

## ABSTRAKTY



AGATA ADAMCZYK, JOANNA PŁATEK, ADAM BEDNARSKI

## POSZUKIWANIA NOWYCH MECHANIZMÓW REGULACJI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

I Klinika Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Zakład Farmacji Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Nadciśnienie tętnicze jest jedną z najczęstszych chorób na świecie i głównym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, stanowiących pierwszą przyczynę zgonów w Europie. Prowadzi ono do uszkodzeń narządowych w obrębie serca, naczyń krwionośnych i nerek. W poszukiwaniu nowych czynników ryzyka zwrócono uwagę m.in. na: (1) mikropierwiastki, których zaburzona homeostaza może brać udział w powstawaniu dysfunkcji układu sercowo-naczyniowego, (2) witaminę D, której obniżony poziom często współlistnieje z nadciśnieniem tętniczym, chorobą wieńcową oraz zaburzeniami metabolicznymi, (3) nowo odkryty sodowy bufor podskórny i związany z nim czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego typu C (VEGF-C).

**Cel:** Celem powyższych prac jest znalezienie nowych, pozanerkowych mechanizmów regulacji ciśnienia tętniczego. Jedno z badań ma oceniać zależność między poziomem wolnych jonów cynku, miedzi i żelaza oraz wybranych metaloprotein a wskaźnikami uszkodzeń narządowych w obrębie serca i tętnic. Kolejne ma określić związek metabolitów witaminy D z ciśnieniem tętniczym oraz strukturą naczyń tętnicznych. Celem trzeciego tematu jest ustalenie, jak podaż soli w diecie wpływa na stężenie VEGF-C w osoczu w badanej populacji.

**Materiał i metody:** W badaniu uczestniczy 300 osób z populacji włączonej w polską część European Project on Genes in Hypertension (EPOGH). Po zebraniu wywiadu za pomocą wystandaryzowanych kwestionariuszy uczestnikom badania wykonuje się pomiary ciśnienia tętniczego, badania antropometryczne, tonometryczne naczyń, echokardiograficzne serca, analizę składu ciała oraz oznaczenia parametrów biochemicznych we krwi oraz w dobowej zbiórce moczu. Pobrany materiał (osocze krwi oraz próbki dobowej zbiórki moczu) zostanie przeznaczony na specjalistyczne oznaczenia: wolnych jonów biometali, metaloprotein zawierających miedź, cynk i żelazo, metabolitów witaminy D (kwas kalcytronowy), VEGF-C, aktywności reninowej osocza, peptydów natriuretycznych, wydalanania aldosteronu, endogennego klirensu litu.

TOMASZ ADAMUS, PAWEŁ KONIECZNY,  
MAŁGORZATA SEKUŁA, MACIEJ SUŁKOWSKI

## WYKORZYSTANIE PEPTYDU P2A W TWORZENIU ZAAWANSOWANYCH TERAPII GENOWYCH

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

Postęp w obrębie nauk biomedycznych pozwolił na poznanie molekularnych mechanizmów progresji wielu nowotworów. Starania naukowców koncentrują się na wykorzystaniu zaawansowanych technik inżynierii genetycznej w celu stworzenia terapii genowych wspomagających konwencjonalne metody leczenia. Złożoność mechanizmów sygnałowania na poziomie molekularnym wiąże się z koniecznością wprowadzania coraz większej liczby genów do komórek. W przypadku czynników transkrypcyjnych, bezpośrednio regulujących procesy transkrypcji i translacji, decydujący wpływ na funkcjonalność wprowadzanych genów ma ostateczna forma powstających z nich białek oraz miejsce ich agregacji w komórce.

Badania miały na celu określenie wydajności wprowadzania genu SNAI1 (czynnika transkrypcyjnego biorącego udział w progresji metastatycznej nowotworów pochodzenia epithelialnego) wraz z genem reporterowym GFP (białkiem zielonej fluorescencji) do komórek ssaczy. Badane geny zostały połączone ze sobą na dwa sposoby, umożliwiając powstawanie jednego białka fuzyjnego (GFP-SNAI1) lub dwóch niezależnych białek (GFP-P2A-SNAI1). Wykorzystane techniki umożliwiły określenie poziomu ekspresji transgenów, jak również ich translokacji cytoplazmatyczno-jądrowej w zależności od zastosowanego połączenia.

