

VII Ogólnopolska Konferencja Naukowa

**Współczesne zastosowanie metod
analitycznych w farmacji i medycynie**

Wrocław, 15 grudnia 2022 roku

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

**Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu
Medycznego im. Piastów Śląskich we
Wrocławiu**

ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław



PTSF WROCLAW



Organizatorzy

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku,
Pracownia Farmacji Przemysłowej

Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Farmacji Przemysłowej

Polskie Towarzystwo Studentów Farmacji Oddział Wrocław

Patronat Honorowy

Dziekan Wydziału Farmaceutycznego

Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dr hab. Marcin Mączyński, prof. UMW

Komitet Naukowy

Przewodnicząca: dr hab. Izabela Fecka, prof. UMW

Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Dr hab. Elżbieta Kamysz, prof. UG

Katedra Biotechnologii Molekularnej,
Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego

Dr hab. n. med. Ernest Kuchar, prof. WUM

Klinika Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym,
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Dr hab. n. farm. Adam Kowalczyk

Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Pracownia Farmacji Przemysłowej,
Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we
Wrocławiu



Komitet Organizacyjny



Przewodnicząca: mgr farm. Katarzyna Karłowicz-Bodalska

Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Pracownia Farmacji Przemysłowej,
Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we
Wrocławiu

Przewodnicząca studenckiego komitetu organizacyjnego

Natalia Sauer

Studenckie Koło Naukowe przy Pracowni Farmacji Przemysłowej

Martyna Rokosa
Magdalena Sawińska
Laura Jonderko
Małgorzata Oślizło
Dominika Kunachowicz
Aleksandra Nast
Oliwia Klimek
Agnieszka Sałek
Adrianna Rogowska
Agata Muszyńska
Gabriela Szczepaniak

Polskie Towarzystwo Studentów Farmacji Oddział Wrocław

Aleksandra Nast
Monika Kwaśnicka
Daria Jagiełła

Partnerzy Konferencji



PZWL



EgzaminLEK.pl

edra
URBAN & PARTNER



DOCTOR
QUEEN



MedPharm Polska
WIEDZA • NAUKA • PASJA

Medcases 

medycyna **praktyczna** 



crocs[™]

UZ
91.6FM

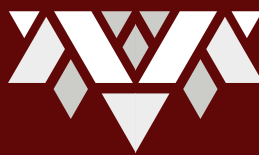
F.ARMY
ANIM
CORPUS



P.HYSIO
by corpus mind



Skrety ziolowej natury



WYSTĄPIENIA GOŚCI HONOROWYCH

MIKROBIOTA JELITOWA - MOŻLIWOŚCI OCENY JEJ ZABURZEŃ I SPOSOBY LECZENIA

Elżbieta Kamysz

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Biotechnologii, Molekularnej, Pracownia Chemii Makromolekuł Biologicznych, elzbieta.kamysz@ug.edu.pl

Mikrobiota to wszystkie mikroorganizmy (komensalne, symbiotyczne i patogenne) zasiedlające powierzchnię i wewnątrz ciała człowieka. Natomiast zbiór genów populacji drobnoustrojów kolonizujących poszczególne nisze ludzkiego ciała określa się pojęciem mikrobiom. Organizm człowieka i jego mikrobiom są ze sobą ściśle powiązane. Koegzystencja człowieka z mikroorganizmami trwa już około 200 tysięcy lat i pozwoliła obu partnerom idealnie dopasować się do wspólnie tworzonego układu. Prawidłowy w ilości i strukturze mikrobiom reguluje metabolizm i różne procesy fizjologiczne, zapewnia właściwe działanie układu odpornościowego i przebieg procesów metabolicznych, uczestniczy m.in. w trawieniu i wchłanianiu substancji odżywczych, wytwarza niektóre witaminy, przyspiesza pasaż jelitowy (zapobiega wzdęciom i zaparciom), hamuje namnażanie patogennych drobnoustrojów i wzrost komórek nowotworowych.

Niniejszy wykład będzie rozpoczynał się od przedstawienia czym jest mikrobiota a następnie zaprezentowane zostaną treści dotyczące składu mikrobioty, funkcji, czynników wpływających na jej kształtowanie oraz metod diagnostyki. Przedstawiony zostanie również związek dysbiozy mikrobiomu z występowaniem konkretnych jednostek chorobowych oraz przykładowe rozwiązania terapeutyczne. Najwięcej uwagi zostanie poświęcone mikrobiocie układu pokarmowego, a w szczególności jelita grubego, ponieważ jest ona najliczniejsza i najbardziej zróżnicowana.

Mikrobiota jelitowa wpływa na wiele aspektów fizjologii człowieka, a jej dysbioza może indukować powstawanie wielu przewlekłych chorób, często zaliczanych do tzw. chorób cywilizacyjnych np. cukrzycy czy celiakii. Mikrobiota jelitowa od dawna jest znana, ale dzięki jej nowo poznany funkcjom oraz rozwojowi i udoskonalaniu metod diagnostycznych, które stają się coraz dostępnejsze w praktyce klinicznej, w ciągu ostatniej dekady ponownie stała się obiektem zainteresowania wielu badaczy.

COVID-19 lekcją wakcynologii

Ernest Kuchar

Klinika Pediatrii z Oddziałem Obserwacyjnym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,

Polskie Towarzystwo Wakcynologii

Email: ernest.kuchar@wum.edu.pl

Perspektywa niespełna 3 lat trwającej pandemii pozwala wyciągnąć pierwsze wnioski dotyczące zapobiegania zakażeniom SARS-CoV-2, co stanowi cel pracy.

Pierwszy wniosek wynika z nieskuteczności działań przedsięwziętych na początku pandemii. Dzisiaj stało się oczywiste, że próby opanowania ogniska zachorowań przez wykrywanie chorych np. za pomocą pomiaru temperatury musiały zawieść, skoro zdecydowana większość zakażeń SARS-CoV-2, ponad 60%, pochodziła od osób bezobjawowych lub będących jeszcze w okresie wylęgania. Powszechnie zalecane środki zapobiegawcze obejmujące dystansowanie społeczne, noszenie masek oraz izolację osób zakażonych również nie okazały się skuteczne, ponieważ skupiono się na osobach objawowych. Jeszcze mniej efektywne okazały się dotkliwe społecznie ograniczenia w podróżowaniu, blokady granic, skrzepowanie działalności gospodarczej, kontrola zakażeń w miejscu pracy i śledzenie kontaktów osób zakażonych. Opracowanie szczepionek to trudny obszar badań.

Od dawna wiadomo było, że szczepionki oparte na mRNA będą najszybsze w produkcji. Nie było jednak pewne, czy będą równie immunogenne jak uzyskane w oparciu o inne platformy technologiczne. Doświadczenie pokazało jednak, że wyzwania związane z tzw. „ostatnią milą”, są równie ważne jak wdrożenie nowych technologii. Pierwsza szczepionka, firmy Pfizer była bardzo skuteczna, zapewniała 95% ochrony, jednak wymagała przechowywania w bardzo niskich temperaturach, czego nie mogły zapewnić ani punkty szczepień, ani apteki. Co gorsza, firma ustaliła minimalne zamówienie na 1000 dawek, co ograniczyło możliwości wykorzystania szczepionki. Jednocześnie w Internecie rozpoczęła się nagonka na szczepienia przeciw COVID-19. W ten sposób brak planowania i odpowiedniego finansowania organizacji szczepień doprowadził do małego odsetka zaszczepionych. Największą lekcją, jakiej udzielił COVID-19 wakcynologii było to, że w momencie rozpoczęcia pracy nad nową szczepionką, powinno się planować organizację szczepień, edukację i przekonywanie do nich

społeczeństwa. Niepodana szczepionka jest bowiem równie nieskuteczna jak by jej wcale nie było.

METODY ANALITYCZNE W OBLICZU NOWYCH WYZWAŃ W MEDYCYNIE SĄDOWEJ

Paweł Szpot

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Postęp w diagnostyce pośmiertnej jest ściśle związany z postępowaniem technologicznym i rozwojem metod analitycznych niezbędnych do wykrywania nowych trucizn, markerów zatrucia, czy parametrów biochemicznych mogących świadczyć o możliwych przyczynach zgonu. Współczesna toksykologia sądowa jest nauką stosunkowo młodą i swoje możliwości opiera głównie na metodach analitycznych. Dzisiejsze wyzwania w medycynie sądowej stanowią ciągle zmieniający się rynek nowych substancji psychoaktywnych tzw. dopalaczy, za którymi muszą nadążyć metody stosowane w toksykologii sądowej. Problemy może sprawić także udowodnienie zbrodniczego zatrucia dobrze poznanymi substancjami (np. GHB, CO, azotanami, cyjankami), ponieważ badania prowadzone w tej dziedzinie pokazały, że interpretacja wyników nie jest taka prosta jak wydawała się jeszcze kilkanaście lat temu. Ciekawym przykładem wyzwań stojących przed toksykologią sądową jest badanie nierutynowych dowodów rzeczowych takich jak odciski palców, odciski ust, plamy krwawe pozostawione na różnego rodzaju przedmiotach, ślady bytowania owadów, materiał entomotoksykologiczny czy materiał ekshumacyjny. Badania próbek, które jeszcze niedawno nie trafiały do laboratorium medycyny sądowej otwierają nowe możliwości w zbieraniu dowodów przestępstw przez Prokuraturę. Niektóre zbrodnie stają się coraz bardziej wyrafinowane a co za tym idzie wymagają indywidualnego podejścia do badań toksykologicznych. Współczesne wymagania stawiane laboratoriom toksykologii sądowej sprawiają, że metody muszą zużywać mało bezcennego materiału dowodowego, być bardzo czułe, szybkie oraz dawać jednoznaczne wyniki badań. Pomimo niewątpliwie bardzo dużego postępu technologicznego często nadal największym wyzwaniem jest nie samo stworzenie metody analitycznej a prawidłowa interpretacja wyników.

WYSTĄPIENIA USTNE

TOKSOPLAZMOZA WRODZONA, OPIS PRZYPADKU

Weronika Machaj, Tadeusz Sebzda

Katedra Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Toksoplazmoza wrodzona spowodowana jest zakażeniem kobiety ciężarnej pierwotniakiem Toksoplazma gondii. W związku z poważnymi następstwami zakażenia płodu, badania serologiczne w tej grupie są niezwykle istotne. W przypadku podejrzenia toksoplazmozy wrodzonej u noworodka, wykonuje się badania krwi w celu wykrycia przeciwciał. Istotne jest także powtarzanie badań, w celu określenia dynamiki zmian poziomu przeciwciał w czasie.

Chłopiec urodził się w 39 tygodniu ciąży i w trakcie jej przebiegu nie podejrzewano żadnej patologii. W związku z nadmiernym przyrostem obwodu głowy po porodzie, zdecydowano się wykonać badania obrazowe. W badaniu ultrasonograficznym przezciężniaczkowym stwierdzono istotne poszerzenie układu komorowego oraz rozpoznano narastające wodogłowie czterokomorowe. W badaniu TK głowy uwidoczniło się rozsiane zwapnienia w okolicy ciemieniowej oraz niewielkie w okolicy podwyściółkowej i obwodowej.

W związku z wynikiem powyższych badań wysunięto podejrzenie toksoplazmozy wrodzonej. Wykonano badania serologiczne, które potwierdziły wstępne podejrzenie. Włączono leczenie przeciwpierwotniakowe zgodnie ze schematem. W celu zmniejszenia ciśnienia śródczaszkowego wykonano zabieg implantacji zbiornika Rickhama. Ze względu na duże ryzyko zmian zapalnych w dnie oka, skonsultowano dziecko okulistycznie. Następnie przekazano chłopca do Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie celem dalszego leczenia.

OZNACZANIE GLIKOLU ETYLENOWEGO I KWASU GLIKOLOWEGO W POŚMIERTNYM MATERIALE BIOLOGICZNYM ZA POMOCĄ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ SPRZĘŻONEJ Z TANDEMOWĄ SPEKTROMETRIĄ MAS (GC-MS/MS)

Kaja Tusiewicz¹, Olga Wachelko², Marcin Zawadzki¹, Paweł Szpot¹

¹ Katedra Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Instytut Ekspertyz Toksykologicznych Sp. z o. o.

Glikol etylenowy jest alkoholem polihydroksylowym, którego produkcję szacuje się na 23 mld kg rocznie. Jego głównym zastosowaniem jest produkcja środków przeciw zamrażaniu, dodawanych do używanych w przemyśle motoryzacyjnym płynów hamulcowych, hydra ulicznych oraz płynów do chłodnicy. Spożycie glikolu etylenowego prowadzi do zatrucia składającego się z trzech faz, z czego początkowa faza zatrucia przypomina upojenie alkoholem etylowym, a w dalszych fazach obserwuje się objawy, które są skutkiem rozwijającej się kwasicy metabolicznej wywołanej gromadzeniem się kwasu mlekowego oraz metabolitów glikolu etylenowego.

Analizę przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego z kolumną chromatograficzną SH-RXI-5MS. Całkowity czas analizy wynosił 14.40 min, a jako detektor wykorzystano spektrometr mas z potrójnym kwadrupolem. użytą metodą jonizacji była jonizacja elektronami, a do oznaczenia substancji badanych posłużył tryb monitorowania reakcji następczych (MRM). Procedura przygotowania próbki obejmowała dodatek dwóch deuterowanych wzorców wewnętrznych (BHB-d₄ oraz glikol etylenowy-d₄), precypitację acetonitrylem oraz dodatek odczynnika derywatyzującego (MSTFA) do suchego ekstraktu.

Czas retencji bis-TMS pochodnych glikolu etylenowego, kwasu glikolowego, BHB-d₄ oraz glikolu etylenowego-d₄ wynosił odpowiednio: 5.415 min, 6.065 min, 6.557 min oraz 5.346 min. Metoda wykazywała liniowość w zakresie 1-450 µg/ml i 500-5000 µg/ml dla glikolu etylenowego oraz 50-2000 µg/ml dla kwasu glikolowego. Limit detekcji glikolu etylenowego oraz kwasu glikolowego wynosił odpowiednio 6.7 µg/ml oraz 16.7 µg/ml. Limit oznaczalności natomiast wynosił odpowiednio 20 µg/ml oraz 50 µg/ml.

Opracowaną i zwalidowaną metodę analityczną zastosowano do analizy dwóch pośmiertnych materiałów biologicznych: krwi oraz moczu, pobranych od trzech różnych osób podczas sekcji sądowo-lekarskiej. Stężenia glikolu etylenowego wynosiły 61-5204 µg/ml oraz 201-6670 µg/ml odpowiednio we krwi i w moczu. Stężenia kwasu glikolowego w tych materiałach wynosiły odpowiednio 1780-5901 µg/ml oraz 2564-5795 µg/ml.

WSTĘPNE BADANIA FRAKCJI FLAWONOIDOWEJ KĄKOŁA POLNEGO (*AGROSTEMMA GITHAGO* L.)

Aleksander K. Smakosz, Izabela Nawrot-Hadzik, Adam Matkowski

Katedra Biologii i Biotechnologii Farmaceutycznej UMW, Szkoła Doktorska UMW

Jedną z mało poznanych roślin o potencjalnym szerokim zastosowaniu w naukach biomedycznych i w przemyśle jest *Agrostemma githago* L. (Kąkol polny). Miała one pewne zastosowanie w tradycyjnych systemach leczniczych (krwawienia, wrzody, przetoki, wysypka, ból zębów i mięśni, choroby pasożytnicze), jednak nigdy nie została uznana za roślinę farmakopealną. Występuje ona jako chwast pól i w przeszłości miała dosyć istotne znaczenie toksykologiczne.

Dotychczasowo opisano w powyższym taksonie dwie grupy związków: saponiny triterpenowe oraz białka inaktywujące rybosomy (RIP = *Ribosome-inactivating Protein*), jednak grupą związków całkowicie ignorowaną przez środowisko fitochemiczne były flawonoidy i ich pochodne.

Celem mojej pracy jest przedstawienie wstępnych wyników analizy frakcji flawonoidowej kąkoła polnego.

Ziele *A. githago* z eksperymentalnej uprawy glebowej, z Ogrodu Botanicznego Roślin Leczniczych UMW zostały wykonane ekstrakty (ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami). Do przygotowania ekstraktów zostały zastosowane następujące układy rozpuszczalników: 90%, 70%, 50%, 20%, 10% metanol, wodę, butanol nasycony wodą, aceton:woda (4:1) i aceton:woda (7:1).

