu hamującym MAO-B.

W wyniku prowadzonych od lat badań w grupie pochodnych pirymido[2,1-f]purynodionów jako ligandów receptorów adenozynowych uzyskano serię N-9 podstawionych aryloalkilowych pochodnych anelowanych ksantyn. Zaprojektowane pochodne 1,3-dimetylopirymido[2,1-f]purynodionów otrzymano przez: dobudowanie pierścienia heterocyklicznego do komercyjnie dostępnej teofiliny poprzez N-alkilację, a następnie cyklizację z odpowiednią pochodną aryloalkilaminową. Zsyntetyzowane pochodne anelowanych ksantyn przekazano do wstępnych badań farmakologicznych w celu oceny ich powinowactwa do receptorów adenozynowych (A_{1} , A_{2A} , A_{2B} , A_{3}) i aktywności hamującej wobec MAO-B.

Otrzymane wyniki potwierdziły aktywność hamującą wobec MOA-B nowo zsyntetyzowanych związków. Wstępna analiza zależności struktura – aktywność wykazała, że związki z podstawionym pierścieniem benzenu wykazują większą aktywność hamującą w porównaniu do podstawników zawierających pierścień tiofenu lub pirydyny.

Dalsze badania prowadzone są w kierunku otrzymania struktur o wyższej aktywności względem MAO-B oraz receptorów A_{2A} adenozynowych.

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

PAULA ZARĘBA, ADRIAN PODKOWA

**BADANIA STRUKTURA – AKTYWNOŚĆ WŚRÓD
N-BENZYLOAMIDOWYCH ANALOGÓW KWASU
4-HYDROKSY- I 4-AMINOBUTANOWEGO
JAKO POTENCJALNYCH INHIBITORÓW
WYCHWYTU ZWROTNEGO GABA**

AFILIACJA: * Zakład Fizykochemicznej Analizy Leku, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wdział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński; ** Zakład Farmakodynamiki, Wdział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Kierunek podjętych badań polega na rozwiązaniu istotnego problemu naukowego, jakim jest otrzymanie selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego kwasu 4-aminobutanowego (GABA) wobec poszczególnych izoform transporterów GAT (GAT1-4). Większość opublikowanych dotąd inhibitorów GAT wykazuje selektywność wobec GAT1, spośród nich jedyny wprowadzony do leczenia stosowany jest w terapii lekoopornej padaczki skroniowej. Natomiast współczesna wiedza na temat znaczenia terapeutycznego pozostałych izoform transporterów GAT2-4 jest stosunkowo ograniczona. Uzyskanie związków charakteryzujących się selektywnym wiązaniem do transporterów GAT2-4 może mieć fundamentalne znaczenie dla lepszego poznania ich budowy i fizjologicznej roli, jaką pełnią w OUN saków.

W ramach realizowanej rozprawy doktorskiej otrzymano szereg nowych, różnie podstawionych pochodnych kwasu 4-hydrokso- i 4-aminobutanowego. Dla wszystkich otrzymanych związków wyznaczono ich właściwości inhibicyjne wobec poszczególnych podtypów transporterów mGAT1-4 w badaniach *in vitro*.

W toku analizy otrzymanych wyników zdefiniowano jakościowe i ilościowe zależności struktura – aktywność. Wykazano, że fragment N-benzyloamidowy cząsteczki jest kluczowym elementem dla zachowania aktywności hamującej GAT. Wartość dodaną realizowanego projektu stanowi otrzymanie serii związków cechujących się istotnie dominującym powinowactwem do poszczególnych izoform transporterów GAT. Ponadto otrzymano dwa związki selektywne wobec GAT1 oraz związek o najwyższej dotąd aktywności wobec GAT2. Dla związków najaktywniejszych w badaniach *in vitro* wykonano badania farmakologiczne *in vivo*, mające na celu ocenę ich aktywności w różnych modelach drgawek zwierzęcych.

Uzyskane wyniki badań skłaniają do postawienia hipotezy, iż inhibitory transporterów GABA mogą znaleźć w przyszłości zastosowanie terapeutyczne nie

tylko jako związki o właściwościach przeciwdrgawkowych, ale również przeciwbólowych.

Badania zostały wykonane w ramach projektu NCN nr DEC-2012/05/B/NZ7/02 705 oraz K/DSC/001419.

MICHAŁ ZĄBCZYK, JACEK MAJEWSKI, GRZEGORZ KARKOWSKI, ANETTA UNDAŚ

MODYFIKACJA WŁAŚCIWOŚCI SKRZEPU FIBRYNOWEGO PRZEZ ANTAGONISTÓW WITAMINY K U PACJENTÓW Z MIGOTANIEM PRZEDSIONKÓW: ZWIĄZEK Z CZYNNIKAMI KRZEPNIĘCIA I GENERACJĄ TROMBINY

AFILIACJA: Zakład Kardiologii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej, Instytut Kardiologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński

Migotanie przedsionków (AF) ma związek z wysokim ryzykiem wystąpienia incydentów zakrzepowo-zatorowych. Stosowanie antagonistów witaminy K (VKA) skutecznie to ryzyko obniża i poprawia czynność oraz strukturę fibryny.

Do tej pory nie zidentyfikowano czynników wpływających na właściwości fibryny u chorych na AF rozpoczynających leczenie VKA.

Badano 40 pacjentów z AF (28 mężczyzn, wiek 45–83 lat, skala CHA_2DS_2-VASc $3,0 \pm 1,5$) rozpoczynających terapię VKA. Oceniono przepuszczalność skrzepu fibrynowego (Ks) i czas lizy skrzepu metodą turbidymetryczną (CLT) oraz z użyciem mikroskopu konfokalnego. Badano także aktywność czynników krzepnięcia (F) i białka C (PC) oraz generację trombiny metodą kalibrowanego automatycznego trombogramu (CAT) w 3., 5., 7., 28. i 56. ± 1 dniu od podania acenokumarolu ($n=21$) lub warfaryny ($n=19$).

Pacjentów z AF charakteryzował o 16% wyższy Ks i o 15% krótszy CLT już w 3. dniu leczenia VKA w porównaniu do dnia przed włączeniem antykoagulacji ($p<0,001$ dla obydwu). Analizy przy użyciu mikroskopu konfokalnego potwierdziły wzrost porowatości skrzepu i skrócenie czasu lizy w trakcie trwania terapii. Ks korelował dodatnio z parametrami CAT od 5. dnia leczenia. Nie zaobserwowano zależności pomiędzy wartością skali CHA_2DS_2-VASc i HAS-BLED a Ks i CLT. W dniu 28. i 56. stwierdzono korelacje Ks z FII, FVII, FIX i FX oraz PC, podczas gdy CLT korelował z FII, FVII i FX tylko w 56. dniu leczenia.

Porowatość osoczonego skrzepu fibrynowego oraz sprawność jego lizy zwiększa się u pacjentów z AF już w pierwszych dniach leczenia VKA. Czynniki determinujące te właściwości wyodrębniono dopiero w stabilnej fazie antykoagulacji za pomocą VKA bez związku z czynnikami demograficznymi i klinicznymi.

ELŻBIETA ŻMUDZKA, KLAUDIA LUSTYK, AGATA SIWEK

BADANIE POWINOWACTWA DO RECEPTORÓW α_1 -ADRENERGICZNYCH ORAZ AKTYWNOŚCI HIPOTEN- SYJNEJ NOWYCH POCHODNYCH METYLOAZETYDYN

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

Założenia: Nadciśnienie tętnicze wśród chorób układu sercowo-naczyniowego jest obecnie jedną z głównych przyczyn przedwczesnych zgonów w Europie i na świecie. Z tego powodu wciąż poszukuje się nowych, bardziej skutecznych i bezpiecznych leków w terapii nadciśnienia. Przedmiotem badań były trzy nowe arylosulfonamidowe pochodne metyloazetydyny wyselekcjonowane z grupy kilkuset pochodnych o najsilniejszym powinowactwie do receptorów α_1 -adrenergicznych.