Uzyskane wyniki wskazują na znaczącą przewagę w zastosowaniu motywu P2A przy jednoczesnym wprowadzaniu dwóch genów do komórek. Wyraża się ona głównie w ilości czynnika transkrypcyjnego aktywnie transportowanego do struktur jądra komórkowego, gdzie pełni swoją prawidłową funkcję. W rezultacie użycie motywu P2A jako łącznika kilku genów umożliwi stworzenie pojedynczych wektorów wirusowych, które po wprowadzeniu do komórek pozwolą na powstanie kilku niezależnych, w pełni funkcjonalnych białek.

MARTA BALAJEWICZ-NOWAK

## WYSTĘPOWANIE POLIMORFIZMÓW GENÓW II I V CZYNNIKA KRZEPNIĘCIA KRWI WŚRÓD KOBIET Z NAWRACAJĄCYMI UTRATAMI CIĄŻ

Katedra Położnictwa i Ginekologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wprowadzenie:** Genetycznie uwarunkowana trombofilia jest uważana za czynnik ryzyka w nawracających utratach ciąży. Badanie miało na celu ocenę częstości występowania mutacji genu czynnika V (F5) T1328C oraz czynnika II (F2) A19911G u kobiet z nawracającymi utratami ciąży w populacji polskiej.

**Cele:** Ocena zależności pomiędzy nawracającymi utratami ciąży i badanymi mutacjami genów warunkującymi trombofilie wrodzone. Badaniem objęto 136 pacjentek z nawracającymi utratami ciąży, u których wykonano oznaczenie następujących polimorfizmów: mutacje G1691A (Leiden) i T1328C genu V czynnika krzepnięcia oraz mutacje G20210A i A19911G genu II czynnika krzepnięcia.

**Pacjenci i metody:** Do grupy badanej włączono 136 pacjentek z co najmniej dwoma poronieniami o niewyjaśnionej etiologii. Grupę kontrolną stanowiło 106 zdrowych kobiet, wieloródek. Oceniono cztery polimorfizmy pojedynczego nukleotydu: mutacje G1691A (Leiden) i T1328C genu V czynnika krzepnięcia oraz mutacje G20210A i A19911G genu II czynnika krzepnięcia.

**Wyniki:** W grupie badanej pacjentek stwierdzono 5,9% nosicielek mutacji typu Leiden oraz 22,1% nosicielek mutacji T1328C genu V czynnika krzepnięcia. Częstość występowania mutacji T1328C genu F5 oraz mutacji Leiden nie różniła się statystycznie pomiędzy badanymi grupami ( $p > 0,05$ ). Mutacja F2 G20210A nie występowała u 98,5% pacjentek, 1,5% pacjentek było heterozygotami GA. Mutacji F2 A19911G nie stwierdzono u 27,9% grupy badanej, z kolei 50,7% pacjentek było heterozygotami, a 21,3% zmutowanymi homozygotami. Częstość występowania mutacji G20210A oraz A19911G genu czynnika II krzepnięcia nie różniła się statystycznie pomiędzy badanymi grupami ( $p > 0,05$ ). Częstości występowania poszczególnych polimorfizmów są zgodne z innymi badaniami wśród rasy kaukaskiej.

**Wnioski:** Wśród badanej populacji nie zaobserwowano statystycznie istotnych zależności pomiędzy częstością występowania badanych polimorfizmów oraz nawracającymi utratami ciąży.

AGNIESZKA BARAN

## CZYNNIKI PSYCHOLOGICZNE I SPOŁECZNE ZWIĄZANE Z PROCESEM ADAPTACJI DO ŻYCIA PO TRANSPLANTACJI SERCA

Zakład Psychologii Lekarskiej, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Przystosowanie się do życia z przeszczepionym narządem jest procesem wielowymiarowym, zachodzącym na płaszczyźnie fizycznego, psychicznego i społecznego funkcjonowania biorcy. W przypadku osób po transplantacji serca wiąże się nie tylko z przejmowaniem funkcji życiowych przez nowe serce i stabilizowaniem się działania układu krążenia, ale obejmuje także proces budowania nowej tożsamości biorcy, wypracowywania przez niego celów i planów życiowych oraz podejmowania związanych z nimi aktywności osiągania i utrzymywania równowagi emocjonalnej czy też budowania pozytywnych relacji społecznych. Przebieg procesu odzyskiwania równowagi zakłóconej przez chorobę i optymalizacji funkcjonowania jednostki wobec wymagań, jakie wiążą się z transplantacją, zależy od czynników odnoszących się do stanu zdrowia somatycznego, funkcjonowania psychicznego i warunków życia biorcy serca.