Otrzymane próbki zostały poddane analizie jakościowej w UHPLC-MS, celem oceny zawartości substancji biologicznie czynnych.

Wstępne wyniki wskazują, że frakcja flawonoidowa zawiera, m.in orientynę, izoorientynę i rutynę.

Powyższe doniesienia wskazują, że opisywane właściwości przeciwcukrzycowe, przeciwwirusowe i ekstraktów *A. githago* mogą wynikać nie tylko z działania saponin, a także flawonoidów. Jednak, aby to potwierdzić, potrzebne są dalsze badania.

WPLYW RÓŻNYCH STĘŻEŃ JONÓW EUROPU (Eu^{3+}) I MIEDZI (Cu^{2+}) NA WZROST BAKTERII PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Justyna Rewak-Soroczyńska^{1*}, Agata Dorotkiewicz-Jach², Rafał J. Wigłusz^{1*}

¹ Oddział Fizykochemii Biomedycznej, Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych
im. Włodzimierza Trzebiatowskiego Polskiej Akademii Nauk

² Zakład Biologii Patogenów i Immunologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet
Wrocławski

* j.rewak@intibs.pl; r.wiglusz@intibs.pl

Jony lantanowców (Ln^{3+}), ze względu na zdolność do luminescencji, wykorzystywane są jako sondy w bioobrazowaniu medycznym oraz dodawane są jako domieszki do nanomateriałów o potencjalnym zastosowaniu w implantologii. Jednym z takich materiałów jest hydroksyapatyt wapnia, który naturalnie występuje w organizmie człowieka jako składnik kości i zębów, natomiast na drodze syntezy chemicznej możliwe jest otrzymanie materiałów zmodyfikowanych, na przykład przez częściowe podstawienie kationów wapnia kationami o działaniu antybakteryjnym. Wśród takich jonów znajdują się Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} i/lub inne.

W związku z faktem, że badanie oddziaływań kationów w matrycy apatytowej jest skomplikowane, wstępnych określono wpływ jonów europu (Eu^{3+}) oraz miedzi (Cu^{2+}) w formie roztworów wodnych o różnych stężeniach, którymi suplementowano podłoże mikrobiologiczne.

Badania wykazały, że jony miedzi, w stężeniach subinhibicyjnych, wpływają znacząco na kinetykę wzrostu szczepów *P. aeruginosa*, a efekt końcowy zależy od stężenia jonów europu dodanych do podłoża. Ponadto zaobserwowano, że w podłożu z dodatkiem jonów europu tworzą się agregaty, prawdopodobnie z połączenia jonów Eu^{3+} ze składnikami pożywki. W obrazie mikroskopowym (jasne pole oraz mikroskop konfokalny) zaobserwowano zwiększone przyleganie komórek bakteryjnych do tych agregatów. W przypadku jonów miedzi, jak i w próbie kontrolnej, bakterie rosły w całej objętości podłoża i nie obserwowano powstawania skupisk.

EGZOSOMY – W POSZUKIWANIU ODPOWIEDZI NA KLUCZOWE PYTANIA BIOMEDYCZYNY

Dominika Kunachowicz, Magdalena Król, Milena Ściskalska, Marta Kepinska

Katedra Biochemii Farmaceutycznej, Zakład Biomedycznych Analiz Środowiskowych,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul.
Borowska 211a, 50-556 Wrocław

Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe (ang. *extracellular vesicles*, EVs) to grupa struktur biologicznych uwalnianych do macierzy zewnątrzkomórkowej z powierzchni błon większości komórek ssaków, pełniących kluczową rolę w komunikacji międzykomórkowej. W populacji EVs wyróżnia się 3 główne podtypy: największe ciała apoptotyczne, mniejsze mikropęcherzyki i najmniejsze egzosomy – kuliste nanostruktury o średnicy 30-120 nm otoczone dwuwarstwą lipidową, w których wnętrzu zamknięty jest ładunek (*cargo*) złożony z biomolekuł takich jak białka, lipidy, cząsteczki DNA oraz kodującego i niekodującego RNA. Co istotne, komponenty te podczas transportowania pęcherzyków często na duże odległości z komórek rodzicielskich do docelowych zachowują aktywność biologiczną, dzięki czemu egzosomy mogą pełnić rolę przekaźników mających na celu wywołanie określonej odpowiedzi w komórkach odbierających sygnał. Ponadto, jak obecnie wiadomo skład ten podlega ścisłej regulacji i odzwierciedla stan metaboliczny komórek, z których egzosomy zostały uwolnione [1].

Udowodniono, że egzosomy jako mediatory przekazu informacji między komórkami są zaangażowane w szerokie spektrum procesów fizjologicznych oraz patologicznych poprzez modulację szlaków sygnałowych i ekspresję genów, wobec czego analiza komponentów składających się na cargo egzosomu dostarczyć może bezcennej wiedzy w zakresie mechanizmów przekazu sygnału i interakcji na poziomie grup komórek oraz całego organizmu [2]. Może to przyczynić się do wykrycia nowych biomarkerów umożliwiających diagnozowanie lub ocenę progresji schorzenia, wraz z prognozą jego postępu i odpowiedzi na terapię. Izolacja egzosomów z surowicy, osocza krwi lub innych płynów biologicznych i analiza ich składu może więc stanowić nieinwazyjną alternatywę np. biopsji, a analiza tych pozyskanych z hodowli komórkowych pozwoli na uzyskanie nowej wiedzy dotyczącej przebiegu procesów biologicznych i patologicznych [3, 4].

Można zatem stwierdzić, że egzosomy charakteryzują się ogromnym potencjałem w dziedzinie biomedycyny. Prowadzenie nad nimi badań stanowi jednak wyzwanie m.in. z uwagi na trudności z izolacją tak małych i niejednorodnych struktur [5]. W ramach wystąpienia, zaprezentowane zostaną metody izolacji i identyfikacji egzosomów, kierunki badań nad nimi oraz ich znaczenie dla nauk biomedycznych.

Bibliografia:

1. Anand S, Samuel M, Kumar S, Mathivanan S. (2019). Ticket to a bubble ride: Cargo sorting into exosomes and extracellular vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1867(12), 140203.
2. Raposo G, Stahl PD. (2019). Extracellular vesicles: a new communication paradigm?. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(9), 509-510.
3. Lee MJ, Park DH, Kang JH. (2016). Exosomes as the source of biomarkers of metabolic diseases. *Annals of pediatric endocrinology & metabolism*, 21(3), 119-125.
4. Eguchi A, Kostallari E, Feldstein AE, Shah VH. (2019). Extracellular vesicles, the liquid biopsy of the future. *Journal of hepatology*, 70(6), 1292.
5. Shao H, Im H, Castro CM, Breakefield X, Weissleder R, Lee H (2018). New technologies for analysis of extracellular vesicles. *Chemical reviews*, 118(4), 1917-1950.

WPLYW POLA ELEKTRYCZNEGO NA EKSPRESJĘ ANTYGENÓW MAGE NA KOMÓRKACH CZERNIAKA

Wojciech Szlasa

Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Nanosekundowe impulsy elektryczne są wykorzystywane w wielu dziedzinach medycyny i biologii molekularnej. W onkologii czerniaka służą do indukowania śmierci nekrotycznej nowotworu oraz w elektrochemioterapii. Hipotezą naszych badań jest to, że impulsy elektryczne mogą być wykorzystane do zwiększenia ekspresji specyficznych antygenów, które następnie mogą stać się skuteczniejszym celem dla komórek i immunoterapii. Potencjalnie może to sprawić, że guz będzie widoczny dla układu odpornościowego. Antygenami specyficznymi dla czerniaka i rozpoznawanymi przez układ immunologiczny są antygeny z grupy MAGE.

W naszych badaniach wypracowaliśmy protokół traktowania komórek czerniaka polem elektrycznym, który powoduje egzocytotę pęcherzyków z błony komórek nowotworowych oraz nadekspresję antygenów z grupy MAGE. Za pomocą metod mikroskopii oraz biologii molekularnej wykazujemy mechanizm, w którym pole elektryczne powoduje przesunięcie antygenów z wnętrza komórki na błonę komórkową oraz wydzielenie pęcherzyków z antygenami MAGE do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. W dalszej części badań wykazujemy, że nasza metoda nadekspresji antygenów specyficznych dla nowotworu działa także na modelu 3D guza nowotworowego hodowanego *in vitro* oraz na tkankach czerniaka pobranych od pacjentów i hodowanych *ex vivo*. Na koniec przedstawiamy symulacje dynamiki molekularnej przedstawiające warunki potrzebne do wydzielania pęcherzyków wewnątrzkomórkowych.

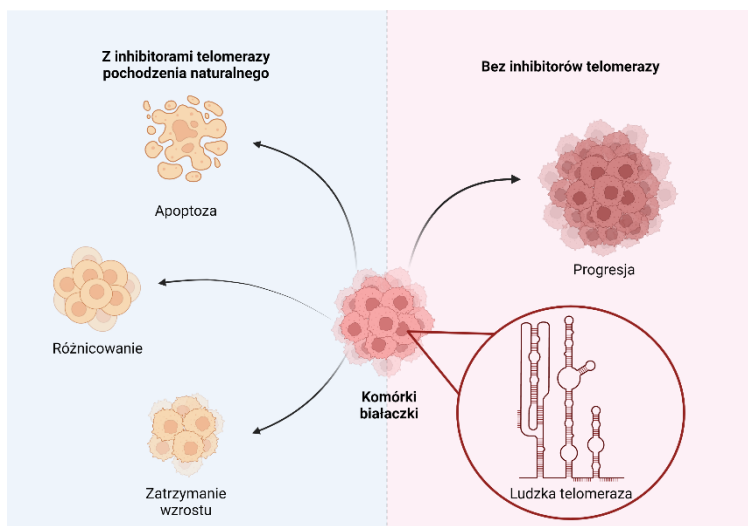
Przedstawione badania udowadniają, że nanosekundowe impulsy elektryczne mogą być potencjalnie używane do nadekspresji antygenów specyficznych dla nowotworów. W celu pełniejszego zrozumienia mechanizmów i potencjału klinicznego zastosowania trzeba poszerzyć badania.

INHIBICJA TELOMERAZY W BIAŁACZKACH PRZEZ NATURALNE SUBSTANCJE

Elżbieta Bartoszevska, Klaudia Molik

Studenckie Koło Naukowe Patologii Ogólnej i Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Telomeraza jest enzymem stabilizującym chromosomy. Jej zadaniem jest wydłużanie telomerów na końcu 3' nici opóźnionej DNA, co zabezpiecza materiał genetyczny przed potencjalnym uszkodzeniem. Enzym nie jest aktywny w komórkach somatycznych, ale za to w około 90% komórek nowotworowych obecna jest nadekspresja jego aktywności. Dlatego obecnie jest on celem współczesnych terapii nowotworowych. My jednak chcielibyśmy się skupić na roli naturalnych substancji w procesach inhibicji telomerazy w białaczkach.



Ryc. 1. Losy komórek białaczkowych w obecności i bez naturalnych inhibitorów telomerazy.

Polifenole są roślinnymi substancjami o działaniu przeciwzapalnym, przeciwnowotworowym i antyoksydacyjnym. Badania wykazały, że kurkumina, polifenol występujący w kurkumie, obniża aktywność telomerazy w różnych białaczkowych liniach komórkowych. Jednocześnie zwiększa ekspresję białka Bcl-2, białka indukującego apoptozę komórek. Podobne mechanizmy zaobserwowano także w obecności takich substancji jak: buteina, indolo-3-karbinol czy galusan epigallokatechiny.

Witaminy są znane z ich różnorodnych bioaktywności. W szczególności witaminy rozpuszczalne w tłuszczach są raportowane jako substancje anty-kancerogenne. Ich użycie jest preferowane, ze względu na mniejszy efekt cytotoksyczny i niewielkie skutki uboczne, które mogą wywołać podczas terapii nowotworowej. Ich pozytywne działanie zostało udowodnione zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i w badaniach klinicznych. Niektóre z nich, jak witamina A, są na tyle skuteczne, że zostały włączone do standardowego leczenia białaczek. Zrozumienie konkretnych procesów ich działania, może prowadzić do rozwoju terapii celowanych, które są lepiej tolerowane przez pacjentów.

ZNACZENIE METOD ANALITYCZNYCH W PODEJMOWANIU KLINICZNYCH ZECYZJI LECZENIA ASPERGILLOMA

Piotr Dorywała, Weronika Francuz, Wiktoria Marciniak

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,
SKN Torakochirurgii - opiekunowie: dr. hab. n.med. Adam Rzechonek, dr. n. med. Piotr
Błasiak

Wstęp: Aspergilloma jest guzem o etiologii grzybiczej. W diagnostyce różnicowej przydatne są: badania analityczne, mikrobiologiczne, mykologiczne, immunologiczne oraz histopatologiczne.

Cel: Przedstawienie metod różnicowania Aspergilloma na przykładzie przypadku klinicznego.

Material: U 56-letniego pacjenta wykryto zapalenie płuc. Badanie tomografii komputerowej (TK) wykazało guza płuca lewego o charakterystycznym obrazie Aspergilloma z objawem grzechotki. W celu ustalenia etiologii pobrano popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL), płwocinę oraz krew. Badania wykazały zakażenie *Aspergillus fumigatus*. Pacjent był leczony worikonazolem, po 2 miesiącach zgłosił się na kontrolę. Kolejne TK wykazało częściową regresję guza.

Metoda: Podstawą rozpoznania były: test antygenowy na galaktomannan oraz posiew z BAL, gdzie uzyskano dodatnie wyniki. Badania serologiczne z krwi wykazały znacznie podwyższony poziom IgE równy 256,00 IU/ml oraz podwyższony poziom IgG równy 15,35 g/l. W posiewie płwociny nie stwierdzono obecności grzyba.

Dyskusja: Pierwszym krokiem diagnozowania Aspergilloma jest wykonanie RTG i TK. Złotym standardem w potwierdzeniu diagnozy są metody serologiczne. Najważniejszym parametrem jest poziom IgG we krwi mierzony za pomocą immunofiksacji lub testami precypitacji. W przypadku gdy IgG jest ujemne, a obraz TK jest typowy dla Aspergilloma pomocnymi wskaźnikami są poziom IgE we krwi oraz testy antygenowe w kierunku galaktomannanu z BAL lub surowicy. Możliwe jest wykonanie hodowli z BAL, ma ona mniejsze znaczenie diagnostyczne.

Wyniki: Na podstawie wykonanych badań analitycznych i mikrobiologicznych pacjenta zakwalifikowano do leczenia worikonazolem, który spowodował częściową regresję guza oraz pozwolił na bezpieczne przeprowadzenie zabiegu. Umożliwiło to zmniejszenie zakresu resekcji guza i zmniejszenie ryzyka powikłań. Operacja i rekonwalescencja przebiegły bez powikłań.

Wnioski: Wyniki badań analitycznych mają bezpośrednie przełożenie na kwalifikację pacjentów do operacji. Wpływają nie tylko na stwierdzenie i różnicowanie, ale również na cały tok hospitalizacji i bezpieczne przeprowadzenie pacjenta przez cały proces leczniczy.

Słowa kluczowe: Aspergilloma, diagnostyka, analityka medyczna

ZESPÓŁ ŻÓŁTYCH PAZNOKCI – PREZENTACJA PRZYPADKU

Anita Froń¹, Izabela Skowron¹, Tymoteusz Trocha¹, Karolina Pansiuk²

¹Koło naukowe przy Katedrze i Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu - opiekunowie: dr hab. n.med. Adam Rzechonek, dr n.med. Piotr Błasiak

²Dolnośląskie Centrum Chorób Płuc, Dolnośląskie Centrum Torakochirurgii, Wrocław

Słowa kluczowe: Zespół żółtych paznokci, wysięki do jamy opłucnowej, drenaż jamy opłucnowej, obrzęki limfatyczne kończyn, pleurodeza

Wstęp: Zespół żółtych paznokci to bardzo rzadka jednostka chorobowa, zazwyczaj pojawia się u osób po 50 roku życia. Jest diagnozowany na podstawie specyficznej triady objawów - manifestacji ze strony układu oddechowego, obecności obrzęków obwodowych oraz żółtego zabarwienia i pogrubienia płytki paznokciowej.