Cel: Celem badań była ocena powinowactwa trzech arylosulfonamidowych pochodnych metyloazetydyny o symbolach: ADN4101, ADN4103 i ADN4106 do receptorów α_1 -adrenergicznych w badaniach radioreceptorowych oraz określenie potencjalnej aktywności hipotensyjnej badanych związków.

Metodyka: Powinowactwo do receptora adrenergicznego typu α_1 badano przy użyciu [3H]-prazosyny jako specyficznego liganda, a wiązanie niespecyficzne oznaczano w obecności fentolaminy. Wiązanie specyficzne określano jako różnicę pomiędzy wiązaniem całkowitym a wiązaniem niespecyficznym. Badanie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi u normotensyjnych szczurów przeprowadzono metodą ostrą, dokonując pomiaru ciśnienia w tętnicy szyjnej wspólnej zwierząt.

Wyniki: Na podstawie obliczonych wartości stałej hamowania K_i najsilniejsze powinowactwo do receptora α_1 -adrenergicznego wykazał związek ADN4101 ($K_i=10,2$ nM), wiążąc się ponad 156-krotnie silniej z receptorem niż nieselektywny α -adrenolityk – tolazolina ($K_i=1600$ nM). Co więcej, badane związki wykazały istotną aktywność hipotensyjną.

Wnioski: Wyniki wskazują, iż badane związki charakteryzują się wysokim powinowactwem do receptorów α_1 -adrenergicznych, a także istotną aktywnością hipotensyjną. W pełni uzasadnione jest zatem kontynuowanie badań nad przedstawionymi związkami w celu poznania ich pełnego profilu farmakologicznego oraz bezpieczeństwa stosowania przy podaniu wielokrotnym na układ sercowo-naczyniowy.

SUPPLEMENT

PRZEMYSŁAW GAJDA-MORSZEWSKI, KLAUDYNA ŚPIEWAK

(UNIwersytet Jagielloński)

LAKTOFERYNA – BIAŁKO MULTIPOTENCJALNE

STRESZCZENIE

Laktoferyna jest białkiem występującym w płynach ustrojowych i wydzielinach śluzowych, między innymi w sianie, mleku, łzach, ślinie oraz w neutrofilach. Wykazuje ona szereg różnego rodzaju aktywności, dlatego od kilkudziesięciu lat przyciąga uwagę badaczy. Do tej pory udowodniono jej działanie immunoregulacyjne, przeciwzapalne, bakteriostatyczne, antybakteryjne, antygrzybicze oraz antywirusowe. Przypisuje się jej również działanie antynowotworowe. W poniższej pracy przedstawiono budowę i funkcje, które pełni w zależności od miejsca, w jakim jest wydzielana. Wyjaśnienie roli i mechanizmu działania laktoferyny wciąż wymaga dalszych badań. Niezwykle interesującą kwestią jest to, w jaki sposób pojedyncze białko może wykonywać szereg różnego rodzaju funkcji.

SŁOWA KLUCZOWE

Ludzka laktoferyna, apolaktoferyna, peptydy antybakteryjne, laktoferycyna, immunomodulacja, aktywność antywirusowa/antybakteryjna

INFORMACJE O AUTORACH

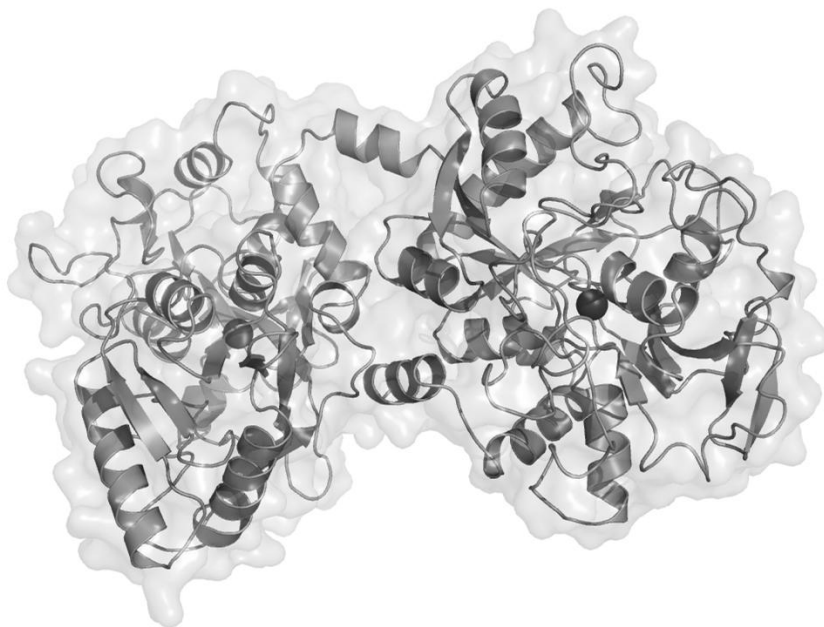
Przemysław Gajda-Morszowski
Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii
Uniwersytet Jagielloński
e-mail: pgmorszewski@gmail.com

Klaudyna Śpiewak
Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii
Uniwersytet Jagielloński
e-mail: klaudyna.spiewak@gmail.com

BUDOWA BIAŁKA

Laktoferyna jest białkiem występującym w płynach i wydzielinach śluzowych ssaków, przede wszystkim w mleku, ale również w ślinie, łzach, w wydzielinach gruczołów płciowych itd. Nazwa białka pochodzi z łaciny, *lac* oznacza mleko, *lacto* – mleczny, ponieważ białko wyodrębniono po raz pierwszy z mleka, natomiast feryna od łacińskiego *ferrum* – żelazo, ponieważ, tak jak wspomniano, cechuje ją wysokie powinowactwo do żelaza. Laktoferyna jest glikoproteiną o masie około 80 kD, należąca do białek z grupy transferyn, podobnie jak transferyna i owoalbumina. Laktoferyna składa się z pojedynczego łańcucha polipeptydowego posiadającego dwa homologiczne płaty: N oraz C. Każdy z nich posiada po jednym miejscu wiążącym, mogącym skoordynować jeden jon żelaza na trzecim stopniu utlenienia (Rys. 1). W wiązaniu jonów żelaza uczestniczą 4 reszty aminokwasowe: Asp, Tyr, Tyr oraz His, natomiast dwie reszty Arg biorą udział w wiązaniu jonu dwuwęglanowego lub wodorowęglanowego. Mówiąc o laktoferynie występującej w organizmie, możemy wyróżnić dwie formy różniące się wysyceniem jonami żelaza, odmianę holo i odmianę apo. W holo-laktoferynie, w miejscach wiążących skoordynowane są jony żelaza, apo-laktoferyna natomiast jest pozbawiona żelaza. Białko to wykazuje bardzo wysokie powinowactwo do jonów Fe^{3+} (stała wiązania rzędu 10^{22} - 10^{24} M^{-1}). Silne wiązanie jonów żelaza sprawia, że jest ono naturalnym związkiem chelatującym, chroniącym przed szkodliwym działaniem wolnego żelaza. Miejsce wiążące w cząsteczce laktoferyny posiada najwyższe powinowactwo do jonów żelaza, niemniej jednak inne jony metali mogą zostać związane przez laktoferynę po uprzednim usunięciu jonów Fe^{3+} . Do tej pory opisano kompleksy laktoferyny m.in. z jonami: Ga^{3+} , Al^{3+} , VO^{2+} , Mn^{2+} , Co^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , niewiele wiadomo jednak na temat biologicznych konsekwencji związania innych metali przez laktoferynę.

¹ E. N. Baker, H. M. Baker, *A Structural Framework for Understanding the Multifunctional Character Of Lactoferrin*, "Biochimie" 2009, No. 91 (1), s. 3–10.