W swojej prezentacji pragnę przedstawić wybrane, najistotniejsze czynniki psychospołeczne mające związek z adaptacją do życia po transplantacji serca, w szczególności koncentrując się na zasobach wspierających ten proces. Dokonując przeglądu literatury z tego zakresu, odniosę się do wyników badań wskazujących na rolę takich czynników, jak optymizm, poczucie koherencji, strategie radzenia sobie czy też wsparcie społeczne. Przedstawię również wyniki badań własnych, prowadzonych wśród biorców serca hospitalizowanych w Szpitalu Specjalistycznym im. Jana Pawła II w Krakowie. Ukażę znaczenie cech osobowości oraz prężności (*resilience*) w procesie pomyślnego przystosowywania się do życia po transplantacji serca.

Wiedza o tym, co decyduje, że jedni radzą sobie z trudnościami związanymi z przeszczepem serca, a inni nie, może pomóc w projektowaniu skutecznych oddziaływań wspierających i terapeutycznych, dając szansę na dłuższe przeżycie po operacji i uzyskanie poczucia zadowolenia z życia u biorców serca.

KATARZYNA BASISTA-SOLTYS, BARBARA FILIPEK

## ALERGIA NA PYŁEK PSZCZELI WŚRÓD PSZCZELARZY I ICH RODZIN

Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Alergia na pyłek pszczeni jest rzadkim zjawiskiem i jest często mylona z alergią pyłkową. Możliwość wywołania alergii przez pyłek pszczeni u pacjentów z alergią pyłkową jest kontrowersyjna.

**Cel:** Celem badania było określenie odsetka pszczelarzy uczulonych na pyłek pszczeni oraz odsetka uczulonych wśród członków rodzin, a także określenie zależności między uczuleniami na pyłek pszczeni a uczuleniami na inne produkty pszczeni oraz określenie czynników współistniejących.

**Materiał i metody:** Kwestionariusz „Alergia na produkty pszczeni wśród pszczelarzy” wysłano za pośrednictwem Związku Pszczelarskiego, a w szczególności Wojewódzkiego Związku Pszczelarzy w Krakowie. Badanie przeprowadzono na osobach dorosłych obojga płci po wyrażeniu zgody na wzięcie udziału w badaniu. Do obliczeń statystycznych użyto programu Statistica.

**Wyniki:** Zaledwie u 2 pszczelarzy (0,41%) z 493 ankietowanych wystąpiły działania niepożądane o niewielkim nasileniu po spożyciu pyłku pszczeni. U 43 ankietowanych wystąpiło uczulenie na inne alergeny. Z tej grupy nikt nie był uczulony na pyłek pszczeni. Dodatkowo pszczelarze donoszą o 22 przypadkach nietolerancji pyłku pszczeni wśród swoich klientów i członków rodzin (0,56% przypadków).

**Wnioski:** Badanie dostarcza nowych aspektów dotyczących alergii na pyłek pszczeni. Teza, że alergia na pyłek pszczeni jest bardziej związana z obecnością białek ze śliny pszczeni w niż obecnością wiatropylnych pyłków roślin, powinna być przedmiotem dalszych badań w przyszłości.