Cel pracy: Celem pracy jest przedstawienie przypadku 55-letniego mężczyzny, który przejawiał objawy duszności związane z nawracającymi wysiękami do jam opłucnowych w przebiegu zespołu żółtych paznokci.

Materiał i metoda: 55-letni mężczyzna został przyjęty na Oddział Torakochirurgii z powodu obecności płynu w jamach opłucnowych w przebiegu zespołu żółtych paznokci z objawami duszności podczas niewielkiego wysiłku fizycznego. Na podstawie przeprowadzonych badań obrazowych, laboratoryjnych oraz czynnościowych chorego wielokrotnie kwalifikowano do drenaży jam opłucnowych oraz torakoskopii z pleurodezą. Rozpoznano zespół żółtych paznokci.

Wyniki: Wysiękowy płyn z jam opłucnowych zdrenowano, wykonano torakoskopię z pleurodezą, w wyniku czego pacjent poczuł się lepiej, a objawy duszności zniknęły.

Wnioski: W zespole żółtych paznokci pojawiają się obrzęki limfatyczne i wysięki opłucnowe. Do diagnostyki niezbędne jest holistyczne spojrzenie na pacjenta oraz całościowa ocena obrazu klinicznego. Drenaż jest skutecznym sposobem leczenia. W wybranych przypadkach stosuje się pleurodezę chemiczną lub talkową, która pozostaje również najskuteczniejszą metodą terapii.

Powyższy przypadek pokazuje, że wnikliwa analiza przypadku klinicznego jest niezbędna do postawienia właściwego rozpoznania, a następnie wdrożenia odpowiedniego leczenia dostosowanego indywidualnie do przypadku. Dokładna analiza płynu opłucnowego pozwala uściślić rozpoznanie choroby.

WYZWANIA ANALITYCZNE W STWIERDZANIU SAMOBÓJCZYCH ZATRUĆ AZOTYNEM SODU

Patryk Kuropka^{1,3}, Elżbieta Workiewicz^{1,3}, Kaja Tusiewicz^{2,3}, Marcin Zawadzki^{2,3},
Olga Wachelko³, Paweł Szpot^{2,3}

¹ Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii F, Fryderyka Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

² Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich wyb. Ludwika Pasteura 1, 50-367 Wrocław

³ Instytut Ekspertyz Toksykologicznych, Kasztanowa 45, 55-093 Borowa

Według Światowej Organizacji Zdrowia każdego roku 700 000 osób traci życie w wyniku popełnionego samobójstwa, co stanowi około 1% wszystkich przyczyn śmierci na świecie. W ostatnich latach na całym świecie, w tym w Polsce, obserwuje się rosnącą liczbę przypadków samobójczych zatruc azotynem sodu zakupionym w internecie. Ta rozpuszczalna w wodzie sól jest łatwo dostępna ze względu na jej szerokie zastosowanie w wielu dziedzinach m.in. w przemyśle spożywczym gdzie stosowana jest jako konserwant do mięs. Zażycie już kilkugramowej dawki może skutkować śmiertelnym zatruciem. Główny mechanizm toksyczności azotynu sodu obejmuje utlenienie jonu żelaza obecnego w hemie do trójwartościowego kationu żelaza. Powstała w ten sposób methemoglobina jest niezdolna do dystrybucji tlenu w organizmie, co prowadzi do hipoksji, a w ciężkich zatruciach do śmierci.

Pośmiertne stwierdzenie zatrucia azotynem sodu na potrzeby medycyny sądowej w oparciu o analizę toksykologiczną jest problematyczne, głównie ze względu na obecność wyzwań analitycznych w oznaczeniu stężeń azotynu w materiale biologicznym oraz w interpretacji otrzymanych wyników. Azotyn jest anionem o niezwykle krótkim czasie półtrwania we krwi i bardzo szybko ulega utlenieniu do azotanu, który występuje fizjologicznie we krwi w zdecydowanie wyższym stężeniu niż azotyn. Dodatkowo, wiele z ogólnie stosowanych metod oznaczenia azotynu w materiale biologicznym wymaga zastosowania złożonej procedury derywatywacji i do osiągnięcia prawidłowych wyników wymaga dużego doświadczenia osoby wykonującej analizę. W trakcie prezentacji omówione zostaną wybrane problemy analityczne związane z oznaczaniem azotynu w materiale biologicznym oraz problemy związane z interpretacją otrzymanych wyników w kontekście samobójczych zatruc azotynem sodu.

PROBLEMY W DIAGNOSTYCE RÓŻNICOWEJ ZMIANY LITEJ PŁUCA – PRZYPADEK KLINICZNY

Karolina Lepsy, Kacper Kiereta, Adrian Baran

Studenckie Koło Naukowe Torakochirurgii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Opiekunowie: dr n.med. Adam Rzechonek, lek. Piotr Błasiak

Wstęp: Pacjentka 56-letnia, palaczka papierosów, mieszkanka starego pałacu w trakcie przedłużonego remontu, po przebyciu w sierpniu 2021 roku zapaleniu płuc zgłosiła do lekarza pierwszego kontaktu z powodu utrzymujących się objawów zapalnych i nawracającego krwiopłucia. Badanie tomografii komputerowej wykazało zmianę w płucu lewym z podejrzeniem nowotworu. Pacjentka choruje na toczeń trzewny. Objawy przyjęciu na oddział pulmonologiczny : kaszel, krwiopłucie, odkrztuszanie podbarwionej na żółto płwociny.

Cel: Określenie problemów w diagnostyce różnicowej zmiany litej płuca.

Materiał i metoda: Badanie tomografii komputerowej klatki piersiowej z podaniem środka kontrastowego wykazało obecność nieregularnego kształtu zmiany naciekowe, a także powiększenie węzłów chłonnych. W diagnostyce różnicowej brano pod uwagę nowotwór płuca, sekwenstrację płucną, niedodmowe zmiany zapalne. Wyniki badań morfologii krwi, biochemicznych i gazometrycznych mieściły się w granicach norm. Pominięty został pomiar CRP i prokalcytoniny. 15 grudnia wykonano resekcję płata dolnego płuca lewego, dość trudną technicznie z powodu zwapnienia i bardzo licznych zrostów. Wyniki doraźnych badań histopatologicznych wskazywały na zmianę nienowotworową z obfitym naciekiem zapalnym i całkowicie zatartą architekturą. Stwierdzono również kolonie drobnoustrojów. Pooperacyjne badania laboratoryjne wykazały znacząco podwyższony poziom CRP z tendencją wzrostową. Wprowadzono antybiotykoterapię empiryczną: amoksycylinę z kwasem klawulanowym. Z powodu braku efektów leczenia zastosowano ciprofloksacynę, która skutkowała poprawę stanu ogólnego, normalizując stan zapalny i spadek poziomowi CRP. Przełomem w diagnostyce były wyniki badania histopatologicznego, które wykazały kolonie promienicy w obrębie wyciętej zmiany i światła oskrzeli. Stwierdzono na obrzeżach kolonii eozynochłonne, amorficzne masy (zjawisko Splendore-Hoeppli). Po 36 dniach hospitalizacji pacjentka została przekazana do szpitala macierzystego w stanie subiektywnej i obiektywnej poprawy.

Wnioski: Powyższy przypadek ukazuje istotną rolę kompleksowej diagnostyki laboratoryjnej, mikrobiologicznej, mykologicznej, a zwłaszcza histopatologicznej, bez której niemożliwe jest postawienie diagnozy.

CZY TROPONINA NADAL POWINNA BYĆ BIOMARKEREM STANOWIĄCYM „ZŁOTY STANDARD” W DIAGNOSTYCE ZAWAŁU SERCA?’

Katarzyna Mazur, Kamila Florek, Julia Maj, Aleksandra Obszańska
SKN Kardiologii Inwazyjnej przy Instytucie Chorób Serca, Uniwersytet Medyczny im.
Piaśtów Śląskich we Wrocławiu

Zgodnie z obowiązującą od 2018r. 4. Uniwersalną Definicją Zawału Serca - termin „ostry (świeży) zawał serca” powinno się stosować w przypadku ostrego uszkodzenia mięśnia sercowego z klinicznymi cechami ostrego niedokrwienia mięśnia sercowego, jeżeli stwierdzono wzrost i/lub spadek stężenia cTn we krwi z co najmniej jedną wartością powyżej URL na poziomie 99. centyla oraz spełnione jest co najmniej jedno z dodatkowych 5 kryteriów klinicznych. U chorych ze zwiększonym stężeniem cTn klinicyści muszą dokonywać rozróżnienia, czy u pacjenta wystąpiło uszkodzenie mięśnia sercowego o etiologii innej niż niedokrwienne, czy też jeden z podtypów zawału serca. Innym powodem wzrostu poziomu troponin sercowych mogą być m.in: hipoksja, ostra i ciężka zastoinowa niewydolność serca, przewlekła niewydolność nerek, niedoczynność tarczycy, czyli stany niebędące równoznaczne a często będące dalekie od świeżego zawału serca. Jednak możliwe jest w takich okolicznościach spełnienie 1 z 5 objawów klinicznych koniecznych do rozpoznania zawału przy koincydencji ze wzrostem poziomu troponin właśnie z wcześniej wspomnianych powodów.

Stąd celem naszej pracy przeglądowej było porównanie konkurencyjności nowych biomarkerów względem troponiny sercowej będącej „złotym standardem” w diagnostyce zawału serca szczególnie pod kątem specyficzności, kinetyki uwalniania, a także czułości.

Analiza ta powstała na podstawie danych opublikowanych w bazie PubMed po 2018r. dotyczących najnowszych badań na temat innowacyjnych biomarkerów w diagnostyce zawału serca. Przeanalizowałyśmy informacje z metaanaliz, badań prospektywnych, retrospektywnych oraz przekrojowych.

Biomarkery, które zostały przez nas zestawione z cTn to: miRNA-208 i miRNA-499, hFABP, GP-BB, ST2, Gal-3. W naszej pracy poruszamy również analizę techniczną i finansową potencjalnego wprowadzenia w nowych wytycznych innowacyjnego markera do diagnostyki zawału serca, biorąc pod uwagę aspekt wpływu globalizacji użycia owego markera na kształtowanie się jego ceny

ANALIZA PRZYJMOWANYCH POSTACI LEKÓW PREFEROWANYCH PRZEZ PACJENTÓW GERIATRYCZNYCH Z WYSZCZEGÓLNIENIEM GRUPY ZMAGAJĄCEJ SIĘ Z ZABURZENIAMI PRZEŁYKANIA

Maja Rutkowska, Izabela Sieradzka, Agnieszka Czerniak

Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Farmacji Przemysłowej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Struktura wieku światowej populacji jest określana jako społeczeństwo starzejące się, oznacza to, że z każdym rokiem jest notowany coraz większy przyrost osób w wieku 65+. Pacjenci należący do tej grupy wiekowej zmagają się z postępującymi zmianami patologicznymi w organizmie, które przyczyniają się do rozwoju chorób, a tym samym do wzrostu ilości przyjmowanych leków. Dopasowanie odpowiedniej kuracji, często ma na celu wyłączenie skupienia się na uzyskaniu oczekiwanego efektu farmakologicznego, pomijając komfort w przyjmowaniu przepisanych preparatów. Efektem takiego działania może być spożywanie leków przez pacjentów niezgodnie z zaleceniami co zaburza działanie lecznicze lub całkowicie je zmienia.

Celem pracy był przegląd literaturowy przedstawiający preferowane postaci przyjmowanych preparatów farmaceutycznych przez pacjentów geriatrycznych z wyszczególnieniem grupy zmagającej się z zaburzeniami przełykania. W wyniku analizy zebranych danych, pochodzących z publikacji naukowych obejmujących lata 2018-2020, najczęściej przytaczanymi cechami charakteryzującymi leki przyjmowane drogą doustną, które wpływają zarówno na komfort fizyczny oraz psychiczny pacjentów są: wielkość połykanych medykamentów, ich kształt, smak zażywanych preparatów, wygląd oraz formuła, w której występują.

Przeprowadzony przegląd umożliwił zaznaczenie problemów, z którymi zmagają się osoby starsze w trakcie farmakoterapii oraz wykazał, że pomoc przekazywana przez specjalistów, której nierzadko nieodłącznym elementem jest wydana recepta z zapisem leków do podania doustnego, powinna również skupić się na potrzebach zapewnienia komfortu ich przyjmowania przez pacjentów.

ZNACZENIE BADANIA WYSIĘKU OPŁYCNEJ ORAZ BADAŃ LABORATORYJNYCH KRWI W WYBORZE METODY LECZENIA ROPNIAKA OPŁUCNEJ

Kseniya Sabaleuskaya, Julia Pławecka, Mariana Drahan

SKN przy Katedrze i Klinice Chirurgii Klatki Piersiowej Uniwersytetu Medycznego im.
Piastrów Śląskich we Wrocławiu

Opiekunowie SKN: dr hab. n.med. Adam Rzechonek, dr n. med. Piotr Błasiak

Wstęp: Ropniak opłucnej jako dynamicznie toczący się proces zapalny, przebiegający w jamie opłucnej wymaga szybkiego i radykalnego działania terapeutycznego. Kluczową rolę w szybkim postępowaniu diagnostycznym umożliwiającym adekwatne leczenie jest przeprowadzenie badań laboratoryjnych krwi oraz pobranego przez punkcję płynu wysiękowego jamy opłucnowej .

Cel: Przedstawienie znaczenia badania krwi i wysięku opłucnej w wyborze rodzaju leczenia ropniaka opłucnej oraz monitorowania terapii czterech pacjentów.

Material i Metody: Przedstawiono cztery przypadki chorych z wysiękiem w jamie opłucnowej. U wszystkich wykonano punkcję opłucnej oraz pobrano do badania krew. Płyn z jamy ciała wysłano do badania bakteriologicznego, ogólnego, cytologicznego oraz w kierunku gruźlicy. We krwi badano parametry morfologii oraz białka c-reaktywnego. Oprócz antybiotykoterapii zgodnej z antybiogramem w oparciu o wyniki badania płynu oraz badań obrazowych stosowano punkcję lub drenaż opłucnej, dekortykację płuca oraz fenestrację ściany klatki piersiowej.

Dyskusja: Etiologia ropniaków opłucnej jest bardzo zróżnicowana i często trudna do zdiagnozowania. Gorączka, kaszel, duszność, brak łaknienia i ból w klatce piersiowej są to niektóre z objawów mogące sugerować o toczącym się procesie zapalnym w obrębie opłucnej. Wyniki badania przedmiotowego pozwalają zwykle tylko podejrzewać obecność płynu w jamie opłucnej, a potwierdzeniem mogą służyć badania obrazowe takie jak RTG, CT oraz USG. Pomimo obecności rozmaitych metod diagnostyki obrazowej najbardziej skuteczne w oględzinach i rozpoznaniu ropniaka opłucnej są badania laboratoryjne. Wykorzystanie badań morfologii krwi pozwala dostrzec zaburzenie parametrów wskazujące na toczący się proces chorobowy, a bliższy ogląd na kluczowe parametry stanu zapalnego, umożliwia wnioskowanie o potencjalnej etiologii procesu. Badania laboratoryjne wraz z badaniem przedmiotowym z dużym prawdopodobieństwem umożliwiają określenie lokalizacji i charakteru procesu patologicznego, a tym samym podjęcie skutecznego leczenia.

Wyniki: Choć metody terapii były w każdym z zaprezentowanych przypadków różne to jednak u każdego chorego uzyskano sukces terapeutyczny. Wybór terapii opierano o przedstawione powyżej badania.

Wnioski: W celu skutecznego leczenia ropniaka opłucnej decyzję dotyczącą metody leczenia należy podejmować w oparciu badanie płynu pobranego z opłucnej. Dodatkowymi czynnikami, które pomagają klinicystom są badania obrazowe, badanie krwi, a przede wszystkim holistyczne spojrzenie na problem chorobowy pacjenta.