Ryc. 1. Struktura ludzkiej holo-laktoferyny (PDB 1B0L)

Źródło: Opracowanie własne, rysunek wykonano w programie PyMol (PBD: 1LFG)

Łańcuch polipeptydowy laktoferyny składa się z 689 aminokwasów połączonych 17 mostkami disiarczkowymi. Do reszt aminokwasowych laktoferyny wiązaniami N-glikozydowymi połączone są łańcuchy cukrowe. Część cukrowa stanowi 11,2% całkowitej masy molekularnej białka, a jej skład różni się w zależności od miejsca występowania białka. Laktoferyna występująca w wydzielinach śluzowych zawiera głównie N-acetyloglukozaminę, w mniejszych ilościach mannozę, galaktozę, kwas sjałowy i fukozę.

FUNKCJE

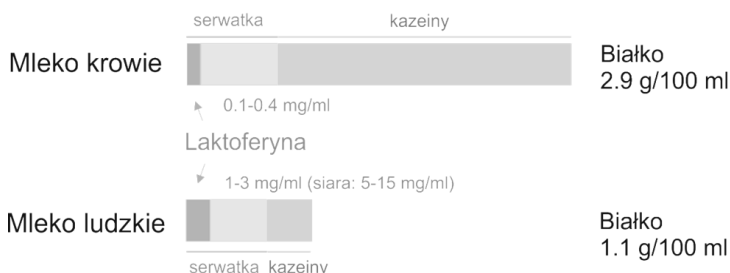
Najważniejszą rolą laktoferyny w organizmie jest immunostymulacja, czyli regulacja odpowiedzi odpornościowej organizmu. Laktoferyna jest ważnym elementem układu odpornościowego, co często przypisywane jest jej powinowactwu do żelaza. Wychwytyjąc i wiążąc żelazo w organizmie, utrudnia bakteriom dostęp do jonu metalu niezbędnego do rozwoju i wzrostu. Do tej pory naukowcy byli przekonani, że tylko powinowactwo do żelaza sprawia, że laktoferyna jest w ten pośredni sposób częścią układu odpornościowego. Ostatnie ba-

dania pokazały jednak bardziej bezpośredni sposób działania laktoferyny. Jak wspomniano wcześniej, N-końcowy fragment białka ma silnie dodatni ładunek. Właściwość ta umożliwia laktoferynie wchodzenie w interakcję ze ścianami komórkowymi bakterii i uszkodzanie ich, doprowadzając do wycieku składników wewnątrzkomórkowych i w konsekwencji do śmierci bakterii².

Aktywność biologiczną wykazują również peptydy powstałe w wyniku cięcia enzymatycznego laktoferyny. Właściwości laktoferycyny, peptydu powstałego w wyniku enzymatycznego trawienia laktoferyny przez pepsynę, znane są już od wczesnych lat dziewięćdziesiątych XX wieku³. Jest ona fragmentem N-końca białka wyjściowego. Badania sugerują, iż peptyd ten przejawia jeszcze większą bioaktywność niż sama laktoferyna.

W MLEKU MATKI

W zależności od miejsca występowania laktoferyna wykazuje różne funkcje. Wysokie stężenie laktoferyny obserwowane jest w siarze (łac. *Claustum*), mleku wydzielanym i gromadzonym przez gruczoły mlekowe w ostatnich dniach ciąży (5–15 mg/ml laktoferyny w ludzkiej siarze, w kolejnych dniach laktacji poniżej 1 mg/ml – Ryc. 2)³.



Ryc. 2. Schematyczne przedstawienie składu mleka bydlęcego oraz ludzkiego
Źródło: Opracowanie własne, rysunek wykonano w programie PyMol (PBD: 1LFG)

² J. Małaczewska, Z. Rotkiewicz, *Lactoferrin – A Multipotential Protein*, „Medycyna Weterynaryjna” 2007, nr 63 (2), s. 136–139.

³ J. Artym, *Laktoferyna – niezwykle białko*, Warszawa 2012, s. 258; W. Bellamy et al., *Identification of the Bactericidal Domain of Lactoferrin*, “Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular” 1992, No. 1121 (1–2), s. 130–136; Y. Liao, R. Jiang, B. Lönnnerdal, *Biochemical and Molecular Impacts of Lactoferrin on Small Intestinal Growth and Development During Early Life*, “Biochemistry and Cell Biology” 2012, No. 90 (3), s. 476–484.

Laktoferyna dostarczana wraz z mlekiem stanowi dla organizmu noworodka kluczową linię obrony przed drobnoustrojami chorobotwórczymi. Ze względu na niepełny rozwój układu pokarmowego noworodków białko nie ulega w pełni strawieniu i duża jego część wchłania się do krwiobiegu w związku z mniejszą efektywnością enzymów trawiennych, wyższym (bardziej alkalicznym) pH w żołądku i słabą barierą jelitową³. Takiego wchłaniania nie obserwujemy u osobników dorosłych. Karmienie sztucznym mlekiem nie zapewnia odpowiednio wysokiego stężenia laktoferyny, u wcześniaków i noworodków z niską masą powoduje ich większe narażenie na zachorowanie na sepsę. Dodatkowo sztuczne mieszanki mleka są wzbogacane żelazem w postaci wolnej oraz laktoferyną o nieznanym stopniu wysycenia żelazem. W wyniku takiego suplementowania i niezapewniania odpowiedniego stężenia białka dostarcza się noworodkom ogromną porcję wolnego żelaza, które staje się idealną pożywką dla bakterii.

W INNYCH WYDZIELINACH USTROJOWYCH

Laktoferyna w mleku matki pełni funkcję ochroną w pierwszych dniach życia dziecka. Laktoferynę wykryto także w wielu innych tkankach i wydzielinach zarówno gruczołów wydzielania wewnętrznego, jak i zewnętrznego. W tym wypadku, pomijając funkcje antybakteryjne i antywirusowe, które zostaną omówione nieco szerzej później, funkcja laktoferyny ogranicza się jedynie do pasywnej ochrony części układu, w której występuje, poprzez wychwytywanie żelaza i obmywanie tkanek oraz części układu.

W NEUTROFILACH

Laktoferyna występująca w osoczu krwi prawie w całości pochodzi z granulocytów obojętnochłonnych – neutrofilów⁴. Stężenie laktoferyny w osoczu człowieka zdrowego jest niskie (0,2–0,6 µg/ml), jednak w miejscu wystąpienia stanu zapalnego może wzrosnąć aż do 200 µg/ml⁵. Podwyższony poziom laktoferyny w danej wydzielinie wskazuje na stan zapalny, dlatego białko to może służyć jako wskaźnik diagnostyczny. W przypadku infekcji bakteryjnych (wirusowych już nie) obserwuje się znaczny wzrost stężenia laktoferyny, natomiast w przy-

⁴ P. F. Levay, M. Viljoen, *Lactoferrin: A General Review*, "Haematologica" 1995, No. 80 (3), s. 252–267.

⁵ S. H. Wong et al., *Lactoferrin is a Survival Factor for Neutrophils in Rheumatoid Synovial Fluid*, "Rheumatology" 2009, No. 48 (1), s. 39–44.

padku wysięku opłucnowego oraz nowotworu płuc wzrost nie jest tak duży⁶. Rezultaty zaprezentowane w badaniach wskazują, że oznaczenie stężenia laktoferyny w wysięku pozwala odróżnić infekcję bakteryjną od wirusowej w przypadku chorób płuc. W przypadku infekcji bakteryjnej szybką odpowiedź immunologiczną gwarantują granulocyty obojętnochłonne, dlatego istnieje powiązanie: infekcja bakteryjna – wzrost liczby neutrofili w obrębie stanu zapalnego – wzrost stężenia laktoferyny. W przypadku infekcji wirusowej taki efekt nie jest obserwowany. Zasadniczą rolę granulocytów obojętnochłonnych jest zwalczanie bakterii, dlatego nie widzimy wzrostu stężenia laktoferyny.