EWELINA BATOR, JOACHIM LATUSZ, PATRYCJA MORDALSKA,  
KRZYSZTOF WĘDZONY, MARZENA MAĆKOWIAK

## WPŁYW KWASU WALPROINOWEGO NA ZMIANY W POZIOMIE BIAŁKA H3K4ME3 W KORZE PRZEDCZOŁOWEJ DOROSŁYCH ZWIERZĄT TRAKTOWANYCH PRENATALNIE MAM

Pracownia Farmakologii i Biostruktury Mózgu, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk

Współczesne koncepcje definiują schizofrenię jako chorobę neuro-rozwojową, której przyczyny mają zarówno podłoże genetyczne, jak i środowiskowe. Rezultaty najnowszych badań wskazują, że mechanizmy epigenetyczne mogą mieć istotne znaczenie w etiologii tej choroby. Nasze dotychczasowe badania wykazały zmiany w poziomie trimetylacji histonu H3 (H3K4me3) w korze przedczołowej u zwierząt dorosłych w neuro-rozwojowym modelu schizofrenii opartym na jednorazowym prenatalnym podaniu metylazoksymetanolu (MAM) samicom szczura w 17. dniu ciąży. W dalszych badaniach sprawdzano, czy kwas walproinowy (VPA), inhibitor deacetylazy histonu, podany w okresie dojrzewania może wpływać na wywołane MAM zmiany w poziomie H3K4me3 u zwierząt dorosłych, jak również na poziom specyficznej dla H3K3me3 metyltransferazy (ASH2L) oraz demetylazy (JARID1c). VPA podawano w dawce 250mg/kg s.c. dwa razy dziennie od 23–29. dnia życia (wczesna adolescencja) lub od 53–59. dnia życia (późna adolescencja), a badania prowadzone były w 60. i 70. dniu życia. Poziom H3K4me3 oraz ASH2L i JARID1c mierzono we frakcji jądrowej z użyciem metody Western blot. Podanie VPA we wczesnej adolescencji hamuje spadki H3K4me3 wywołane MAM zarówno w 60., jak i 70. dniu. Obserwowany efekt wydaje się zależny od poziomu białka ASH2L. Natomiast podanie VPA w późnej adolescencji nie wpływa na obniżony poziom H3K4me3 u zwierząt 60-dniowych, ale blokuje spadek wywołany podaniem MAM u zwierząt 70-dniowych. Obserwowany efekt może być związany ze zmianami poziomu białka JARID1c. Uzyskane wyniki wskazują na to, że podanie VPA w okresie dojrzewania może zapobiegać zmianom w ekspresji genów w dorosłości, wpływając na poziom metylacji H3K4me3.



KONRAD BENEDYK, TOMASZ GUZIK

## ZNACZENIE INFEKCJI PORPHYROMONAS GINGIVALIS W ROZWOJU NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO W MODELU ZWIERZĘCYM

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

Odsetek chorych na nadciśnienie tętnicze zwiększa się wraz z wiekiem populacji, a etiologia 90% zachorowań pozostaje nieznana. Badania powiązały występowanie nadciśnienia z aktywacją limfocytów T, które mogą być poszukiwanym łącznikiem pomiędzy OUN a nerkami w jego patogenezie. Podjęto próbę wyjaśnienia tego zjawiska w modelu zwierzęcym przy użyciu zakażenia powszechnym patogenem, jakim jest *Porphyromonas gingivalis*.

Metody: Dwa modele nadciśnienia (wywołanego wlewem angiotensyny II oraz zaburzeniem gospodarki mineralnej) postanowiono skorelować z podskórnym oraz okołozębowym modelem zakażenia *P. gingivalis* i sprawdzić, czy zwiększona aktywacja limfocytów T ma wpływ na wartości indukowanego nadciśnienia krwi.

Wyniki: Jakkolwiek uzyskano pełny sukces w opracowaniu obu modeli nadciśnienia u myszy ( $149 \pm 3,4\%$  v.  $118 \pm 5,1\%$  mmHg;  $p < 0,05$ ; wartości mierzone metodą *tail-cuff*), to dotychczas nie udało się opracować skutecznego modelu zakażenia *P. gingivalis*. Stosowane dawki do  $1 \times 10^8$  CFU/zwierzę zarówno w modelu okołozębowym, jak i zakażeniu podskórnym nie dawały w analizie cytometrycznej statystycznie istotnej odpowiedzi na uogólnioną aktywację układu immunologicznego w porównaniu do kontroli ani też nie wykazały widocznej korelacji w zależności od dawki patogenu (testowano markery CD69+, CD25+, CD45+, CD44+ oraz CCR5+ komórek T izolowanych z krwi obwodowej, śledziony, węzłów chłonnych oraz nerki). Dawki  $1 \times 10^9$  CFU/zwierzę i wyższe w obu modelach zakażenia okazywały się letalne.