PREZENTACJE PRAC POSTEROWYCH

BADANIA ODDZIAŁYWAŃ POCHODNYCH PIRYMIDYNY Z BIAŁKIEM LUDZKIEJ ALBUMINY

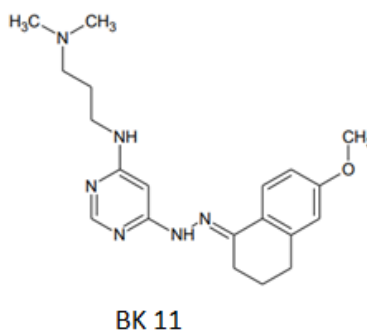
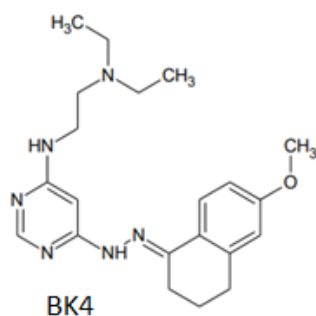
Aleksandra Kweczlich, Anna Janicka-Klos¹, Beata Tylińska²

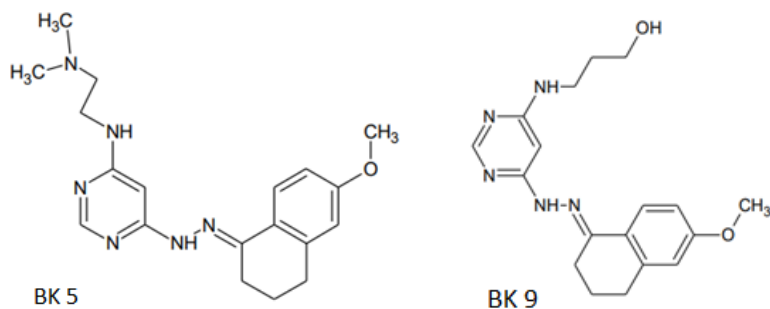
¹Katedra i Zakład Podstaw Nauk Chemicznych, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu; Borowska 211A, 50-556 Wrocław;

²Katedra i Zakład Chemii Organicznej i Technologii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu; Borowska 211A, 50-556 Wrocław

Choroby nowotworowe są drugim po chorobach krążenia powodem śmierci ludzi w XXI wieku [1]. Pomimo istnienia skutecznych substancji leczniczych, wciąż istnieje potrzeba syntetyzowania nowych, charakteryzujących się mniejszymi skutkami ubocznymi, większą selektywnością i skutecznością. Jednym z czynników zwiększających powodzenie terapii przeciwnowotworowych jest precyzyjne dostarczanie substancji leczniczych do miejsca występowania komórek nowotworowych. Powinowactwo do białek transportujących musi być na wysokie, aby lek mógł być efektywnie transportowany do miejsca docelowego, lecz na tyle niskie, aby mógł zostać uwolniony w odpowiednim miejscu i czasie.

Powszechnie znanym transporterem jest białko albuminy. Pirymidyna stanowi z kolei szkielet wielu związków występujących w przyrodzie [2], dlatego też pochodne pirymidyny są powszechnie stosowane jako substancje lecznicze, a ich modyfikacje stanowią doskonały punkt wyjścia do projektowania nowych, skutecznych farmaceutyków. Prezentowane wyniki dotyczą pochodnych pirymidyny, zawierających jako odstawniki łańcuchy hydrazyny, dihydroftalen oraz łańcuch alkiloaminowy:





Schematyczne struktury badanych pochodnych pirymidynowych BK.

Oddziaływanie zsyntezowanych pochodnych pirymidyny z białkiem albuminy ludzkiej zbadano wykorzystując spektroskopię dichromizmu kołowego (CD) oraz izotermalną kalorymetrię miareczkową (ITC).

W eksperymencie CD określono zmiany w zawartości poszczególnych składowych strukturalnych białka albuminy ludzkiej, takie jak: zawartość α -helisy, β -kartki (*Sheet*) oraz zwrotów (*Turn*), co pozwoliło określić czy następuje oddziaływanie pomiędzy badanymi molekułami. Przeprowadzone pomiary kalorymetryczne umożliwiły wyznaczenie rzeczywistego stosunku stechiometrycznego i stałych asocjacji oddziaływań badanych ligandów z białkiem.

Na podstawie wyników uzyskanych z obu zastosowanych metod, można wysnuć wniosek, iż wszystkie cztery zbadane pochodne wykazują oddziaływania względem albuminy ludzkiej, równocześnie nie wpływając znacząco na jej strukturę. Analizując otrzymane wyniki i strukturę badanych związków można stwierdzić, iż pochodne pirymidyny z wbudowanym szkieletem dihydronaftalenu oraz łańcuchem hydrazyny mogą być obiektem dalszych badań. Na szczególną uwagę zasługują pochodne z wbudowanym łańcuchem diaminy w pozycji 4 szkieletu pirymidyny.

- [1] Sudhakar, A.: History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 01, 2009, 1–4.
- [2] Lagoja, I.M.: Pyrimidine as constituent of natural biologically active compounds. *Chemistry and Biodiversity*, 2, 2005, 1–50.

OZNACZANIE ILOŚCIOWE SUBSTANCJI DOPINGUJĄCEJ (TRIMETAZYDINY) W SZTUCZNYM MOCZU METODAMI WOLTAMPEROMETRYCZNĄ I SPEKTROFOTOMETRYCZNĄ

Przemysław Skibiński¹, Anna Kwiecień¹, Adam Sroka¹, Anna Tomczyk²

¹ Katedra i Zakład Podstaw Nauk Chemicznych, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

² Magistrantka w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Trimetazydyna (1-(2,3,4-trimetoksybenzyl)piperazyna jest lekiem stosowanym w leczeniu pacjentów z chorobą wieńcową. Podstawą jej działania jest hamowanie β -oksydacji kwasów tłuszczowych w niedotlenionych kardiomiocytach wtórnie nasilając utlenianie glukozy, a także doprowadzając do wewnątrzkomórkowego zwiększenia zasobów fosfokreatyny. Po jej zastosowaniu następuje poprawa parametrów metabolicznych, a także zwiększa się tolerancja wysiłku fizycznego. Światowa Agencja Antydopingowa (WADA) zaklasyfikowała związek ten jako niedozwolony i od roku 2014 widnieje na liście substancji zakazanych w sporcie, zakwalifikowana do grupy modulatorów metabolizmu.

Celem niniejszej pracy było opracowanie nowej metody pomiarowej do oznaczenia trimetazydiny w moczu. W tym celu wykorzystano min. woltamperometrię impulsową różnicową (DPV) po wstępnym zateżeniu analitu metodą stripingową. Wiarygodność wyników otrzymywanych tą metodą oszacowano poprzez porównanie ich z wynikami otrzymanymi metodą spektrofotometryczną, obejmującą pomiary absorbancji w zakresie UV.

Schemat pracy obejmuje wybór optymalnej elektrody pracującej poprzez zbadanie procesów elektrochemicznych trimetazydiny zachodzących na elektrodach wykonanych z węgla szklistego (GC), złota i platyny jak również na mikroelektrodach z włóknem węglowym. Dobrano optymalną wartość pH dla środowiska pomiarowego, jak również wybrano elektrolit podstawowy.

Wyniki pomiarów wykazały, że granica wykrywalności i oznaczalności trimetazydiny w moczu jest najniższa dla woltamperometrii DPV z użyciem mikroelektrody z włóknem węglowym o średnicy 20 μm (LOD=0,0740 $\mu\text{g/ml}$, LOQ=0,2221 $\mu\text{g/ml}$) przy powtarzalności wyrażonej współczynnikiem CV=0,18. Dla metody spektrofotometrycznej było to odpowiednio: 0,4683 $\mu\text{g/ml}$ oraz 1,405 $\mu\text{g/ml}$.

SPEKTROSKOPOWE BADANIA ODDZIAŁYWAŃ FLAWONOIDU MORYNY Z ALBUMINĄ

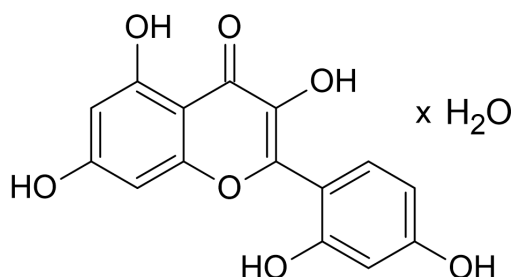
Katarzyna Wigłusz^{1*}, Rafał J. Wigłusz^{2*}

¹ Katedra i Zakład Nauk Chemicznych, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

² Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych, Polska Akademia Nauk, ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław

katarzyna.wiglusz@umw.edu.pl, r.wiglusz@intibs.pl

W Polsce w 2021 r. odnotowano 2,677 mln chorych na cukrzycę w wieku 20-79 lat [1]. Badania wskazują, że albumina glikowana jest markerem cukrzycy i jako test laboratoryjny zyskała pewne znaczenie w monitorowaniu glikemii [2]. Ze względu na okres półtrwania albuminy, który wynosi około 3 tygodni, zmierzony poziom albuminy glikowanej odzwierciedla krótkoterminową glikemię. Okazuje się, że naturalny flawonoid - moryna (2',3,4',5,7-pentahydroxyflawon, ma właściwości przeciwutleniające [3], przeciwzapalne [4] i przeciwcukrzycowe [5]. Powoduje ona wzrost poziomu insuliny w osoczu i spadek poziomu glukozy we krwi poprzez zwiększenie wychwyty glukozy we krwi przez komórki.



Rys. 1. Budowa chemiczna moryny.

Dlatego celem badań była analiza oddziaływań moryny z albuminą glikowaną za pomocą metod spektroskopowych – tj. spektroskopia fluorescencyjna, spektroskopia UV-Vis oraz spektroskopia dichroizmu kołowego. Wyniki badań wskazują, że moryna tworzy związek kompleksowy z glikowaną albuminą w stosunku 1:1 w warunkach zbliżonych do fizjologicznych (w buforze PBS, przy pH 7,4 i temperaturze 37 °C). Proces wiązania ma charakter samorzutny i zachodzi ze stałą asocjacji rzędu 10^4 M^{-1} , gdzie dominującą rolę w odgrywają wiązania wodorowe. Interakcja moryny z glikowaną albuminą jest słabsza w porównaniu do białka natywnego [6]. Moryna wywołuje zmiany w strukturze II-rzędowej białka, powodując zmniejszenie udziału helisy alfa i struktury beta.

Przeprowadzone badania wskazują na zmniejszone powinowactwo moryny do białka zmodyfikowanego procesem glikacji. Spowodowane jest to tym, że miejsce wiązania moryny w cząsteczce białka, to jednocześnie obszar, w którym występują glikowane reszty aminokwasowe Lys i Arg.

[1] <https://diabetesatlas.org/data/en/country/158/pl.html>

[2] Priscila Aparecida Correa Freitas, Lethicia Rozales, Ehlert Joíza Lins Camargo, Glycated albumin: a potential biomarker in diabetes, Arch. Endocrinol. Metab. 61 (3) (2017) 296-304

- [3] Pichavaram Prahalathan, Subramanian Kumar, Boobalan Raja. Morin attenuates blood pressure and oxidative stress in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats: a biochemical and histopathological evaluation. *Metabolism*. 61(8) (2012) 1087–1099.
- [4] Shih-Hua Fang, Yu-Chi Hou, Weng-Cheng Chang, Su-Lan Hsiu, Pei-Dawn Lee Chao, Bor-Luen Chiang. Morin sulfates/glucuronides exert anti inflammatory activity on activated macrophages and decreased the incidence of septic shock. *Life Sci*. 74 (6) (2003) 743–56.
- [5] Toktam Razavi¹, Shideh Montasser Kouhsari¹, Khalil Abnous, Morin Exerts Anti-Diabetic Effects in Human HepG2 Cells Via Down-Regulation of miR-29a, *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 127(9) (2019) 615-622
- [6] Meng-Xia Xie, Mei Long, Yuan Liu, Chuan Qin, Ying-Dian Wang, Characterization of the interaction between human serum albumin and morin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1760 (2006) 1184–1191.

ZNACZENIE PROCESU ESTRYFIKACJI SUBSTANCJI CZYNNYCH W OPRACOWANIU PRODUKTÓW LECZNICZYCH W POSTACI KAPSUŁKI MIĘKKIEJ Z KETOPROFENEM

Katarzyna Częścik-Ganita^{1,2}, Tomasz Han¹

¹Centrum Badawczo-Rozwojowe Novasome, ul. Olsztyńska 5, 51-423 Wrocław

² Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski, ul. F. Joliot- Curie 14, 50- 383 Wrocław

Kluczowym i aktualnym zagadnieniem związanym z wytwarzaniem produktów leczniczych jest ich skuteczność i bezpieczeństwo dla pacjenta. Postacią farmaceutyczną niosącą ze sobą szereg zalet jak m.in. szybkość działania, możliwość zastosowania mniejszej ilości substancji pomocniczych, łatwiejsze połykanie, maskowanie smaku jest kapsułka miękka. Zastosowanie kapsułki miękkiej dla substancji czynnych z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) zawierających grupy karboksylowe i hydroksylowe, wiąże się jednak ze zjawiskiem występowania estryfikacji ze składnikami matrycy.

Przebiegające w produkcji reakcje estryfikacji mogą wpływać na stabilność produktu i bezpieczeństwo terapii. Zjawiska te muszą być zbadane z uwzględnieniem m.in. takich aspektów jak mechanizm powstawania, rodzaj estrów z uwzględnieniem ich polidispersyjności, szybkość powstawania czy oznaczany poziom podczas badań stabilności produktu. Istotną kwestią jest także weryfikacja czy powstające estry mają charakter zanieczyszczeń czy też stanowią prolek poprzez ocenę ich biodostępności technikami *in vitro*. Ketoprofen stanowi odpowiednią substancję aktywną do prowadzonych badań, gdyż jest popularnym lekiem dostępnym bez recepty o silnym działaniu przeciwbólowym i przeciwzapalnym. Na rynku aptecznym dostępne są głównie produkty w postaci tabletek lub kapsułek twardych. Opracowanie kapsułek miękkich z ketoprofenem o jakości akceptowalnej przez jednostki rejestracyjne wciąż stanowi wyzwanie. Dostępne publikacje naukowe dotyczą reakcji estryfikacji innego leku z tej samej grupy terapeutycznej - ibuprofenu. Brakuje jednak kompleksowych danych na temat estryfikacji ketoprofenu. Celem prezentacji jest omówienie wpływu substancji pomocniczych na reakcje estryfikacji zachodzące w kapsułkach miękkich zawierających ketoprofen.

Projekt finansowany przez MEiN w VI edycji programu „Doktorat wdrożeniowy”

OCENA BIOZGODNOŚCI DWUSKŁADNIKOWYCH CEMENTÓW ORTODONTYCZNYCH DOMIESZKOWANYCH NANOFLUOROAPATYTEM

Wojciech Dobrzyński^{1*}, Bartosz Mielan², Maria Szymonowicz², Maciej Dobrzyński³, Adam Watras^{3,4}, Rafał J. Wiglus⁴, * Marcin Mikulewicz¹

¹ Zakład Wad Rozwojowych Twarzy

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

³ Katedra i Zakład Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

⁴ Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. W. Trzebiatowskiego PAN

*wojciech.dobrzyński@umw.edu.pl

WSTĘP

Aparaty stałe są szeroko wykorzystywane we współczesnej terapii ortodontycznej. Budowa zamków aparatów stałych sprzyja odkładaniu się w ich obrębie płytki bakteryjnej, zaś długotrwała retencja płytki prowadzi do powstania ognisk demineralizacji szkliwa. Jednym z głównych kierunków aktualnych badań w zakresie materiałoznawstwa ortodontycznego jest opracowanie nowoczesnych ortodontycznych cementów łączących o właściwościach redukujących metabolizm bakterii płytki oraz indukujących powstanie warstwy ochronnej na powierzchni szkliwa. Fluoroapatyt ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) jest związkiem występującym w szkliwie i należy do najbardziej obiecujących biomateriałów używanych w stomatologii. Nanometryczne formy syntetycznych fluoroapatytów znalazły szerokie zastosowanie w modyfikacji biomateriałów wykorzystywanych w stomatologii odtwórczej. Uwalniany z nich fluor wykazuje wielokierunkowe działanie kariostatyczne. Jony fluorkowe posiadają zdolność substytucji grup hydroksylowych hydroksyapatytów budujących szkliwo zębów, przez co tworzą się odporniejsze na działanie kwasów fluoroapatyty. Ponadto hamują metabolizm węglowodanowy bakterii *Streptococcus spp.* i *Lactobacilli spp.* poprzez inhibicję enzymów – enolazy i adenozyntroójfosfatazy.