Wzrost stężenia laktoferyny w przypadku infekcji bakteryjnych nie pozostaje bez znaczenia. Neutrofile są komórkami, które szybko reagują na obecność patogenów, żyją krótko, są w obiegu przez maksymalnie dwie do pięciu dni, po czym ulegają apoptozie. Tak krótki czas życia podczas infekcji obniżałby ich skuteczność w walce z infekcją. Zauważono jednak, że w przypadku długotrwałych stanów zapalnych liczba neutrofilów, które uległy apoptozie, zmniejsza się wraz ze zwiększającym się stężeniem laktoferyny. Do niedawna nie dopatrywano się wpływu laktoferyny na regulację procesu apoptozy, jednakże ostatnie badania przeprowadzone na modelu reumatoidalnego zapalenia stawów wykazują, że laktoferyna hamuje apoptozę granulocytów obojętnochłonnych, tym samym zwiększając ich aktywność⁷. W wielu przypadkach zahamowanie apoptozy zwiększa aktywność neutrofilów w walce z bakteriami, jednak w przypadkach, w których organizm nadużywa tego mechanizmu, dochodzi do przewlekłych stanów zapalnych, na przykład do reumatoidalnego zapalenia stawów⁷.

FUNKCJA ANTYBAKTERYJNA

Laktoferyna, wychytując i wiążąc wolne żelazo w organizmie, a zatem zmniejszając dostępność tego pierwiastka dla patogennych mikroorganizmów, opóźnia ich wzrost. Taki mechanizm działania wpływa na jej aktywność bakteriostatyczną, jednak wobec niektórych szczepów bakterii okazuje się nieskuteczny. Do tej grupy należą bakterie, które produkują siderofory (z greckiego ‘nośnik jonów’), związki chelatujące żelazo o powinowactwie wyższym niż laktoferyna. Do szczepów wydzielających tego typu związki należą *H. Pylori*⁸, *H. influenzae*, *L. pneu-*

⁶ N. Gaudal et al., *Diagnostic Value of Lactoferrin Analysis in Pleural Effusions*, “European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry” 1994, No. 32 (7), s. 521–524.

⁷ N. Francis et al., *Lactoferrin Inhibits Neutrophil Apoptosis Via Blockade of Proximal Apoptotic Signaling Events*, “Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research” 2011, No. 1813 (10), s. 1822–1826.

⁸ S. J. C. Farnaud et al., *Saliva: Physiology and Diagnostic Potential in Health and Disease*, “The Scientific World Journal” 2010, No. 10, s. 434–456.

*mophila*³. Bakterie z rodziny *Moraxellaceae* oraz *Neisseriaceae* wykształciły na powierzchni swoich ścian komórkowych receptory umożliwiające wiązanie laktoferyny bądź transferyny i pobranie żelaza wprost z tych białek, przez co w ich przypadku obecność holo-laktoferyny sprzyja ich wzrostowi⁹. Antybakteryjny mechanizm działania laktoferyny niezależny od wiązania żelaza polega na wiązaniu N-końcowej części białka do ściany komórkowej bakterii, doprowadzając do jej uszkodzenia.

Inną ważną funkcją laktoferyny jest zdolność do obniżania adhezji komórek bakterii do tkanek. W przypadku szczepu *E. coli* laktoferyna w dużym stopniu hamowała zarówno wzrost, jak i adhezję do komórek nabłonka jelita¹⁰. Działanie laktoferyny polega na zwiększeniu ruchliwości bakterii i tym samym utrudnieniu im tworzenia biofilmu – rozbudowanej kolonii bakterii, która najczęściej pokrywa się wieloma substancjami, które izolują ją od działania antybiotyków i leków. Bakterie rosnące w formie biofilmu są wielokrotnie bardziej odporne na antybiotyki niż te w formie planktonicznej³. Zdolność do hamowania rozwoju biofilmu przez laktoferynę może zostać wykorzystana podczas tworzenia bezpieczniejszych implantów między innymi w dentystyce. Zastosowanie antybiotykoterapii równoległe z procesem implantacji było do tej pory powszechnym rozwiązaniem, jednak ogólnie obserwowany trend wzrostu lekooporności u wielu szczepów bakterii wymaga zastosowania innych kroków zapobiegawczych. Badaniami potwierdzającymi niezwykle multipotencjalność laktoferyny, bezspornie czyniąc z niej białko wielu biotechnologicznych możliwości XXI wieku, było wykazanie, że pokrycie powierzchni tytanowej peptydem 1-11 ludzkiej laktoferyny znacznie redukuje adhezję bakterii i tworzenie formacji biofilmu¹¹. Zdolność ta daje nadzieję na wykorzystanie laktoferyny nie tylko w dentystyce, ale także w innych gałęziach implantologii oraz transplantologii. Ten sam peptyd 1-11 human lactoferrin (1-11 hLf) zalicza się do peptydów antybakteryjnych (ang. AMP – *antymicrobial peptides*), dlatego może znaleźć zastosowanie w leczeniu infekcji wywołanych przez szczepy, które rozwinęły lekooporność przeciw standardowym antybiotekom. Takim przykładem jest szczep *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty), który rozwinął odporność na szereg stosowanych leków, a także MRSA (ang. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), szczep odporny na metycylinę, VRSA, szczep odporny na wankomycynę, i wiele

⁹ A. J. Beddek, A. B. Schryvers, *The Lactoferrin Receptor Complex in Gram Negative Bacteria*, "BioMetals" 2010, No. 23 (3), s. 377–386.

¹⁰ M. A. Yekta et al., *Lactoferrin Inhibits E. coli O157:H7 Growth and Attachment to Intestinal Epithelial Cells*, "Veterinarni Medicina" 2010, No. 55 (8), s. 359–368.

¹¹ M. Godoy-Gallardo et al., *Covalent Immobilization of hLf1-11 Peptide on a Titanium Surface Reduces Bacterial Adhesion and Biofilm Formation*, "Acta Biomaterialia" 2014, No. 10 (8), s. 3522–3534.

innych¹². Należy zaznaczyć, że do wzrostu oporności szczepów doprowadziło przede wszystkim częste nadużywanie antybiotyków w przypadkach, w których możliwe było zastosowanie „łżejszego”, lecz czasochłonnego leczenia. Obecnie konieczne jest wynalezienie nowej formy terapii, ponieważ bakterie wciąż mutują i wykształcają lekooporność, zwłaszcza gdy nie zdajemy sobie sprawy ze zgubnych konsekwencji nadużywania antybiotykoterapii. Wspomniany peptyd laktoferyny jest kandydatem do przyszłych badań. Przewiduje się, że kombinacja tradycyjnych leków z szeroko pojętymi peptydami antybakteryjnymi (m.in. Lf 1-11) będzie prezentowała dużą skuteczność wobec bakterii opornych na konwencjonalne leki¹³. Wykorzystanie różnego rodzaju systemów ekspresji białek, takich jak bakterie lub inne organizmy, by produkowały peptydy, które uznamy za skuteczne, upraszcza syntezę i obniża jej koszty, sprawia też, że terapia bazująca na AMP może znaleźć w przyszłości bardzo ważne zastosowanie.

FUNKCJA ANTYWIRUSOWA

Aktywność przeciwwirusową laktoferyny potwierdzają liczne badania naukowe. Do wirusów szczególnie wrażliwych na Lf należą: wirus HIV, wirusy zapalenia wątroby typu C oraz B (HCV, HBV), wirusy grypy A, wirus paragrypy PIV, syncytialny wirus oddechowy RSV¹⁴. Efekty, jakie wywiera laktoferyna na wspomniane patogeny w warunkach *in vitro*, są interesujące i wymagają dalszych badań. Wpływ białka na wirusy powodujące gripę oraz przeziębienie zasługuje na szczególną uwagę, ponieważ zachorowalność jest dość częsta i gdyby potwierdzono wpływ laktoferyny i odkryto dokładny mechanizm działania, wskazane byłoby wprowadzenie suplementacji lub położenie nacisku na dietę bogatą w produkty zawierające laktoferynę w okresie zwiększonej zachorowalności. Badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem wirusów grypy typu A wskazują, że obecność laktoferyny hamuje replikację niektórych z nich: H1N1, H3N2, a także *Adenoviridae* EV71 oraz niektórych enterowirusów. Do-

¹² I. M. Gould, *Treatment of Bacteraemia: Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) to Vancomycin-Resistant S. aureus (VRSA)*, "International Journal of Antimicrobial Agents" 2013, No. 42 (SUPPL.1), S17–S21.