Wnioski: Zebrane dotychczas dane sugerują, że: (1) infekcja może mieć charakter lokalny, z ilościowymi zmianami komórkowymi (dotyczącymi limfocytów) ograniczonymi jedynie do najbliższych miejscu podania patogenów węzłów chłonnych; (2) patogeny mogą dawać uogólnioną odpowiedź zapalną, jednakże ze względu na właściwości *P. gingivalis* odpowiedź ta może mieć jedynie charakter humoralny o niejednoznacznym i bardzo słabo zaznaczonym obrazie komórkowym.

ANNA BENTKE, PIOTR LAIDLER

## INDUKCJA APOPTOZY W KOMÓRKACH CZERNIAKA POD WPLYWEM INHIBITORÓW WEWNĘTRZNYCH SZLAKÓW PRZEKAZYWANIA SYGNAŁU

Katedra Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Ze względu na liczne mechanizmy chroniące komórki nowotworowe przed apoptozą szereg obecnych terapii antynowotworowych opiera się na indukcji tego procesu. Spośród licznych strategii walki z czerniakiem w prezentowanych badaniach wybrano jedną z głównych – blokowanie wielu szlaków przewodzenia sygnałów. W celu zwiększenia efektywności upośledzenia funkcji białek przeciwciał szlaków sygnalizacyjnych wprowadzono hamowanie aktywności szpieroniny Hsp90.

Celem badań było przetestowanie zdolności kombinacji inhibitorów wybranych szlaków sygnalizacyjnych: cytochalazyny D, olomucyny, LY294002, R115777 oraz inhibitora białka szoku cieplnego: 17AAG do stymulowania apoptozy w komórkach czerniaka ludzkiego.

Badania prowadzono na komórkach pięciu linii nowotworowych czerniaka. Liczebność i żywotność komórek określano metodą barwienia fioletem krystalicznym i Trypanem Blue. Proces apoptozy monitorowano przez pomiar aktywności kaspazy-3 z wykorzystaniem fluorogennego substratu i potwierdzono, stosując test TUNEL. Czynniki testowano indywidualnie bądź w kombinacjach. Jako kontrolę negatywną zastosowano DMSO, kontrolą pozytywną była staurosporyna, która stosowana jest jako ogólny induktor procesu apoptozy w komórkach eukariotycznych.

Szczególnie silny efekt proapoptotyczny zaobserwowano w przypadku zastosowanej potrójnej kombinacji inhibitorów: olomoucyna + cytochalazynaD + LY294002 dla wszystkich testowanych linii komórkowych. Kombinacja indukowała aktywność kaspazy-3 na poziomie porównywalnym do staurosporyny. Ponadto, w przypadku linii fazy wertykalnej i metastatycznej zanotowano wyraźny efekt antynowotworowy kombinacji inhibitorów 17AAG + R115777, objawiający się nasileniem śmierci komórek na drodze apoptozy oraz ograniczeniem proliferacji komórek, podczas gdy dla inhibitorów stosowanych samodzielnie, wyraźny efekt uzyskano jedynie w aspekcie spowolnienia proliferacji komórek.

Przeprowadzone badania wskazują na synergistyczne, proapoptotyczne działanie kombinacji: olomoucyna + cytochalazynaD + LY294002 w komórkach czerniaka oraz kombinacji 17AAG + R115777 w przypadku komórek pochodzących z późniejszych faz jego rozwoju.