CEL

Celem pracy jest ocena biozgodności dwuskładnikowych cementów ortodontycznych domieszkowanych nanofluoroapatytem.

METODY

W badaniach wykorzystano komercyjny dwuskładnikowy cement ortodontyczny GC Fuji ORTHO™ LC składający się z proszku oraz płynu. Proszek domieszkowano nanofluoroapatytem (2% masy proszku), dostarczonym przez Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu. Z zastosowaniem formy teflonowej wytworzono próbki w kształcie walca o wymiarach 4x2 mm, które poddano badaniom: biologicznemu oraz FTIR. Badanie cytotoksyczności przeprowadzono z wykorzystaniem hodowli fibroblastów L929.

WNIOSKI

Domieszkowanie cementów ortodontycznych nanofluoroapatytem nie wykazało działania cytotoksycznego. Konieczne jest prowadzenie dalszych badań otrzymanych cementów pod

kątem oceny ilości uwalnianego fluoru, działania przeciwbakteryjnego a także określenia właściwości adhezyjnych to tkanek zęba.

BIOKOMPATYBILNY HYDROKSYAPATYT JAKO MATERIAŁ DO ZASTOSOWAŃ TERANOSTYCZNYCH

N. Charczuk^{1,*}, N. Nowak^{1,2}, R.J. Wiglusz¹

¹Institut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. W. Trzebiatowskiego PAN,
ul. Okólna 2, 50-422 Wrocław, Polska

²Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt,
ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław, Polska

*n.charczuk@intibs.pl, r.wiglusz@intibs.pl

Hydroksyapatyt wapnia ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - HAp) stanowi główny składnik mineralny kości i zębów ssaków. Syntetyczny HAp, wykazujący się biogodnością i bioaktywnością, wykorzystywany jest w medycynie m.in. jako wypełniacz ubytków kostnych, materiał rusztowań w inżynierii tkankowej oraz w systemach kontrolowanego dostarczania leków (z ang. *Drug Delivery Systems*).

Domieszkowanie hydroksyapatytu wybranymi jonami umożliwia nadanie mu unikatowych właściwości, dzięki czemu materiał może być zastosowany w medycynie spersonalizowanej. Substytucja jonów wspomaga utrzymanie homeostazy gospodarki mineralnej komórek i tkanek otaczających wszczepiony materiał. Przykładowo, włączenie jonów strontu (Sr^{2+}) do struktury HAp jest korzystne przy leczeniu pacjentów chorych na osteoporozę^[1]. Stront wspomaga proliferację osteoblastów, jednocześnie zmniejszając resorpcję kości, co wykazuje pozytywny efekt na kondycję kości^[2]. Ponadto, HAp domieszkowany jonami ziem rzadkich (RE^{3+}) posiada właściwości luminescencyjne, dzięki czemu zaprojektowany system może służyć jako znacznik luminescencyjny. Najchętniej wybieranymi w tym celu lantanowcami są jony europu i terbu (Eu^{3+} i Tb^{3+}); wynika to z m.in. z ich dobrze poznanej charakterystyki spektralnej

i biokompatybilności^[3]. Pierwszym krokiem do otrzymania personalnie zaprojektowanego materiału na bazie HAp jest zbadanie jego charakterystyki fizykochemicznej, właściwości spektralnych oraz właściwości biologicznych. W tej pracy zaprezentowano przykłady syntezy i charakterystyki biokompatybilnych hydroksyapatytów, domieszkowanych jonami bloku s, p oraz jonami ziem rzadkich, które potencjalnie mogą służyć jako materiały do zastosowań teranostycznych.

Bibliografia:

1. Dahl S, Allain P, Marie P et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone*. 2001;28(4):446-453. doi:10.1016/s8756-3282(01)00419-7
2. Bigi A, Boanini E, Capuccini C, Gazzano M. Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals. *Inorganica Chim Acta*. 2007;360(3):1009-1016. doi:10.1016/j.ica.2006.07.074
3. Targonska S, Szyszka K, Rewak-Soroczynsk J and Wiglusz R. J. A new approach to spectroscopic and structural studies of the nano-sized silicate-substituted hydroxyapatite doped with Eu^{3+} ions. *Dalton Trans.*, 2019;48:8303-8316. <https://doi.org/10.1039/C9DT01025D>

ANALIZA IN SILICO WIĄZAŃ ENZYMU KONWERTUJĄCEGO ANGIOTENSYNĘ (ACE) Z JEGO INHIBITORAMI

Magdalena Król, Dominika Kunachowicz, Marta Kępńska

Zakład Biomedycznych Analiz Środowiskowych, Katedra Biochemii Farmaceutycznej,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę (ACEi, ang. angiotensin-converting-enzyme inhibitors) są grupą leków stosowanych w leczeniu nadciśnienia tętniczego, a ze względu na swoje działanie nefroprotektoryjne są też zalecane pacjentom cierpiącym na cukrzycową chorobę nerek [1]. Mimo wszystko u chorych obserwuje się różną reakcję na terapię tymi preparatami, co może wynikać między innymi z polimorfizmu ACE typu insercja/delecja – rs4646994 [2]. ACE posiada dwie homologiczne domeny katalityczne – C i N, dodatkowo ACEi mogą mieć różne powinowactwo do różnych domen. Allel I polimorfizmu rs4646994 powoduje przedwczesną terminację kodonów, przez co enzym ma tylko jedno miejsce aktywne w domenie N, tak więc leki mogą wiązać się tylko w tym jednym miejscu [3].

Celem badania była analiza powinowactwa wiązania ACE z dwoma farmaceutykami z grupy ACEi: lizynoprylem i kaptoprylem. Wykorzystano do tego program AutoDockTools oraz oprogramowanie UCSF Chimera 1.16. Obliczenia zastosowane przy dokowaniu molekularnym wykazały, że lizynopryl ma większe powinowactwo wiązania z domeną C niż z domeną N. W przypadku kaptoprylu nie zaobserwowano podobnych rezultatów.

Powyższe wyniki korespondują z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy [2,3], a także wskazują na to, iż lizynopryl przez swoje mniejsze powinowactwo wiązania z domeną N będzie mniej skuteczny u pacjentów z genotypem I/D oraz I/I polimorfizmu rs4646994 w porównaniu do pacjentów z genotypem D/D. Zwrócenie uwagi na uwarunkowania genetyczne przy wyborze leczenia znacznie skróciłoby proces terapeutyczny, a co za tym idzie – obniżyło jego koszty.

1. Sawaf, H.; Thomas, G.; Taliario, J.J.; Nakhoul, G.; Vachharajani, T.J.; Mehdi, A. Therapeutic Advances in Diabetic Nephropathy. *J Clin Med.* **2022**, 11(2), 378.
2. Wisnasari, S.; Rohman, M.S.; Lukitasari, M. In silico binding affinity study of lisinopril and captopril to I/D intron 16 variant of angiotensin converting enzyme protein. *J. Pharm. Clin. Res.* **2016**, 8, 1132–1134.
3. Widodo, W.; Wisnasari, S.; Saifur Rohman, M.; Yunita, L.; Lukitasari, M.; Nuril, M.; Holil K.; Laila Purwaningroom, D. Alu insertion/deletion of ACE gene polymorphism might not affect significantly the serum bradykinin level in hypertensive patients taking ACE inhibitors. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* **2017**, 18(2), 187-191.

WYCIĄG WODNO-METANOLOWY Z LIŚCI CZYSTKA SZAREGO JAKO ŹRÓDŁO INHIBITORÓW α -GLUKOZYDAZY

Dominika Kunachowicz¹, Aneta Starzec², Marta Kepinska¹, Izabela Fecka²

¹ Katedra Biochemii Farmaceutycznej, Zakład Biomedycznych Analiz Środowiskowych, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław

² Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211a, 50-556 Wrocław

W ostatnich latach obserwuje się wzmożone zainteresowanie naukowe roślinami leczniczymi jako źródłem bioaktywnych związków o potencjalnym działaniu terapeutycznym lub stanowiących uzupełnienie konwencjonalnych metod leczenia. W przypadku cukrzycy, obiecującą strategią wydaje się być wykorzystanie roślin leczniczych jako źródła inhibitorów enzymów rozkładających wielocukry, jak α -glukozydaza (AG), której hamowanie zmniejsza ilość przyswajanej glukozy oraz normalizuje glikemię poposiłkową [1]. Aktywność hamującą AG wykazano dla kilku gatunków roślin należących do rodzaju *Cistus* (czystkowate) [2, 3], jednak *C. incanus* (czystek szary), wykazujący aktywność antyoksydacyjną i przeciwglikacyjną [4], nie został wcześniej pod tym kątem przebadany.

Celem naszych badań była ocena zdolności hamowania aktywności AG przez wodno-metanolowe (50%, v/v) wyciągi z liści *Cistus × incanus* L. (52 produkty handlowe). Została ona oceniona spektrofotometrycznie metodą Rouzbehan i wsp. [5], wykorzystującą zdolność enzymu do przekształcenia bezbarwnego substratu (4-nitro- α -D-glukopiranozyd) do żółtego p-nitrofenolu. Pomiar absorbancji przeprowadzono za pomocą czytnika mikroplitek Multiscan Go. Procent inhibicji każdego z ekstraktów oraz czystych związków, których obecność w ekstraktach została oznaczona metodą HPLC-DAD wyznaczono w odniesieniu do aktywności AG bez obecności inhibitora i w porównaniu do akarbozy (5 mg/mL).

Wykazano, że badane ekstrakty w stężeniu 250 μ g/ml hamują aktywność AG średnio w 97,84 \pm 2,70%, a przy dalszym rozcieńczaniu ich wartość IC₅₀ wyrażająca stężenie inhibitora hamujące aktywność enzymu w 50%, mieściła się w zakresie 0,41–0,52 μ g/ml. Wśród wzorców, najsilniejszą zdolność hamowania AG stwierdzono w przypadku związków będących elagotanoidami: cystuzyny (IC₅₀= 0,83 μ g/ml), terflawiny A (1,19 μ g/ml) i punikalaginy (1,23 μ g/ml), które w stężeniu 500 μ g/ml wykazywały ponad 98% inhibicję enzymu. Przeprowadzone badania kinetyki reakcji pozwoliły zaklasyfikować ekstrakty do inhibitorów typu mieszanego, zaś analizując kinetykę reakcji związków wzorcowych wykazano kompetycyjny typ hamowania AG przez punikalaginę.

W porównaniu do związku referencyjnego, jakim jest akarboza – stosowany w terapii cukrzycy syntetyczny lek z grupy inhibitorów AG – sporządzone ekstrakty charakteryzowały się istotnie wyższą aktywnością hamowania enzymu. Wskazuje to na duży potencjał preparatów z tej substancji roślinnej w opracowywaniu nowych środków hipoglikemizujących wspomagających uzyskanie optymalnego efektu terapeutycznego u pacjentów cukrzycowych.

Bibliografia:

1. Ali Asgar MD. Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A review. *Int. J. Food Prop.* 2013 Jan 1;16(1):91-103.
2. Orhan N, Aslan M, Süküroğlu M, Deliorman Orhan D. In vivo and in vitro antidiabetic effect of *Cistus laurifolius* L. and detection of major phenolic compounds by UPLC-TOF-MS analysis. *J Ethnopharmacol.* 2013 Apr 19;146(3):859-65.
3. Sayah K, Marmouzi I, Naceiri Mrabti H, Cherrah Y, Faouzi ME. Antioxidant Activity and Inhibitory Potential of *Cistus salviifolius* (L.) and *Cistus monspeliensis* (L.) Aerial Parts Extracts against Key Enzymes Linked to Hyperglycemia. *Biomed Res Int.* 2017;2017:2789482.
4. Bernacka K, Bednarska K, Starzec A, Mazurek S, Fecka I. Antioxidant and Antiglycation Effects of *Cistus*× *incanus* Water Infusion, Its Phenolic Components, and Respective Metabolites. *Molecules.* 2022 Apr 9;27(8):2432.
5. Rouzbehan S, Moein S, Homaei A, Moein MR. Kinetics of α -glucosidase inhibition by different fractions of three species of Labiatae extracts: a new diabetes treatment model. *Pharm Biol.* 2017 Dec;55(1):1483-1488.

**CZY CODZIENNE PRYZYWCZAJENIA ŻYWIENIOWE MOGĄ BYĆ
INDUKTOREM CHORÓB, KTÓRYM TOWARZYSZY MENTALNE
OSAMOTNIENIE? - BADANIA
IN VITRO NEUROTOKSYCZNOŚCI ZWIĄZKÓW GLINU W
ROZWOJU CHOROBY ALZHEIMERA W ASPEKCIE
PROTEKCYJNEGO DZIAŁANIA KOFEINY I KAWY**

Kamil Rodak¹, Anna Radajewska², Dorota Bęben², Monika Birska², Oliwia Siwiela²

¹ Studenckie Koło Naukowe Biomarkery w Diagnostyce Medycznej przy Katedrze Diagnostyki Laboratoryjnej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Opiekunowie SKN: dr hab. Ewa Maria Kratz, prof. UMW oraz dr Izabela Kokot

² Studenckie Koło Naukowe Cytometrii Przepływowej i Badań Biomedycznych przy Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Opiekunowie SKN: dr Helena Moreira oraz mgr Anna Szyjka

Choroba Alzheimera jest jedną z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych. Charakteryzuje się postępującym spadkiem funkcji poznawczych, co często prowadzi do zmniejszenia interakcji ze społeczeństwem i poczucia mentalnego osamotnienia [1]. Uważa się, że glin i jego związki mogą działać jako czynnik środowiskowy, przyspieszający rozwój choroby [2]. Głównym źródłem narażenia na ten pierwiastek, oprócz środowiska, są przede wszystkim produkty spożywcze, leki oraz kosmetyki. Glin może występować w żywności naturalnie lub być do niej wprowadzony, gdyż jest składnikiem substancji stosowanych do jej przetwarzania i przechowywania. Występuje on także w materiałach mających kontakt z żywnością w trakcie jej obróbki termicznej. Z kolei badania prowadzone na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat podkreślają prozdrowotne właściwości kawy/kofeiny [3]. Neuroprotektoryjne działanie kawy kofeinowej udokumentowano w wielu doniesieniach, a związek jej spożywania z obniżonym ryzykiem rozwoju choroby Alzheimera i demencji (nawet o 70%) został udowodniony w szeregu badań klinicznych [1].

Biorąc pod uwagę ryzyko narażenia na glin i jego związki, zależność między ich stężeniem w organizmie a ryzykiem rozwoju choroby Alzheimera oraz pozytywny wpływ kofeiny i kawy kofeinowej, zbadano protekcyjny wpływ kofeiny i kawy kofeinowej na neurotoksyczność związków glinu. Do badań wykorzystano hodowlę szczurzych komórek guza chromochłonnego PC12, które znajdują zastosowanie w badaniach procesów zachodzących w przebiegu schorzeń neurodegeneracyjnych oraz maltol glinu, którego dodatek do hodowli komórkowych posłużył do indukcji toksycznego działania glinu. Komórki hodowano w medium RPMI 1640 zawierającym związki badane w różnych stężeniach przez 24 godziny. Na podstawie testu MTT obliczono wskaźniki przeżywalności komórek.

Przeżywalność komórek hodowanych w określonym stężeniu związków badanych, względem kontroli bez dodatków, była istotnie wyższa w przypadku następujących

konfiguracji zawartości substancji: 1) 100 μ M maltol glinu + kawa o stężeniu kofeiny 5 μ g/ml ($p < 0,001$), 2) 100 μ M maltol glinu + kawa o stężeniu kofeiny 80 μ g/ml ($p < 0,001$).

Uzyskane wyniki wstępnie potwierdziły właściwości prozdrowotne kawy kofeinowej, analizowane w kontekście rozwoju chorób neurodegeneracyjnych poprzez ochronne działanie kawy kofeinowej na komórki linii PC12 w odpowiedzi na indukowaną związkami glinu neurotoksyczność, czym wstępnie potwierdzamy, że codzienne nawyki żywieniowe wpływają na funkcjonowanie organizmu i mogą być związane z rozwojem chorób neurodegeneracyjnych.