¹³ C. P. J. M. Brouwer, M. Rahman, M. M. Welling, *Discovery and Development of a Synthetic Peptide Derived from Lactoferrin for Clinical Use*, "Peptides" 2011, No. 32 (9), s. 1953–1963.

¹⁴ J. Artym, op. cit.; F. Berlutti et al., *Antiviral properties of Lactoferrin/A Natural Immunity Molecule*, "Molecules" 2011, No. 16 (8), s. 6992–7012; B. W. A. van der Strate et al., *Antiviral Activities of Lactoferrin*, "Antiviral Research" 2010, No. 52 (3), s. 225–239.

datkowo laktoferyna wykazała zdolność do zmniejszania efektów cytopatogen-nych towarzyszących zakażeniu wirusowemu¹⁵.

Badania *in vivo*, przeprowadzone na małej grupie pacjentów, udowodniły, że podawanie laktoferyny redukuje dokuczliwość objawów powodowanych przez infekcję wirusową. Laktoferyna w widoczny sposób hamuje replikację wirusów HIV oraz HBV poprzez hamowanie działania odwrotnej transkryptazy¹⁶. Warto jednak wspomnieć, że laktoferyna nie jest traktowana jako lek, zwraca się jedynie uwagę na jej pozytywny wpływ w początkowej fazie zakażenia w hamowaniu postępu infekcji. Jest to ważny aspekt, ponieważ potwierdza tezę, że laktoferyna jest białkiem multipotencjalnym, białkiem wielu nowych możliwości.

WŁAŚCIWOŚCI ANTYGRZYBICZE

Laktoferyna wykazuje również aktywność antygrzybiczą, która, podobnie jak w przypadku działania antybakteryjnego, jest determinowana przez jej dodatnio naładowany N-końcowy łańcuch polipeptydowy. Poprzez interakcję ze ścianami komórkowymi grzybów prowadzi do ich dezintegracji. Grzyby z gatunku *Candida albicans* występują jako składnik fizjologicznej flory przewodu pokarmowego u dużej części populacji ludzkiej, przede wszystkim u osób stosujących dłuższe leczenie antybiotykami bądź u osób z obniżoną odpornością. Przeprowadzono badania, w których do kolonii grzyba *Candida albicans*, *C. tropicalis* oraz *C. krusei* dodawano zwykle mleko, mleko pozbawione laktoferyny, mleko z dodatkiem laktoferyny oraz mleko z dodatkiem laktoferyny i wolnego żelaza. W przypadku mleka z dodatkiem laktoferyny obserwowano drastyczny spadek wzrostu wszystkich trzech gatunków. W pozostałych przypadkach był obserwowany wzrost, a wyniki były porównywalne¹⁷. Laktoferyna mogłaby być wykorzystana w tym kontekście jako substancja wspierająca leczenie zakażeń grzybiczych. Działanie laktoferyny polegałoby na hamowaniu wzrostu, podczas gdy inna substancja czynna zabijałaby patogenne grzyby. Innym możliwym aspektem aplikacyjnym jest wykorzystanie jej jako dodatku do diety podczas antybiotykoterapii, by dać szansę osłabionemu układowi odpornościowemu na kontrolowanie populacji grzybów *Candida*.

¹⁵ H. Jenssen, R. E. W. Hancock, *Antimicrobial Properties of Lactoferrin*, "Biochimie" 2009, No. 91 (1), s. 19–29; H. Wakabayashi et al., *Lactoferrin for Prevention of Common Viral Infections*, "Journal of Infection and Chemotherapy" 2014, No. 20 (11), s. 666–671.

¹⁶ J. H. Wong et al., *A Study of Effects of Peptide Fragments of Bovine and Human Lactoferrins on Activities of Three Key HIV-1 Enzymes*, "Peptides" 2014, No. 62, s. 183–188.

¹⁷ H. Al-Sheikh, *Effect of Lactoferrin and Iron on the Growth of Human Pathogenic Candida Species*, "Pakistan Journal of Biological Sciences" 2009, No. 12 (1), s. 91–94.

ROLA WYSYCENIA ŻELAZEM

W kontekście aktywności antybakteryjnej laktoferyny badania sugerują, iż holo-laktoferyna jest znacznie mniej aktywna w stosunku do formy apo. Biorąc pod uwagę mechanizm działania laktoferyny jako białka pozbawiającego patogenne mikroorganizmy żelaza, jest to w pełni uzasadnione. Apolaktoferyna wiąże żelazo, przechodząc w formę holo i tym samym zmniejszając proliferację bakterii, grzybów lub wirusów. Hololaktoferyna jest transporterem i donorem jonów żelaza. Dzięki receptorom występującym na powierzchni komórek laktoferyna transportowana jest do wnętrza komórki, gdzie w środowisku obniżonego pH endosomu może uwolnić jony żelaza(II). Uwolnione żelazo może być wykorzystane przez komórkę. Niemniej jednak należy zaznaczyć, że ostatnie badania i dyskusje negują udział laktoferyny w metabolizmie żelaza, podkreślając, że pełni ona w organizmie raczej rolę immunoprotekcyjną¹⁰. W odniesieniu do wspomnianego wcześniej wpływu białka na apoptozę granulocytów obojętnochłonnych poziom wysycenia żelazem także nie jest bez znaczenia. Obecnie proponowany mechanizm działania laktoferyny, powodujący opóźnienie śmierci neutrofilów, sugeruje, że główną przyczyną spontanicznej apoptozy są reaktywne formy tlenu. Teoria ta wskazuje, że śladowe ilości wolnego żelaza katalizują powstawanie reaktywnych form tlenu, które z kolei prowadzą do apoptozy neutrofilów⁹. Pojawienie się apo-laktoferyny w układzie *in vitro* opóźnia apoptozę, ponieważ białko kompleksuje wolne jony żelaza, chroniąc organizm przed powstaniem reaktywnych form tlenu powodujących śmierć neutrofilów.

PODSUMOWANIE

Reasumując, laktoferyna jest niezaprzeczanie białkiem multipotencjalnym o różnorodnych właściwościach. Charakteryzuje się zdolnością wiązania żelaza, wykazuje szereg właściwości antymikrobiologicznych oraz pośrednio i bezpośrednio wpływa na układ odpornościowy ssaków, w tym człowieka. Naukowcy dopatrują się w tym białku wielu biotechnologicznych, a także medycznych rozwiązań, traktując je jako czynnik zmniejszający ryzyko zakażeń w protetyce oraz implantologii, a także pokładają nadzieję w możliwości opracowania nowych, skuteczniejszych terapii lekowych z laktoferyną jako jednym ze składników. Otwarty pozostaje także temat suplementacji laktoferyną i wpływu takiej suplementacji na odporność i układ trawienny oraz jego florę bakteryjną.

Bez wątpienia jest to jedno z najintensywniej badanych białek ostatniej dekady, które odkrywa przez naukowcami kolejne właściwości, wobec czego pozostaje bezsporne, że potrzebne są dalsze badania pozwalające wykorzystać w pełni potencjał laktoferyny i jej pochodnych.