- [1] Eskelinen, M.H.; Ngandu, T.; Tuomilehto, J.; Soininen, H.; Kivipelto, M. Midlife Coffee and Tea Drinking and the Risk of Late-Life Dementia: A Population-Based CAIDE Study. *J. Alzheimer's Dis.* 2009, 16, 85–91.
- [2] Colomina MT, Peris-Sampedro F. Aluminum and Alzheimer's Disease. *Adv Neurobiol.* 2017;18:183-197. doi: 10.1007/978-3-319-60189-2_9. PMID: 28889268.
- [3] Rodak K, Kokot I, Kratz EM. Caffeine as a Factor Influencing the Functioning of the Human Body-Friend or Foe? *Nutrients.*

BENZOFENON-3 JAKO SKŁADNIK FILTRÓW UV

Aleksandra Budnik, Alicja Bystryk

Dr Ewa Sawicka, Studenckie Koło Naukowe Toksykologiczne, Uniwersytet Medyczny im.
Piaśtów Śląskich we Wrocławiu

Oksybenzen (benzofenon-3, BP-3) to związek organiczny, pełniący rolę filtra UV w produktach kosmetycznych. Ochronia skórę przed negatywnymi skutkami promieniowania nadfioletowego, takimi jak niszczenie włókien kolagenowych, co wpływa na spadek odporności immunologicznej skóry. Ponadto chroni przed nadmierną produkcją wolnych rodników, przyczyniających się do uszkodzeń w strukturze białek, efektem czego może być powstawanie nowotworów.

Maksymalne dopuszczalne stężenia BP-3 według wymagań Komisji Europejskiej wynoszą 6% w filtrach UV do twarzy, 2,2% w produktach do pielęgnacji ciała. Ponadto inny składnik filtrów przeciwsłonecznych – oktokrylen – ulega kondensacji retro-aldolowej do benzofenonu, co zwiększa jego zawartość w kosmetykach. Ze względu na niską masę cząsteczkową i charakter lipofilny BP-3 dobrze przenika przez skórę, aż 1-2% ilości nałożonej na skórę po 10h jest wchłaniane do krwiobiegu, wydalany jest natomiast w formie bardziej polarnych metabolitów: BP-1 i BP-8, oznaczanych w moczu. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności kategoryzuje benzofenony, w tym BP-3, jako bio-akumulujące, toksyczne i możliwe karcynogenne. BP-3 może trafiać do środowiska wodnego bezpośrednio – w wyniku zmywania kosmetyków ze skóry lub pośrednio w postaci ścieków z basenów. BP-3 został wykryty w wodach powierzchniowych, pitnych i ściekach.

W związku z negatywnym wpływem BP-3 na środowisko i organizm niezbędne jest opracowanie zwalidowanych metod analitycznych pozwalających na oznaczanie ilościowe tego związku. Badania analityczne używane do oznaczania zawartości BP-3 w wodzie i kosmetykach bazują głównie na ekstrakcji do fazy stałej lub mikroekstrakcji z wykorzystaniem złoża stałego sorbentu, a następnie analizie za pomocą chromatografii cieczowej i spektroskopii masowej. Metody analityczne stosowane w oznaczaniu BP-3 w przypadku oznaczania narażenia organizmu na ten związek (po uprzedniej ekstrakcji z moczu, krwi lub surowicy) to HPLC oraz GC połączone z metodami detekcji takimi jak spektroskopia masowa czy UV. Alternatywą są techniki elektrochemiczne, które są tańsze i łatwiejsze niż metody chromatograficzne, dodatkowo ich czułość jest wyższa niż dla spektrofotometrii. BP-3 można również oznaczać w wodzie poza metodą UPLC-MS/MS, także przy użyciu woltamperometrii cyklicznej i fali prostokątnej z elektrodą BDD. Omawiany ksenobiotyk posiada wiele opisanych powyżej, niekorzystnych właściwości, w tym również zaburza gospodarkę hormonalną jako ksenoestrogen, dlatego monitorowanie jego stężenia w płynach biologicznych jest niezwykle istotne.

CYTOZGODNOŚĆ POLI(METAKRYLANU METYLU) WZMOCNIONEGO WŁÓKNAMI SYNTETYCZNYMI JAKO MATERIAŁU NA PROTEZY ZĘBOWE

Dawid Dziejcz¹, Piotr Ryglowski¹, Maciej Wełna², Bartosz Bienias², Maria Szymonowicz³,
Zbigniew Rybak³, Magdalena Wawrzyńska³, Maciej Dobrzyński⁴, Adam Watras^{4,5}, Rafał J.
Wiglusz⁵, Bartosz Mielan^{3*}

¹ SKN Stomatologii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów (K 145)
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Katedra Protetyki Stomatologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³ Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we
Wrocławiu

⁴ Katedra i Zakład Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Wydział
Lekarsko-Stomatologiczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

⁵ Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. W. Trzebiatowskiego PAN

*b.mielan@umw.edu.pl

WSTĘP

Materiały na bazie akrylu (PMMA) są często stosowane w protetyce stomatologicznej. Z uwagi na siły i naprężenia działające na protezy zębowe podczas ich użytkowania, powinny one wykazywać odpowiednie właściwości mechaniczne. W pracy zastosowano fazę wzmacniającą w postaci włókien węglowych, szklanych i aramidowych. Dotychczasowe badania wytrzymałościowe wykazały, że dodatek włókien sztucznych poprawia właściwości mechaniczne protez. Aby zastosować takie rozwiązanie w praktyce klinicznej niezbędne są badania cytozgodności.

CEL

Celem niniejszej pracy jest ocena cytozgodności, zbadanie oddziaływania płytek wykonanych z poli(metakrylanu metylu) wzmocnionych włóknami węglowymi, szklanymi i aramidowymi z komórkami fibroblastów L929 oraz ocena ich właściwości fizykochemicznych. Materiały potencjalnie mogłyby znaleźć zastosowanie w protetyce stomatologicznej.

METODY

Z tworzywa akrylowego (Estetic (Wiedent)) wykonano cztery rodzaje próbek w postaci cienkich, podłużnych płytek – PMMA, oraz trzy próbki zmodyfikowane kolejno włóknem węglowym, szklanym i aramidowym. Następnie próbki wysterylizowano przy pomocy 70% roztworu etanolu i pozostawiono w płytce 24-dółkowej do odparowania. Jednocześnie w innej płytce dodano medium hodowlane z suplementami (MEM Gibco + 10% fetal bovine serum + 1% penicylin/streptomycin) oraz komórki L929 w ilości 15000 komórek/dolek. Po 24h sterylne płytki PMMA przełożono do dołek z komórkami i kontynuowano hodowlę w 37°C, 5% CO₂. Obserwację morfologiczną komórek prowadzono po kolejnych 24h. Kontrolę stanowiły fibroblasty nie kontaktujące się z badanymi materiałami. Równolegle wykonano badania FT-IR.

WNIOSKI

Z otrzymanych wyników badań wynika, że zastosowanie modyfikatora w postaci włókien nie zmienia znacząco właściwości materiału i nie wpływa negatywnie na fibroblasty. Obraz morfologiczny komórek był prawidłowy w porównaniu do fibroblastów kontrolnych. Ocena ta stanowi wstępną kwalifikację do dalszych badań biozgodności materiału.

POTENCJAŁ METALOPROTEINAZ W OPRACOWYWANIU NOWOCZESNYCH TERAPII

Beata Gajewska

Studenckie Koło Naukowe Specjalistycznych Analiz Biologicznych, Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs), poza pełnieniem swoich fizjologicznych funkcji, odgrywają także znaczącą rolę w rozwoju wielu chorób, jak m.in. nowotwory, zaburzenia neurologiczne, choroby sercowo-naczyniowe i degeneracyjne. Mechanizmem leżącym u podstaw tych zmian patologicznych jest nadmierna ekspresja MMP oraz brak równowagi pomiędzy ich aktywacją a hamowaniem przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMP). Kluczowym stało się więc odkrycie nowoczesnych metod terapeutycznych mogących przywracać prawidłowe działanie MMP i zapobiegać rozwojowi powodowanych przez nie zaburzeń.

Pierwszymi próbami zastosowania moderowanej inhibicji metaloproteinaz było wykorzystanie małowcząsteczkowych związków ukierunkowanych na interakcję z jonem cynku – niezbędnym w procesie aktywacji MMP, jednak ze względu na swoją niską specyficzność zostały odrzucone na dalszych etapach badań klinicznych. [1] Kolejnymi potencjalnymi lekami były inhibitory łączące się z domenami PEX poszczególnych metaloproteinaz. Zasada ich działania opierała się na zaburzeniach allosterycznych jeszcze na etapie proenzymów, co skutkowało wyższą selektywnością i skutecznością podczas badań na modelu zwierzęcym w porównaniu do substancji wcześniejszej generacji. [2] Jedną z bardziej obiecujących strategii, cechującą się najwyższą selektywnością przy zachowaniu niższej niż w poprzednich metodach toksyczności, jest zastosowanie inhibitorów MMP na bazie białek. Na szczególną uwagę zasługuje terapia oparta na przeciwciałach. Leki z tej grupy mają dobrze poznane mechanizmy działania i niską immunogenność a ponadto techniki inżynierii białek, takie jak kierowana ewolucja i surface display mogą być wykorzystane do dalszej poprawy ich właściwości terapeutycznych. [3] Niektóre z tych innowacyjnych środków, bazujących na przeciwciałach monoklonalnych, zostały już zatwierdzone przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) i są dostępne na rynku jako leki o potwierdzonej skuteczności przeciwko chorobom, takim jak rak żołądka i reumatoidalne zapalenie stawów. [4]

Do niedawna prace naukowców nad skutecznymi i bezpiecznymi metodami terapeutycznymi opartymi o inhibicję metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej nie przynosiły oczekiwanych rezultatów, jednak rozwój medycyny molekularnej i proteomiki dał badaczom nowe możliwości na opracowanie potencjalnych leków, które w przyszłości mogą mieć znaczący wpływ na zdrowie pacjentów.

- [1] Egeblad M., Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer.* 2002;2:161–174.
- [2] Scannevin R.H., Alexander R., Haarlander T.M., Burke S.L., Singer M., Huo C.F., Zhang Y.M., Maguire D., Spurlino J., Deckman I., et al. Discovery of a highly selective chemical inhibitor of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) that allosterically inhibits zymogen activation. *J. Biol. Chem.* 2017;292:17963–17974
- [3] Gossage D.L., Cieslarova B., Ap S., Zheng H., Xin Y., Lal P., Chen G., Smith V., Sundry J.S. Phase 1b Study of the Safety, Pharmacokinetics, and Disease-related Outcomes of the Matrix Metalloproteinase-9 Inhibitor Andecaliximab in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Clin. Ther.* 2018;40

POTENCJALNE WŁAŚCIWOŚCI ANTYNOWOTWOROWE METFORMINY

Łukasz Gądek, Klaudia Kłak, dr Ewa Sawicka

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Toksykologii,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Metformina jest jednym z najczęściej stosowanych leków w terapii cukrzycy typu II oraz insulinooporności, jak i w Zespole Policystycznych Jajników (PCOS). Badania osób zmagających się z cukrzycą typu II wykazały mniejszą zapadalność na choroby nowotworowe u pacjentów leczonych metforminą w stosunku do osób leczonych pochodnymi sulfonilomocznika.

Pod względem budowy chemicznej metformina jest pochodną biguanidu-3-(diaminometylideno)-1,1-dimetyloguanidyną, a jej wciąż szeroko badane działanie obejmuje sensytyzację tkanek organizmu względem insuliny, nasilenie glikolizy beztlenowej, prowadzącej do jej zwiększonego zużycia na obwodzie oraz ograniczenie glukoneogenezy wątrobowej, prowadzącej do obniżonego wydzielania glukozy. Dochodzi również do istotnego zahamowania oksydacji kwasów tłuszczowych i spadku frakcji LDL i VLDL we krwi.

Badania *in vitro* wykazały, iż aktywność metforminy wobec komórek gruczolaka żołądka (AGS) obejmuje indukcję kinazy aktywowanej 5'AMP - AMPK, co skutkuje uruchomieniem szlaku apoptozy, w wyniku którego następuje zahamowanie rozwoju guza nowotworowego. Udowodnione również zostało działanie onkostatyczne zależne od stężenia glukozy względem komórek raka piersi. W warunkach prawidłowej glikemii nastąpiła aktywacja AMPK i inhibicja szlaków sygnałowych komórki, odpowiedzialnych za syntezę białek i proliferację komórek.

Otrzymane wyniki mogą wskazywać na potencjalne działanie przeciwnowotworowe metforminy związane z indukcją kinazy białkowej aktywowanej 5'AMP (AMPK), co może prawdopodobnie przyczynić się do zmniejszenia ryzyka występowania chorób nowotworowych u pacjentów z cukrzycą typu II.

Autorzy badań wskazują, że metformina mogłaby znaleźć potencjalne zastosowanie w farmakoterapii pomocniczej w leczeniu pacjentów onkologicznych z cukrzycą typu II, ale przy braku przeciwwskazań do stosowania pochodnych biguanidu oraz interakcji z chemioterapią, jak i dotychczasową farmakoterapią, jednakże powinny zostać przeprowadzone dalsze wielokierunkowe badania *in vivo* oraz *in vitro* w tym kierunku.

TERAPIA FOTODYNAMICZNA- MECHANIZM, ZASTOSOWANIE I ZNACZENIE W ONKOLOGII

Laura Jonderko

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Terapia fotodynamiczna (PDT) jest stosunkowo nieinwazyjną metodą terapeutyczną wykorzystującą napromieniowanie odpowiednią długością fali, która jest absorbowana przez czynnik fotouczulający w obecności tlenu. PDT wymaga trzech elementów: światła, fotouczulacza i tlenu. Fotouczulacz (PS) przenosi energię ze światła na tlen cząsteczkowy w celu wytworzenia reaktywnych form tlenu (ROS), takich jak tlen singletowy i wolne rodniki. Podczas PDT zachodzą dwa typy reakcji. Zarówno reakcje typu I jak i typu II zachodzą jednocześnie, a stosunek pomiędzy tymi procesami zależy od rodzaju użytego sensybilizatora, stężenia substratu i tlenu, a także powinowactwa wiązania sensybilizatora z substratem[1]. W procesie typu I tryplet PS może reagować z pobliskim substratem poprzez przeniesienie elektronu, tworząc kation rodnikowy lub anion rodnikowy, który może dalej reagować z substratami zawierającymi tlen, wytwarzając ROS. Reakcja typu II polega na bezpośrednim przeniesieniu energii z tripletowego PS na tlen tripletowy w stanie podstawowym i wytworzeniu wysoce reaktywnego tlenu singletowego[2].

Cytotoksyczny 1O_2 może bezpośrednio utleniać reszty aminokwasowe w białkach, lipidach oraz zasady nukleinowe lub wiązania cukrowe w kwasie dezoksyrybonukleinowym (DNA), a następnie zmieniać metabolizm wapnia i lipidów, zwiększać ekspresję cytokin i białek stresowych, a ostatecznie wywoływać apoptozę, nekrozę lub autofagię komórek [2][4].

Kliniczne wykorzystanie PDT w terapii sięga około 40 lat wstecz, jednak postęp naukowy w zakresie tej metody wyprzedził postęp jej zastosowań klinicznych. Jako przykład naukowcy badają obecnie możliwość poprawy specyficzności nowotworowej fotouczulaczy. Jednym z podejść jest wykorzystanie przejściowych hydrofilowych "porów" powstałych w wyniku zastosowania impulsów elektrycznych. Proces ten, zwany odwracalną elektroporacją, może być wykorzystany do transportu komórkowego - jest to skuteczna metoda zwiększenia transportu fotouczulacza do komórek patologicznych [3].

Pełne zrozumienie ścieżek sygnalizacyjnych jest wciąż niewystarczające, jednak rozszyfrowanie tych reakcji biochemicznych może pomóc nam znaleźć nowe cele do przechwytywania apoptozy i sposoby neutralizacji raka.

1. Felsher, D. W. (2003). Cancer revoked: Oncogenes as therapeutic targets. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 3, Issue 5, pp. 375–380)
2. Hu, J. J., Lei, Q., & Zhang, X. Z. (2020). Recent advances in photonanomedicines for enhanced cancer photodynamic therapy. In *Progress in Materials Science* (Vol. 114). Elsevier Ltd
3. Kwiatkowski, S., Knap, B., Przystupski, D., Saczko, J., Kędzińska, E., Knap-Czop, K., Kotlińska, J., Michel, O., Kotowski, K., & Kulbacka, J. (2018). Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 106, pp. 1098–1107). Elsevier Masson SAS
4. Prabal Singh Maharjan, Hitesh Kumar Bhattarai, "Singlet Oxygen, Photodynamic Therapy, and Mechanisms of Cancer Cell Death", *Journal of Oncology*, vol. 2022, Article ID 7211485, 20 pages, 2022.