LACTOFERRIN – A MULTIPOTENTIAL PROTEIN

ABSTRACT

Lactoferrin is a protein found in body and secretory fluids: colostrum, milk, tears, saliva and in neutrophils. It exhibits a number of different functions, and for decades has attracted the attention of researchers. Lactoferrin has been proven to possess immunomodulatory, anti-inflammatory, bacteriostatic, antibacterial, antifungal and antiviral activity so far. In addition to above mentioned functions, it has been attributed to anti-cancer activity. The structure as well as the functions, depending on the place where it is secreted were described. Clarification of the role and mechanism of action of lactoferrin still require further research. Interesting question is how a single protein can perform a number of different functions.

KEYWORDS

Human Lactoferrin (HLf), apolactoferrin, antimicrobial peptide, lactoferricin, immunomodulation, antiviral/antibacterial activity

BIBLIOGRAFIA

1. Al-Sheikh H., *Effect of Lactoferrin and Iron on the Growth of Human Pathogenic Candida Species*, "Pakistan Journal of Biological Sciences" 2009, No. 12 (1), s. 91–94.
2. Artym J., *Laktoferyna – niezwykle białko*, Warszawa 2012.
3. Baker E. N., Baker H. M., *A Structural Framework for Understanding the Multifunctional Character Of Lactoferrin*, "Biochimie" 2009, No. 91 (1), s. 3–10.
4. Beddek A. J., Schryvers A. B., *The Lactoferrin Receptor Complex in Gram Negative Bacteria*, "BioMetals" 2010, No. 23 (3), s. 377–386.
5. Bellamy W. et al., *Identification of the Bactericidal Domain of Lactoferrin*, "Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Protein Structure and Molecular" 1992, No. 1121 (1–2), s. 130–136.
6. Berlutti F. et al., *Antiviral properties of Lactoferrin/-A Natural Immunity Molecule*, "Molecules" 2011, No. 16 (8), s. 6992–7012.
7. Brouwer C. P. J. M., Rahman M., Welling M. M., *Discovery and Development of a Synthetic Peptide Derived from Lactoferrin for Clinical Use*, "Peptides" 2011, No. 32 (9), s. 1953–1963.
8. Farnaud S. J. C. et al., *Saliva: Physiology and Diagnostic Potential in Health and Disease*, "The Scientific World Journal" 2010, No. 10, s. 434–456.
9. Francis N. et al., *Lactoferrin Inhibits Neutrophil Apoptosis Via Blockade of Proximal Apoptotic Signaling Events*, "Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research" 2011, No. 1813 (10), s. 1822–1826.
10. Godoy-Gallardo M. et al., *Covalent Immobilization of hLf1-11 Peptide on a Titanium Surface Reduces Bacterial Adhesion and Biofilm Formation*, "Acta Biomaterialia" 2014, No. 10 (8), s. 3522–3534.
11. Gould I. M., *Treatment of Bacteraemia: Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) to Vancomycin-Resistant S. aureus (VRSA)*, "International Journal of Antimicrobial Agents" 2013, No. 42 (SUPPL.1), S17–S21.

12. Graudal N. et al., *Diagnostic Value of Lactoferrin Analysis in Pleural Effusions*, "European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry" 1994, No. 32 (7), s. 521–524.
13. Jenssen H., Hancock R. E. W., *Antimicrobial Properties of Lactoferrin*, "Biochimie" 2009, No. 91 (1), s. 19–29.
14. Levay P. F., Viljoen M., *Lactoferrin: A General Review*, "Haematologica" 1995, No. 80 (3), s. 252–267.
15. Liao Y., Jiang R., Lönnnerdal B., *Biochemical and Molecular Impacts of Lactoferrin on Small Intestinal Growth and Development During Early Life*, "Biochemistry and Cell Biology" 2012, No. 90 (3), s. 476–484.
16. Małaczewska J., Rotkiewicz Z., *Lactoferrin – A Multipotential Protein*, „Medycyna Weterynaryjna” 2007, nr 63 (2), s. 136–139.
17. van der Strate B. W. A. et al., *Antiviral Activities of Lactoferrin*, "Antiviral Research" 2010, No. 52 (3), s. 225–239.
18. Wakabayashi H. et al., *Lactoferrin for Prevention of Common Viral Infections*, "Journal of Infection and Chemotherapy" 2014, No. 20 (11), s. 666–671.
19. Wong J. H. et al., *A Study of Effects of Peptide Fragments of Bovine and Human Lactoferrins on Activities of Three Key HIV-1 Enzymes*, "Peptides" 2014, No. 62, s. 183–188.
20. Wong S. H. et al., *Lactoferrin is a Survival Factor for Neutrophils in Rheumatoid Synovial Fluid*, "Rheumatology" 2009, No. 48 (1), s. 39–44.
21. Yekta M. A. et al., *Lactoferrin Inhibits E. coli O157:H7 Growth and Attachment to Intestinal Epithelial Cells*, "Veterinarni Medicina" 2010, No. 55 (8), s. 359–368.

DOMINIKA SZOT, KAROLINA STARZAK,
ANNA SKOPIŃSKA, SŁAWOMIR WYBRANIEC
(CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY)

MASS SPECTROMETRIC DETECTION OF NEW BETALAINS IN *MAMMILLARIA* FLOWERS

ABSTRACT

Betacyanins are natural, red-violet betalain pigments which can be found in plenty of plants of the *Cactaceae* family. The *Mammillaria* is the widest genus of the *Cactaceae* family of which fruit was examined for betacyanins contents. As a result of the investigation, a new pigment structure, mammillarinin, was identified. Heretofore, no betacyanins of *Mammillaria coronata* flowers has been extensively studied. In this report, the results of betacyanin analysis by LC-DAD-ESI-MS/MS in the flower extract are presented.

KEYWORDS

natural pigments, betacyanins, *Cactaceae*, *Mammillaria*, LC-MS

NOTE ABOUT AUTHORS

Faculty of Chemical Engineering and Technology
Department of Analytical Chemistry, Institute C-1
Cracow University of Technology

Dominika Szot – e-mail: dszot@chemia.pk.edu.pl
Karolina Starzak – e-mail: kstarzak@chemia.pk.edu.pl
Anna Skopińska – e-mail: askopin@chemia.pk.edu.pl
Sławomir Wybraniec – e-mail: swybran@chemia.pk.edu.pl

INTRODUCTION

Betacyanins are a group of water-soluble, red-violet pigments occurring in plants of the *Caryophyllales* order which gain importance in regard to their pro-health, antioxidant activity¹. Many species of the *Cactaceae* family, which belong to the *Caryophyllales* order, contain betacyanins in their fruits and flowers. Within the family, *Mammillaria* genus is the largest among many others. In general, these plants have small or midsized globose to elongated shape, with distinctly tuberculate stem morphology. The color gradient of flowers goes from pink to white. They grow at the top of the plant creating a crown².

Hitherto, betacyanins from several species of the *Cactaceae* family like *Hylocereus* and *Opuntia* were extensively studied³. However, as regards *Mammillaria* genus, only the pigment profile of the fruits was exclusively tested⁴.

Structurally, betacyanins are immonium conjugates of betalamic acid with *cyclo*-DOPA or frequently *O*-glucosylated *cyclo*-DOPA. Glucosylation at C5 position is characteristic for betanin-type betacyanins named after betanin, the simplest betacyanin. Other types are gomphrenin-type betacyanins, which are 6-*O*-glucosylated derivatives and amaranthine-type derivatives⁵. The *O*-glycosides esterification with organic acids is very common in betacyanin structures and leads to the occurrence of many acylated derivatives, for instance: ferulic, p-coumaric, synapic and malonic acid (Figure 1).

¹ D. Strack, W. Steglich, V. Wray, [in:] *Methods in Plant Biochemistry*, eds. P. M. Dey, J. B. Harborne, P. G. Waterman, "Academic Press" 1993, No. 8, p. 422; D. A. Moreno, C. Garcia-Viguera, J. I. Gil, A. Gil-Izquierdo, *Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health*, "Phytochem Rev" 2008, No. 7, pp. 261–262.