METODY OZNACZANIA INTERLEUKINY-1 β w MATERIALE BIOLOGICZNYM

Karolina Kędzierska

Studenckie Koło Naukowe Specjalistycznych Analiz Biologicznych, Katedra Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Interleukina-1 β (IL-1 β) jest silną cytokiną biorącą udział w odpowiedzi zapalnej, wytwarzaną przez komórki wrodzonego układu odpornościowego. Jest ona jedną z najlepiej zbadanych i scharakteryzowanych członków rodziny IL-1. Moduluje ważne procesy metaboliczne, w tym wydzielanie insuliny i apoptozę komórek β . W ostatnich latach badania zgromadziły bardzo dużo informacji na temat wieloaspektowej roli IL-1 β w stanach patofizjologicznych, co wiąże się z opracowaniem różnych metod jej oznaczania. Najczęściej stosowaną jest metoda immunoenzymatyczna (ELISA). Możliwe jest w niej oznaczenie IL-1 β w surowicy, osoczu lub w supernatancie. Zakresy poszczególnych testów ELISA mogą się znacznie różnić i wynosić np. w jednym teście 1.25pg/ml - 80 pg/ml, a w innym 125 pg/ml - 8000 pg/ml. W niektórych badaniach IL-1 β była oznaczana metodą cytometrii przepływową. W wielu pracach analizowano także możliwość udziału polimorfizmów IL-1 β w genetycznej podatności na różne choroby, często na cukrzyce typu 2. Z przeprowadzonych analiz wynika, iż występuje duża heterogeniczność między wynikami rozmaitych badań prowadzonych w grupie pacjentów z tą samą jednostką chorobową, co może być skutkiem różnic wynikających z zastosowania danego testu, czy też rodzaju materiału biologicznego, ale również z różnic w czasie trwania choroby między pacjentami. Wiek, BMI i wiele czynników genetycznych, hormonalnych i środowiskowych wpływają na poziom IL-1 β , co może utrudniać uzyskanie spójnych wyników badań, dlatego konieczne są dalsze dokładniejsze analizy z użyciem standardowych testów.^{1,2}

1. Alfadul H, Sabico S, Al-Daghri NM. The role of interleukin-1 β in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol.* 2022;13:901616. doi:10.3389/fendo.2022.901616
2. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22(4):189-195. doi:10.1016/j.cytogfr.2011.10.001

KODEINA - Dyskusyjny lek

Natalia Kubiak, Katarzyna Kuta, Ewa Sawicka

dr Ewa Sawicka, Studenckie Koło Naukowe Toksykologiczne,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Ze względu na psychoaktywne właściwości leków opioidowych, łatwo dostępna kodeina często staje się przedmiotem nadużyć. Nadużywanie kodeiny stało się problemem zdrowia publicznego ze względu na związane z nim działania niepożądane, takie jak ból głowy, wymioty i krwotoki czy reakcje anafilaktyczne, drgawki, depresja oddechowa. Kodeina jest nadal szeroko stosowana jako środek przeciwbólowy czy przeciwkaszlowy. Od wielu lat wyrażano obawy dotyczące bezpiecznego stosowania kodeiny w leczeniu bólu szczególnie u dzieci, a w 2011 roku WHO usunęła kodeinę z listy podstawowych leków dla dzieci. Wykazano, że kodeina może prowadzić do ciężkiej depresji oddechowej, zwłaszcza u dzieci i młodzieży po adenotonsillectomi czyli wycięciu migdałka gardłowego z jednoczesnym nacięciem migdałków podniebiennych.

Fałszywe postrzeganie zarówno przez pracowników służby zdrowia i pacjentów, że kodeina jest „słabym” opioidem, a zatem bezpieczniejsza niż silne opioidy, takie jak morfina i fentanyl, przyczyniać się może do stałego wzrostu jej stosowania. Jednak kodeina nie jest „słabym” opioidem; jest prolekiem silnego opioidu np. morfiny. Wysoce nieprzewidywalna biotransformacja kodeiny do morfiny stanowi dodatkowe wyzwanie, dlatego podawanie kodeiny przypomina podawanie wysoce nieprzewidywalnej dawki silnego opioidu.

Wiarygodne techniki analityczne mają kluczowe znaczenie zarówno dla kontroli jakości leku np. kodeiny w farmaceutycznych postaciach, jak i wykrywania potencjalnych nadużyć przez pacjentów. Metody analityczne mające zastosowanie w oznaczaniu kodeiny to:

Elektroforeza kapilarna czyli metoda analitycznej separacji, w której składniki mieszaniny są rozdzielane na podstawie ich ruchliwości elektroforetycznej; chromatografia cieczowa, w której rozdział analizowanej mieszaniny na poszczególne związki opiera się na przepuszczeniu roztworu przez specjalnie spreparowaną fazę rozdzielczą; elektrochromatografia kapilarna, która jest techniką hybrydową, łączącą zalety metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej, a także elektroforezy kapilarnej. Te techniki instrumentalne zapewniają doskonałą czułość, dokładność i precyzję, które są kluczowe dla kontroli jakości preparatów farmaceutycznych i zapewnienia pacjentom dokładnej diagnostyki.

OCENA BIOZGODNOŚCI I POWIERZCHNI MEMBRAN DO STEROWANEJ REGENERACJI TKANEK WYTWORZONYCH Z RÓŻNYCH RODZAJÓW PLA

Sandra Krzysztofik¹, Grzegorz Mikita¹, Dominika Banaś^{1, *}, Maria Szymonowicz², Zbigniew Rybak², Magdalena Wawrzyńska², Maciej Dobrzyński³, Adam Watras^{3,4}, Rafał J. Wiglusz⁴ Bartosz Mielan^{2*}

¹ SKN Stomatologii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów (K 145), Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Centrum Badań Przedklinicznych, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, b.mielan@umw.edu.pl

³ Katedra i Zakład Stomatologii Dziecięcej i Stomatologii Przedklinicznej, Wydział Lekarsko-Stomatologiczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

⁴ Instytut Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. W. Trzebiatowskiego PAN

WSTĘP

Membrany do sterowanej regeneracji tkanek stanowią barierę między dziąsłem a kością wyrostka zębodołowego oraz powierzchnią korzenia mającą zapewnić właściwą odbudowę tkanek przyzębia. Ważne jest, aby taki materiał miał asymetryczną budowę i odmienne właściwości, dostosowane do tkanek z którymi się kontaktuje. W przypadku dziąsła powinien być hydrofobowy i utrudniać nadmierny wzrost tkanki, a po spełnieniu swojej roli ulec resorpcji.

CEL

Celem badań było porównanie różnych rodzajów poli(kwasu mlekowego) (PLA) pod kątem właściwości powierzchniowych oraz ich interakcji z liniami komórkowymi.

METODY

Do badań użyto trzy rodzaje poli(kwasu mlekowego) (PLA 3002d, 4032d, 2003d NatureWorks) w postaci granulatu, które rozpuszczono w chloroformie. Roztwory wylano na gładkie szklane płytki i pozostawiono na 24h w temp. pokojowej, celem odparowania rozpuszczalnika. Następnie próbki delikatnie zdjęto z powierzchni szklanej i jako membrany poddano badaniom na profilometrze i goniometrze. Ponadto membrany pocięto w kwadraty i wymiarach 0,5x0,5cm i umieszczono w płytce 24-dołkowej, gdzie poddano je sterylizacji 70% roztworem etanolu i promieniowaniem UV komory laminarnej przez 10 minut. Po 24h, gdy alkohol odparował dodano medium hodowlane z suplementami (MEM Gibco + 10% fetal bovine serum + 1% penicylin/streptomycyn) oraz fibroblasty L929 w ilości 15000 komórek/dołek. Następnie inkubowano w 37°C, 5% CO₂. Oceny morfologicznej komórek dokonano po 1, 3 i 7 dniach. Kontrolą były fibroblasty nie kontaktujące się z ocenianymi materiałami.

WNIOSKI

Wszystkie zbadane membrany cechowały się odpowiednimi właściwościami powierzchniowymi, dedykowanymi dla tego rodzaju biomateriałów. Bez względu na rodzaj zastosowanego PLA biouzgodność wytworzonych membran jest wysoka.

NIEKONWENCJONALNE MATERIAŁY W BADANIACH ANALITYCZNYCH – ZASTOSOWANIE WŁOSÓW JAKO MATRYCY BIOLOGICZNEJ W MEDYCYNIE

Michał Orczyk, Martyna Orzechowska

Opiekun: dr n. med. Krzysztof Balawender

Koło Anatomiczne Uniwersytetu Rzeszowskiego, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

Włosy już od kilku lat są materiałem biologicznym zyskującym coraz większe znaczenie i rolę w badaniach analitycznych. Obecnie są najczęściej stosowaną niekonwencjonalną matrycą o wciąż rosnącym potencjale klinicznym. Wykorzystanie włosów jako materiału analitycznego niesie za sobą liczne praktyczne zastosowania w wielu różnych dziedzinach medycyny. Analizowanie składu włosów służy między innymi do monitorowania i kontrolowania leczenia pacjenta, potwierdzenia bądź wykluczenia ojcostwa, a także sprawdzenia narażenia organizmu na zanieczyszczenia takie jak metale ciężkie czy pestycydy.

Analiza całych włosów, bądź ich fragmentów, może dostarczyć obiektywnych danych na temat intensywności i czasu trwania indywidualnego narażenia człowieka na ksenobiotyki, które mogą dostać się do organizmu drogą endogenną lub egzogenną. Badania włosów cechują się łatwością i niską inwazyjnością pobrania, a także szerokim oknem detekcji, umożliwiając określenie kontaktu z substancją obcą w przeciągu ostatnich miesięcy, co wyróżnia je na tle najpopularniejszych matryc biologicznych, takich jak krew czy mocz. Z drugiej strony związane są z wyższymi kosztami i koniecznością zastosowania czułych i selektywnych metod analitycznych. W badaniu analitycznym włosów zastosowanie mają testy immunologiczne takie jak testy CEDIA, EMIT, a także ELISA.

Prężny rozwój badań metod analitycznych oraz analiza mechanizmów włączenia ksenobiotyków w strukturę włosa umożliwia coraz szersze ich zastosowanie jako niekonwencjonalnego, alternatywnego źródła do testów analitycznych. Analiza włosów jako materiału biologicznego ma duży potencjał, aby być coraz częściej wykorzystywana w związku z ich retrospektywnym charakterem. Pomimo ograniczeń związanych z działaniem czynników zewnętrznych jest to coraz bardziej satysfakcjonujące narzędzie w pracy klinicznej.

ROLA KINAZY PFKFB3 W PROGRESJI CZERNIAKA AMELANOTYCZNEGO- OD SYMULACJI DO BADAŃ *IN VITRO*

Małgorzata Oślizło¹, Natalia Sauer², Katarzyna Karłowicz-Bodalska³

¹Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska;

²Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska;

³Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

Zwiększona glikoliza w komórkach nowotworowych jest związana z ochroną komórkową przed sygnałami uszkodzającymi DNA. Glikoliza jest szlakiem metabolicznym służącym do wytwarzania ATP jako głównego źródła energii. Komórki nowotworowe chętniej korzystają z glikolizy, nawet gdy dostępna jest wystarczająca ilość tlenu. Zjawisko to znane jest jako "efekt Warburga" i sprzyja nowotworzeniu i złośliwości. Kluczową rolę w glikolizie odgrywa 6-fosfofrukto-2-kinaza/fruktozo-2,6-bisfosfataza 3 (PFKFB3), która katalizuje produkcję fruktozo-2,6-bisfosforanu, silnego allosterycznego stymulatora glikolizy. Co ciekawe, spośród czterech członków rodziny PFKFB, PFKFB3 jest jedynym zlokalizowanym w jądrze. W naszej pracy pokazujemy, że kwas acetylosalicylowy (ASA) promuje niezależną od kaspazy 3/7 śmierć komórek i jednoczesną kolokację kinazy PFKFB3 z jądra do cytoplazmy. Ponadto, zaobserwowaliśmy, że po potraktowaniu 0,1 mM ASA, nastąpiła znacząca nadekspresja PFKFB3, prowadząca do akumulacji kinazy w cytoplazmie. Nasze odkrycia ujawniły mechanizm, w którym komórki stymulują glikolizę, aby chronić się przed uszkodzeniami i potencjalnie sugerują strategię terapeutyczną, aby uwrażliwić komórki nowotworowe na czynniki genotoksyczne poprzez ukierunkowanie PFKFB3. Nasze badania wykazały, że komórki traktowane ASA w celu ochrony przed uszkodzeniami zmieniają profil ekspresji kinazy PFKFB3.

PRZECIWDEPRESYJNE DZIAŁANIE EKSTRAKTU WODNEGO Z *CRATAEGUS ARONIA L.*

Emilia Pogoda¹, Adam Kowalczyk²

¹Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji i Leku Roślinnego,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Farmakognozji i Leku Roślinnego, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet
Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Depresja jest powszechnie występującym zaburzeniem psychicznym, które w stopniu znaczącym wpływa na jakość życia pacjenta [2]. Zgodnie z hipotezą monoaminową choroba ta jest spowodowana niedoborem noradrenaliny (NA), dopaminy (DA) i serotoniny (5-HT) w mózgu [3]. Aktualnie w terapii tej jednostki chorobowej stosowanych jest wiele syntetycznych leków przeciwdepresyjnych, takich jak inhibitory monoaminooksydazy (MAOI), selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) czy trójcykliczne leki przeciwdepresyjne (TCA), jednak w związku z dużą ilością działań niepożądanych oraz częstym występowaniem u pacjentów oporności na te grupy leków, ważne jest ciągle poszukiwanie nowych substancji, które będą mogły być wykorzystane w leczeniu depresji [2]. Dużym zainteresowaniem cieszą się obecnie naturalne źródła substancji leczniczych. Dotychczas stwierdzono przeciwdepresyjne działanie wielu substancji roślinnych i związków w nich występujących takich jak m.in. wyciąg z liści *Passiflora foetida*, wyciąg z nasion *Curcubita pepo* czy kurkumina z gatunku *Curcuma longa* [3]. Duży potencjał w leczeniu depresji, dzięki swojej aktywności antyoksydacyjnej, mają polifenole. Znaczące ich stężenie wykryto w wodnym wyciągu z *Crataegus aronia*, rodzina Rosaceae, występującej na górzystych terenach rejonu Morza Śródziemnomorskiego [1]. Przeciwdepresyjne działanie ekstraktu z liści i kwiatów *C. aronia* badano z wykorzystaniem modelu chronicznego, nieprzewidywalnego, łagodnego stresu (CUMS), którym indukowano depresję u samców szczurów Wistar. Stres wywołał obniżenie stężenia 5-HT w moczu oraz wzrost stężenia NA i DA. Długotrwałe leczenie spowodowało natomiast znaczne podwyższenie poziomu 5-HT oraz obniżenie poziomu NA i DA po 36 i 51 dniach zarówno w grupie leczonej fluoksetyną, jak i tej, u której stosowano wyciąg z *C. aronia*. Uzyskane wyniki wskazały na duży potencjał terapeutyczny ekstraktu z *C. aronia* w leczeniu depresji, wynikający prawdopodobnie z obecności polifenoli, które redukują stres oksydacyjny wywołany przez CUMS [1].

[1] Alamri H. S.: Evaluation of the antidepressant-like activity of the aqueous extract of *Crataegus aronia*. Pharmacogn. Mag., 2022, 18, 128-132.

[2] Zhang Y., Li L., Zhang J.: Curcumin in antidepressant treatments: an overview of potential mechanisms, pre-clinical/clinical trials and ongoing challenges. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., 2020, 127, 243-253.

[3] Pratab V. B., Padamatinti A. N., Mudunuri G. R., Gotika V. P.: A comprehensive review of phytochemical components as potential antidepressants. Pre-Clin. Res., 2021, 3:8186.