² C. A. Butterworth, R. S. Wallace, *Phylogenetic studies of Mammillaria (Cactaceae) – insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap1*, "Am. J. Bot." 2004, No. 91 (7), p. 1086.

³ S. Wybraniec, I. Platzner, S. Geresh, H. E. Gottlieb, M. Haimberg, M. Mogilnitzki, Y. Mizrahi, *Betacyanins from vine cactus Hylocereus polyrhizus*, "Phytochemistry" 2001, No. 58, pp. 1209–1212; F. C. Stintzing, A. Schieber, R. Carle, *Identification of Betalains from Yellow Beet (Beta vulgaris L.) and Cactus Pear [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.] by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, "J. Agric. Food Chem." 2002, No. 50, p. 2302.

⁴ S. Wybraniec, B. Nowak-Wydra, *Mammillarinin: A New Malonylated Betacyanin from Fruits of Mammillaria*, "J. Agric. Food Chem." 2007, No. 55, pp. 8138–8143.

⁵ Y. Cai, M. Sun, H. Corke, *HPLC Characterization of Betalains from Plants in the Amaranthaceae*, "J Chromatog Sci" 2005, No. 43, pp. 455–456.

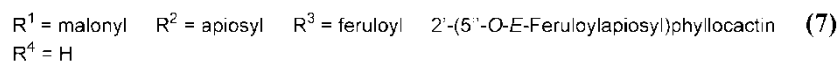
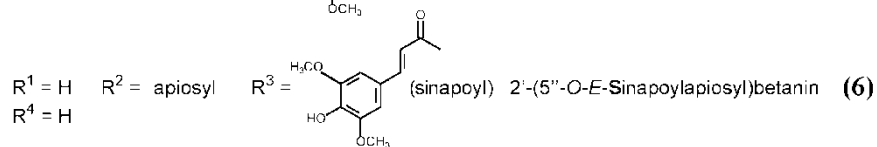
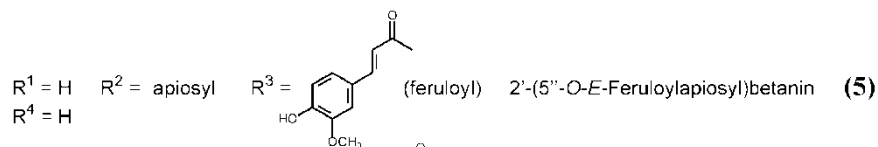
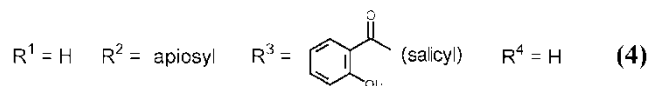
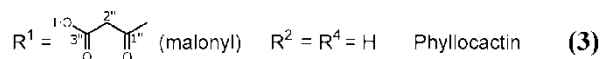
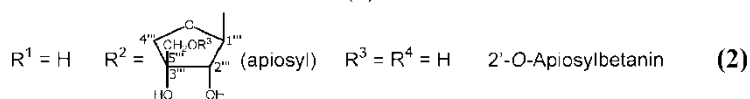
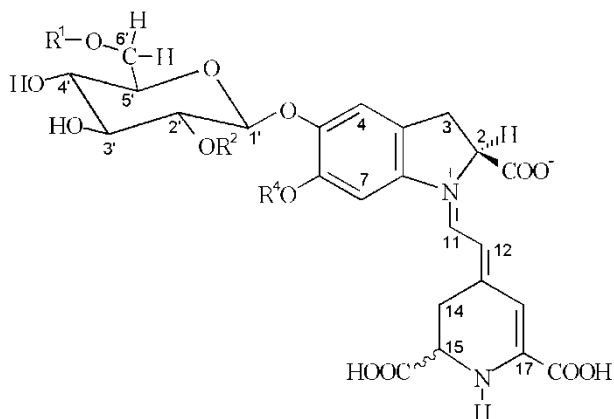


Figure 1. Structures of several betacyanins identified in *Mammillaria coronata* flowers

The presence of acyl moiety in the betacyanin structure is related to a specific absorption maximum of hydroxycinnamoyl (ferulic, p-coumaric, synapic) moiety at ca. 330 nm⁶. Most of betacyanins have C15 diastereoisomeric isoforms⁷. This results in an immense diversity of their structures from which a large part remains unknown.

MATERIAL AND METHODS

Reference pigments for co-injection experiments

Reference samples of acylated betacyanins, used for identification of newfound betacyanins in the extract tested by co-injection experiments, were isolated from fruits of *Hylocereus polyrhizus*, *Hylocereus ocamponis*, *Hylocereus undatus* and *Phytolacca americana* berries, in accordance with the previous studies⁸.

Chromatographic analysis

For high-performance liquid chromatographic analysis, a Gynkotek HPLC system with UVD340U, Gynkotek HPLC Pump Series LPG-3400A, a thermostat (Gynkotek Separations, H.I. Ambacht, The Netherlands) were used. For data collection and handling as well as chromatograph operation monitoring, the software package Chromeleon 6.0 (Gynkotek Separations) was used. An ONYX monolithic column, 100 x 4.6 mm i.d. with a guard column (Phenomenex, Torrance, CA, USA), was utilised for pigment separation. The column was thermostated at temp. 35°C. The following gradient elution system was applied: 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 injection volume was 10 µL, and the flow rate was 0.5 mL/min. The spectrometric detection was performed at 538, 505, 480, 450 and 310 nm and in the DAD (diode-array detection) mode in the case of the UV-Vis spectra acquisition. The same chromatographic conditions were applied for the LC-ESI-MS/MS analyses.

⁶ F. C. Stintzing, R. Carle, *Functional properties of anthocyanins and betacyanins in plants, food, and human nutrition*, "Trends Food Sci. Technol." 2004, No. 15, p. 23.

⁷ D. Strack, W. Steglich, V. Wray, op. cit.

⁸ S. Wybraniec, B. Nowak-Wydra, K. Mitka, P. Kowalski, Y. Mizrahi, *Minor betalains in fruits of Hylocereus species*, "Phytochemistry" 2007, No. 68, p. 251; G. Jerz, T. Skotzki, K. Fiege, P. Winterhalter, S. Wybraniec, *Separation of betalains from berries of Phytolacca Americana by ion-pair high-speed counter-current chromatography*, "J. Chromatogr. A" 2008, No. 1190, pp. 63–73.

LC-ESI-MS/MS analysis

The positive ion electrospray mass spectra were recorded on ThermoFinnigan LCQ Advantage (electrospray voltage 4.5 kV; capillary 250°C; sheath gas: N₂) with a ThermoFinnigan LC Surveyor pump utilizing the same HPLC gradient. The ThermoFinnigan Xcalibur software (San Jose, CA, USA) was used for MS controlling as well as 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 in order to improve trapping efficiency and as the collision gas for the CID experiments.

RESULTS AND DISCUSSION

The pigment identification was based on detected m/z values of protonated molecular ions $[M+H]^+$ and fragmentation ions, characteristic absorption maxima of particular pigments ($\lambda_{\max}$ II) as well as retention times in comparison with co-injection data. The number of acyl moieties in the structures was deduced also from the height of the absorption band I of the hydroxycinnamoyl moieties ($\lambda_{\max}$ HCA/I). All chromatographic and mass spectrometric data are presented in Table 1.

Tab. 1. Optical and mass spectrometric data of the betacyanins present in the extract

No.	Compound	R_t [min]	$\lambda_{\max}^a$ I: [nm]	$\lambda_{\max}^b$ II: [nm]	Abs. Ratio II:I	m/z [$M+H$] ⁺	m/z from MS/MS of [$M+H$] ⁺
1	Betanidin 5- <i>O</i> - β -glucoside (betanin)	7.9	-	535	-	551	389
2	2'- <i>O</i> -Apiosyl-betanin	8.6	-	536	-	683	551; 389
1'	Isobetanidin 5- <i>O</i> - β -glucoside (isobetanin)	9.1	-	535	-	551	389
2'	2'- <i>O</i> -Apiosyl-isobetanin	10.2	-	536	-	683	551; 389
3	6'- <i>O</i> -Malonyl-betanin (phyllocactin)	9.9	-	536	-	637	619; 593; 551; 389
3a	4'- <i>O</i> -Malonyl-betanin	10.4	-	536	-	637	619; 593; 551; 389

3'	6'-O-Malonyl-isobetanin (isophyllocactin)	10.6	-	536	-	637	619; 593; 551; 389
3a'	4'-O-Malonyl-isobetanin	11.1	-	536	-	637	619; 593; 551; 389
4	5''-O-Salicyl-2'-O-apiosyl-betanin ^c	11.5	-	542	-	803	683; 551; 389
4'	5''-O-Salicyl-2'-O-apiosyl-isobetanin ^c	12.4	-	542	-	803	683; 551; 389
5	5''-O-E-feruloyl-2'-O-apiosyl-betanin	16.1	326	547	1:0.46	859	683; 551; 389
6	5''-O-E-sinapoyl-2'-O-apiosyl-betanin	16.3	327	548	1:0.53	889	683; 551; 389
5'	5''-O-E-feruloyl-2'-O-apiosyl-isobetanin	16.4	327	547	1:0.49	859	683; 551; 389
6'	5''-O-E-sinapoyl-2'-O-apiosyl-isobetanin	16.6	328	548	1:0.48	889	683; 551; 389
7	5''-O-E-Feruloyl-2'-O-apiosyl-phyllocactin	17.7	328	551	1:0.49	945	769; 683; 551; 389
7'	5''-O-E-Feruloyl-2'-O-apiosyl-isophyllocactin	18.2	331	550	1:0.53	945	769; 683; 551; 389

^a $\lambda_{\max}$ of hydroxycinnamoyl moiety (HCA/I), -, no absorbance band

^b $\lambda_{\max}$ of betacyanins in the visible range (II)

^c Tentatively identified

Identification of betacyanins in the flowers of *Mammillaria coronata* reveals an occurrence of betanin, the simplest polar betacyanin, which was previously detected in *Hylocereus* species [3]. However, the dominant pigment in the extract is 2'-O- β -apiosyl-betanin/isobetanin **2/2'**. Its presence is suggested by the protonated molecular ion ($[M+H]^+$), which is found at m/z 683. The fragmentation ion indicates a deficit of apiosyl moiety ($\Delta m/z$: $683 - 551 = 132$). Another abundant pigment is 6'-O-malonyl-betanin/isobetanin **3/3'** (m/z 637). As a result of fragmentation, an ion without malonyl moiety ($\Delta m/z$: $637 - 551 = 86$) is detected. The trivial name of **3/3'** is phyllocactin/isophyllocactin; it was previously detected in *Mammillaria* fruit⁹. The MS detector registered two small additional peaks at m/z 637, after the corresponding phyllocactin/isophyllocactin peaks, respectively. These isomeric pigments were identified as phyllocactin positional

⁹ S. Wybraniec, B. Nowak-Wydra, op. cit.

isomers (**3a/3a'**) which are acyl migration products of phyllocactin/isophyllocactin. The malonyl migration in phyllocactin presumably proceeds from the C'-6 to the C'-4 carbon. The phenomenon of acyl migration in betacyanins has been recently noticed, and further studies supported this finding. In each case, the resulting equilibrated pigment composition favours the 6'-O-malonylated forms. The formation of an intermediate strainless cyclic ortho ester structure between the glucosidic O-4' and O-6' hydroxyls, which was reported frequently in many cases of acyl migration in acylated β -D-glucosides, can also be responsible for the interconversion between these isomers¹⁰.

The results suggest also the occurrence of 5"-O-salicyl-2'-O-apiosyl-betanin/isobetanin **4/4'** ($[M+H]^+$ m/z 803) based on the fragmentation ion without salicyl moiety ($\Delta m/z$: 803 – 683 = 120), 5"-O-E-feruloyl-2'-O- β -apiosyl-betanin/isobetanin **5/5'** (m/z 859; $\Delta m/z$: 859 – 683 = 176) and 5"-O-E-sinapoyl-2'-O- β -apiosyl-betanin/isobetanin **6/6'** (m/z 889; $\Delta m/z$: 889 – 683 = 206) as well as 5"-O-E-feruloyl-6'-O-malonyl-2'-O- β -apiosyl-betanin/isobetanin **7/7'** (m/z 945). The second absorption maximum, at 330 nm, confirms the presence of feruloyl and sinapoyl derivatives of betacyanins. Additionally, the absorption ratio II:I of all hydroxycinnamoyl derivatives confirms an occurrence of a single moiety in each structure. These acylated pigments were not detected in *Mammillaria* fruits but their presence was previously revealed in *Hylocereus* species or *Phytolacca americana*¹¹.

CONCLUSIONS

Eight pairs of betacyanin diastereoisomers were identified in the extract of *Mammillaria coronata* flowers. The profile of the flower extract was compared with the fruit extracts studied previously. Four of the identified acylated betacyanins were not identified before in *Mammillaria* fruits. Their acyl moieties were tentatively defined by means of MS/MS analysis. Interestingly, phyllocactin positional isomers, 4'-O-malonyl-betanin/isobetanin were detected indicating malonyl moiety migration.

¹⁰ S. Wybraniec, B. Nowak-Wydra, K. Mitka, P. Kowalski, Y. Mizrahi, op. cit.

¹¹ Ibidem; G. Jerz, T. Skotzki, K. Fiege, P. Winterhalter, S. Wybraniec, op. cit.

BIBLIOGRAPHY

1. Butterworth C. A., Wallace R. S., *Phylogenetic studies of Mammillaria (Cactaceae) – insights from chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap1*, "Am. J. Bot." 2004, No. 91 (7), p. 1086.
2. Cai Y., Sun M., Corke H., *HPLC Characterization of Betalains from Plants in the Amaranthaceae*, "J Chromatog Sci" 2005, No. 43, pp. 455–456.
3. Jerz G., Skotzki T., Fiege K., Winterhalter P., Wybraniec S., *Separation of betalains from berries of Phytolacca Americana by ion-pair high-speed counter-current chromatography*, "J. Chromatogr. A" 2008, No. 1190, pp. 63–73.
4. Moreno D. A., Garcia-Viguera C., Gil J. I., Gil-Izquierdo A., *Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health*, "Phytochem Rev" 2008, No. 7, pp. 261–262.
5. Stintzing F. C., Carle R., *Functional properties of anthocyanins and betacyanins in plants, food, and human nutrition*, "Trends Food Sci. Technol." 2004, No. 15, p. 23.
6. Stintzing F. C., Schieber A., Carle R., *Identification of Betalains from Yellow Beet (Beta vulgaris L.) and Cactus Pear [Opuntia ficus-indica (L.) Mill.] by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, "J. Agric. Food Chem." 2002, No. 50, p. 2302.
7. Strack D., Steglich W., Wray V., [in:] *Methods in Plant Biochemistry*, eds. P. M. Dey, J. B. Harborne, P. G. Waterman, "Academic Press" 1993, No. 8, p. 422.
8. Wybraniec S., Platzner I., Geresh S., Gottlieb H. E., Haimberg M., Mogilnitzki M., Mizrahi Y., *Betacyanins from vine cactus Hylocereus polyrhizus*, "Phytochemistry" 2001, No. 58, pp. 1209–1212.
9. Wybraniec S., Nowak-Wydra B., *Mammillarinin: A New Malonylated Betacyanin from Fruits of Mammillaria*, "J. Agric. Food Chem." 2007, No. 55, pp. 8138–8143.
10. Wybraniec S., Nowak-Wydra B., Mitka K., Kowalski P., Mizrahi Y., *Minor betalains in fruits of Hylocereus species*, "Phytochemistry" 2007, No. 68, p. 251.

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