PRZEGLĄD BIOMEDYCZNYCH ZASTOSOWAŃ ZWIĄZKÓW DOMIESZKOWANYCH JONAMI LANTANOWCÓW

Paweł Porębski

Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego

Lantanowce (Ln) są pierwiastkami leżącymi w układzie okresowym między lantanem, a lutetem należącymi do bloku f. Ln występują najczęściej na III stopniu utlenienia, a ich pasma absorpcyjne i emisyjne są wynikiem przejść w obrębie podpowłoki 4f. Ekranowanie obecnych na podpowłoce 4f elektronów przez elektrony podpowłok 5s i 5p przyczynia się do niewielkiego wpływu pola krystalicznego, a tym samym do powstania pasm absorpcyjnych i emisyjnych o małej szerokości połówkowej w zakresie promieniowania ultrafioletowego, widzialnego i bliskiej podczerwieni. Niestety, ze względu na małe wartości współczynników absorpcji, w celu uzyskania emisji o dużej jasności, wymagane jest zastosowanie metod wzmacniania luminescencji. Jedną z nich jest efekt anteny, czyli transfer energii wzbudzenia od liganda organicznego do jonu metalu w związkach koordynacyjnych Ln czy wykorzystanie zjawiska FRET (fluorescencyjny rezonansowy transfer energii). Znaczną popularnością w ostatnich latach cieszą się nanocząstki domieszkowane jonami ziem rzadkich, ze względu na wykorzystanie upkonwersji, zezwalającej na wykorzystanie promieniowania wzbudzającego z bezpiecznego dla zdrowia zakresu NIR. Niezwykłe właściwości luminescencyjne lantanowców i związków opartych o te pierwiastki pozwalają na ich szerokie zastosowanie w różnorodnych metodach analitycznych. Przejścia elektronowe w obrębie podpowłoki 4f umożliwiają ściśle przyporządkowanie wartości długości fali emisji do danego jonu Ln, co daje możliwość wykorzystania tych indywidualności do oznaczeń w testach immunoenzymatycznych ELISA, obrazowaniu biomedycznym, dostarczaniu leków czy terapii fotodynamicznej. Niniejszy poster ma za zadanie przedstawić zalety, wady i niektóre zastosowania jonów lantanowców w naukach medycznych, ze szczególnym uwzględnieniem metod analitycznych.

DWUFOTONOWA ANTYBAKTERYJNA TERAPIA FOTODYNAMICZNA W LECZENIU ZAKAŻEŃ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Karolina Saczuk¹, Krzysztof Nadolski¹, Marta Piksa², Krzysztof Pawlik², Katarzyna Matczyszyn¹

¹ Instytut Materiałów Zaawansowanych, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, Polska

² Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Polska Akademia Nauk, Polska

E-mail: karolina.saczuk@gmail.com

Od wielu lat, na całym świecie, obserwowany jest wzrost ilości infekcji wywołanych przez antybiotykooporne szczepy bakterii. W szczególności Gram-dodatni *Staphylococcus aureus*, którego szczepy odporne są na wiele rodzajów antybiotyków jednocześnie, m.in. na penicylinę, metycylinę i wankomycynę [1]. Z tego powodu, w wielu ośrodkach prowadzone są badania, mające na celu opracowanie nowych metod terapeutycznych, niezależnych od użycia antybiotyków.

Antybakteryjna Terapia Fotodynamiczna (eng. *Antimicrobial Photodynamic Therapy* – aPDT) jest obiecującą metodą leczenia infekcji, wykorzystującą tylko trzy składniki: światło, fotouczulacz oraz tlen. Poprzez poddanie fotouczulacza promieniowaniu o określonej długości fali, jego cząsteczki zostają wzbudzone i reagują z tlenem zawartym w otoczeniu, tworząc reaktywne formy tlenu (eng. *reactive oxygen species*). Reaktywne formy tlenu generują stres fotooksydacyjny, który negatywnie wpływa na dotknięte nim komórki bakteryjne, prowadząc do ich śmierci [2]. Użycie światła w obszarze bliskiej podczerwieni gwarantuje większą penetrację tkanek, by leczyć infekcje powierzchniowe oraz usytuowane wewnątrz organizmu. Dodatkowo, procesy optyki nieliniowej, takie jak wzbudzenie dwufotonowe, mogą być wykorzystane w celu zwiększenia efektywności przeprowadzanej terapii [3].

Przeprowadzono badania, w których zbadano wpływ Antybakteryjnej Terapii Fotodynamicznej na przeżywalność bakterii *S. aureus*. Doświadczenia wykonano przy użyciu błękitu metylenowego jako fotouczulacza oraz lasera femtosekundowego jako źródła światła. Jedno- oraz dwufotonowe wzbudzenie fotouczulacza zostały ocenione. Próby bez fotouczulacza także zostały przeprowadzone, w celu zbadania wpływu samego lasera na przeżywalność bakterii. Sprawdzone różne długości fali, moce wiązki lasera oraz czasy naświetlania.

Uzyskane wyniki wykazały znaczący spadek przeżywalności bakterii poddanych terapii fotodynamicznej, w przypadku jednofotonowego wzbudzania błękitu metylenowego. Dodatkowo, wraz ze wzrostem mocy wiązki lasera i wydłużeniem czasu naświetlania, wpływ terapii był bardziej uwidoczny. Dwufotonowa aPDT, w badanych warunkach, była nieskuteczna – wartości przeżywalności próbek przekraczały wartości kontroli, co może

sugerować stymulację wzrostu bakterii. Sprawdzenie innych warunków jest konieczne w celu dalszego określania skuteczności wzbudzenia dwufotonowego.

- [1] Perez C., Zuniga T., Palavecino C. E., *Photodynamic therapy of Staphylococcus aureus infections*, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 34, 102285, 2021
- [2] Dharmaratne P., Sapugahawatte D. N., Wang B., Chan C. L., Lau K.-M., Fung K. P., Ng D. K. P., IP M., *Contemporary approaches and future perspectives of antibacterial photodynamic therapy (aPDT) against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): A systematic review*, European Journal of Medicinal Chemistry, 200, 112341, 2020
- [3] Xu L., Zhang J., Yin L., Long X., Zhang W., Zhang Q., *Recent progress in efficient organic two-photon dyes for fluorescence imaging and photodynamic therapy*, Journal of Materials Chemistry, C., 8, 6342-6349, 2020

FARMAKOKINETYKA KETOPROFENU: ROZWÓJ I OCENA UWALNIANIA MIĘKKICH KAPSULEK ŻELATYNOWYCH L.)

Olga Szczepańska¹, Natalia Sauer¹, Wojciech Szlaska², Natalia Janicka¹, Katarzyna Waclawczyk¹, Katarzyna Karłowicz-Bodalska³

¹Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska;

²Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

³Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska;

Ketoprofen należy do grupy bardzo popularnych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). Występuje w różnych postaciach i dawkach. Szybkość wystąpienia efektu terapeutycznego związana jest z uwalnianiem substancji czynnej API, która zależy od składu formułacji, jakości i właściwości substancji pomocniczych.

W celu oceny profilu uwalniania doustnych produktów leczniczych zawierających ketoprofen, dostępnych na rynku farmaceutycznym, przeprowadzono badania uwalniania substancji czynnej zawartej w: Ketokaps MAX, 50 mg, kapsułki miękkie, Ketonol Active, 50 mg, kapsułki twarde, Ketokaps MED, 100 mg, kapsułki miękkie, Refastin, 100 mg, tabletki powlekane oraz Ketonol Forte, 100 mg, tabletki powlekane. Uwalnianie leku badano przy użyciu biorównoważnych mediów FaSSGF i FaSSIF w aparacie przepływowym typu IV.

Wyniki wskazały, że produkt Ketokaps MAX, 50 mg ma krótszy czas uwalniania ketoprofenu i szybciej osiąga maksymalne stężenie uwalnianej substancji czynnej niż Ketonol Active, 50 mg. Takie same wyniki odnotowano dla produktu Ketokaps MED, 100 mg w porównaniu do Refastinu, 100 mg i Ketonolu Forte, 100 mg. Badania *in vitro* potwierdzają, że badane produkty różnią się zauważalnie kinetyką uwalniania substancji czynnej.

Możemy założyć, że Ketokaps MAX, 50 mg i Ketokaps MED, 100 mg ze względu na krótszy czas uzyskania C max szybciej wywołają efekt terapeutyczny, co czyni je produktami bardziej skutecznymi.

ZASTOSOWANIE TANDEMOWEJ SPEKTROMETRII MAS W ODENTYFIKACJI BIOMARKERÓW MOLEKULARNUCH

Maria Trętowicz, Remigiusz Bąchor

Zespół Inżynierii Peptydów, Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski

Biomarkery molekularne to cząsteczki pełniące funkcję mierzalnych wskaźników specyficznych stanów biologicznego organizmu, w szczególności tych związanych z procesem chorobowym. Wśród różnych biocząsteczek to w domenie białek obserwowalne będą najliczniejsze zmiany spowodowane chorobą, odpowiedzią organizmu i jego powrotem do zdrowia. Sprawia to, że proteomika jest szczególnie obiecująca w zakresie odkrywania biomarkerów.

Podstawowym narzędziem do poszukiwania nowych biomarkerów białkowych jest spektrometria mas (MS), która umożliwia jakościową i ilościową analizę proteomiczną materiału biologicznego pacjenta. Mimo matryc o wysokim stopniu złożoności, przygotowanie próbki przez hydrolizę enzymatyczną, analiza metodą tandemowej spektrometrii mas oraz wykorzystanie narzędzi bioinformatycznych umożliwia identyfikację unikatowych fragmentów peptydów, które, poparte pewną statystyką, mogą stanowić potencjalne biomarkery. Odpowiedzią na problemy związane z niewystarczającą czułością czy powtarzalnością badań jest derywatywacja ładunkowa, polegająca na przyłączeniu wewnątrznie zjonizowanej cząsteczki do peptydu tryptycznego, tworząc stabilny ładunek, co umożliwia zwiększenie wydajności jonizacji w analizie MS. Taka metoda, wykorzystująca sól pirydyniową, została opracowana przez Zespół Inżynierii Peptydów Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego do identyfikacji biomarkerów molekularnych stanu przedrzucawkowego u kobiet na bezobjawowym etapie choroby oraz wczesnej identyfikacji dysfunkcji nerek u zwierząt. Trwają nowatorskie prace nad dalszym rozwojem tej strategii badań m.in. do oznaczenia biomarkerów białkowych nefrotoksyczności spowodowanej przez cyklosporynę A u pacjentów po przeszczepach.

Opracowanie wydajnych metod analizy, np. przez wykorzystanie derywatywacji ładunkowej, może usprawnić jej zastosowanie i przyczynić się do udoskonalenia diagnostyki szeregu chorób u ludzi, zmniejszając ryzyko komplikacji zdrowotnych czy możliwości dalszego rozwoju chorób.

WIEDZA PRZYSZŁYCH MEDYKÓW NA TEMAT INTERAKCJI KANNABIDIOLU (CBD) Z LEKAMI

Katarzyna Wer, Mateusz Wojciechowski

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wstęp i cele

Wraz z rosnącą popularnością rekreacyjnego stosowania CBD i jego rozpowszechnioną dostępnością, potrzeba świadomości na temat możliwych interakcji z przyjmowanymi równocześnie lekami staje się niezwykle istotna. Celem niniejszego badania jest ocena wiedzy studentów UMW na temat interakcji CBD z lekami.

Metody badawcze

Przeprowadziliśmy badanie ankietowe wśród studentów Farmacji, Medycyny i Stomatologii UMW. Ankieta składała się z 14 pytań z zakresu świadomości na temat interakcji, źródeł wiedzy i leków podejrzewanych o wchodzenie w interakcje z CBD. Co więcej, rozszerzyliśmy badania o aspekt bezpieczeństwa pacjenta: zapytaliśmy studentów, czy podczas konsultacji lekarskiej zostali zapytani o przyjmowanie preparatów zawierających CBD oraz czy podczas nabywania takich preparatów w aptece zostali poinformowani o bezpieczeństwie stosowania.

Wyniki

Z 203 ankiet rozdanych studentom UMW 97% (197) zostało zwróconych. 56% ankietowanych jest świadomych faktu występowania interakcji między CBD a lekami. Jako źródła informacji: 82% ankietowanych określiło Internet, 45% zajęcia uczelniane, 19% znajomych i rodzinę. Najczęściej wybieranymi lekami były: benzodiazepiny (50%), opioidy (48%), SSRI i SNRI (47%), etanol (39%). Spośród 184 osób, które skorzystały z medycznej konsultacji, jedynie 5 (2.7%) zostało zapytanych o stosowanie preparatów zawierających CBD. Spośród 36 osób, które zgłosiły kupowanie produktów zawierających CBD w aptece, 0 osób (0%) zostało poinformowanych o możliwych interakcjach.

Wnioski

Biorąc pod uwagę popularność produktów zawierających CBD, niedobór wiedzy o interakcjach tego związku z lekami jest stosunkowo istotnym problemem. Jedynie 56% studentów jest świadomych występowania interakcji. Głównym źródłem informacji jest Internet, co wskazuje na niewystarczający poziom edukacji w tym zakresie. Biorąc pod uwagę powyższe, korzystnym byłoby zorganizować zajęcia uczelniane pokrywające temat interakcji CBD.

JEDEN ZASTRZYK NA NIEKOŃCZĄCE SIĘ PROBLEMY

Natalia Wiatrowska, Patrycja Rzepka, Julia Świdarska, Anna Świerkosz, Anna Sośnicka
dr Ewa Sawicka, Studenckie Koło Naukowe Toksykologiczne, Uniwersytet Medyczny im.
Piastrów Śląskich we Wrocławiu

Rozległe uszkodzenia układu odpornościowego powodowane przez wirusa HIV mają związek ze zdolnościami patogenu do ciągłej replikacji, co wywołuje nieprawidłową aktywację komórek układu odpornościowego oraz uszkodzenie funkcji limfocytów. Zmienione chorobowo limfocyt B pobrane od pacjentów wykazują aberracje chromosomalne, wpływające na ich szybkość oraz jakość odpowiedzi na sygnały odpornościowe.

Celem pracy było przedstawienie skuteczności przełomowej terapii skutecznej w leczeniu HIV, która składa się z jednorazowego zastrzyku.

Nowo opracowana metoda wykorzystuje możliwości dostosowania się zmodyfikowanych limfocytów B do zmian wirusa. Cały proces odbywa się wewnątrz organizmu za pomocą dwóch wektorów wirusowych związanych z adenowirusem: jeden kodujący Cas9 (białko związane z CRISPR 9), a drugi kodujący bNAb (przeciwciała neutralizujące). Owe przeciwciała tłumią wiramię, a terapia skojarzona umożliwia długotrwałą supresję po przerwaniu terapii antyretrowirusowej. Osoby chore z obecnością wirusów wrażliwych na podwójne przeciwciała doświadczały zmniejszonej wirēmii przez trzy miesiące już po pierwszym, z maksymalnie trzech podwójnych wlewów bNAb. Jednak średni okres półtrwania bNAb jest krótki, co może prowadzić do nawrotu wirēmii. W odpowiedzi na ten problem została opracowana inżynieria limfocytów B do ekspresji przeciwciał. Niestety, metoda polegająca na zastosowaniu zmodyfikowanych allogenicznym limfocytów B jest wyzwaniem ze względu na koszt, złożoność procedury oraz wymóg dopasowania HLA.

W badaniach przeprowadzonych na myszach dowiedziono, że poddane inżynierii genetycznej *in vivo* limfocyty B produkują wysokie miana przeciwciał neutralizujących. Niewątpliwą zaletą wynikającą ze stosowania opisanego metody jest fakt, że cechuje się ona wysoką skutecznością, ponadto jest bezpieczna i może być stosowana na dużą skalę.

Rządowy Program Polityki Zdrowotnej „Leczenie antyretrowirusowe osób żyjących z wirusem HIV w Polsce” na lata 2022-2026 opiera się na strategii Fast Track, stworzonej przez UNAIDS i WHO, wykorzystującej zasadę 90%-90%-90%, zgodnie z którą prawie wszystkie osoby zakażone (90%), wiedzą o swoim zakażeniu, z czego 90% otrzymuje leczenie antyretrowirusowe (ARV) i 90% z nich ma niewykrywalną wiramię. Celami leczenia ARV jest poprawa stanu zdrowia osób zakażonych, odbudowa systemu odpornościowego, zmniejszenie ryzyka rozwoju AIDS, obniżenie poziomu zakaźności i transmisji wirusa HIV.