JOANNA MARTA BIEGAŃSKA

## POOPERACYJNE ZABURZENIA POZNAWCZE WŚRÓD PACJENTÓW OGÓLNOCHIRURGICZNYCH – SYSTEMATYCZNY PRZEGLĄD LITERATURY

Zakład Psychologii Lekarskiej, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Pooperacyjne zaburzenia poznawcze obejmują subiektywne skargi pacjenta na jakość jego poznawczego funkcjonowania po operacji, jak również obiektywne osłabienie funkcji poznawczych, stwierdzone w badaniu neuropsychologicznym. Badania wskazują, że prawdopodobieństwo ich pojawienia się w ciągu pierwszego tygodnia po operacji wynosi ok. 25%. Zdecydowana większość badań dedykowanych tej problematyce obejmuje pacjentów kardiochirurgicznych jako podstawową grupę badawczą. Co więcej, wciąż nie osiągnięto zgodności w zakresie interpretacji zjawiska. Brak jednoznacznych rezultatów upatrywać można w niejednolitej metodologii przeprowadzanych badań – choćby na poziomie wybieranych przez badaczy metod (tymczasem np. badanie Radtke i wsp. 2010 pokazało sporą rozbieżność pomiędzy wynikami osiąganymi na drodze standardowych testów neuropsychologicznych typu papier-ołówek a ich odpowiednikami komputerowymi). Różnice uwidaczniają się także w zakresie odstępu czasowego, po jakim ponownie sprawdzane są funkcje poznawcze, sposobu statystycznej analizy danych, a co najważniejsze, w ocenie autorki, w samym sposobie definiowania składowych zaburzeń określanymi mianem pooperacyjnych. Wobec tak zróżnicowanej metodologii, a tym samym osiąganymi rezultatów, trudna wydaje się diagnoza pacjentów, co skutkować może ignorancją objawów, uniemożliwiając dalszą neurorehabilitację w kluczowym, bliskim operacji okresie. Niniejszy poster prezentuje sporządzoną przez autorkę analizę dotychczas opublikowanych badań poświęconych zagadnieniu, ukierunkowaną na ujednoczenie osiąganymi rezultatów, w szczególności w zakresie metod i grup badawczych oraz odroczeń czasowych pomiędzy kolejnymi etapami pomiaru dysfunkcji.

EWA BŁASZCZYK

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

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

Napoje energetyzujące należą do segmentu napojów, które odnotowują najszybszy wzrost na rynku napojów bezalkoholowych w ostatnich latach. Połowa tego rynku znajduje swoich odbiorców wśród dzieci i młodzieży, jednakże do tej pory nie określono jeszcze dla tej grupy wiekowej bezpiecznego poziomu ich spożycia.

Celem prezentowanego projektu pracy doktorskiej jest zbadanie zachowań żywieniowych młodzieży związanych z konsumpcją napojów energetyzujących i ich wpływu na ryzyko rozwoju nadwagi i otyłości wśród młodzieży ponadgimnazjalnej.

Jak wynika z przeglądu literatury, istnieją sprzeczne dane dotyczące wpływu napojów energetyzujących na masę ciała. Niektóre wskazują, że połączenie napojów energetyzujących z ćwiczeniami może zwiększyć redukcję zawartości tłuszczu w organizmie, inne zaś, iż podobnie jak pozostałe napoje słodzone mogą one przyczynić się do zwiększenia masy ciała. Długoterminowe spożywanie napojów energetyzujących w połączeniu z dietą oraz w szczególności siedzący tryb życia wpływają na metabolizm i otluszczenie ciała, wymaga to jednak dalszych badań. W badaniu na modelu zwierzęcym dodatek do diety napoju energetyzującego istotnie modyfikował tempo i kierunek przemian metabolicznych, co przejawiało się m.in. zmniejszonymi przyrostami masy ciała badanych zwierząt.

Planowane badania obejmą uczniów szkół ponadgimnazjalnych obu płci w wieku 16–20 lat pochodzących ze środowisk wiejskich i miejskich. Wszystkie osoby włączone do badania zostaną poddane badaniom kwestionariuszowym oraz pomiarom antropometrycznym.

W literaturze pojawia się coraz więcej danych na temat niekorzystnych skutków spożywania napojów energetyzujących, jednak brakuje wystarczających danych

naukowych dotyczących wpływu długotrwałej lub nadmiernej ich suplementacji. W świetle stale rosnącej konsumpcji są one jednym z tematów, który wymaga lepszego poznania w celu opracowania m.in. norm i zaleceń konsumpcji tego typu napojów.

PRZEMYSŁAW BOROWY, ANNA KUMOREK

## WERYFIKACJE RYZYKA ZŁAMANIA OCENIONEGO METODĄ FRAX U PACJENTÓW Z REJONU MAŁOPOLSKI W OBSERWACJI 11-LETNIEJ

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

FRAX jest algorytmem zaakceptowanym przez WHO do oceny ryzyka złamania osteoporotycznego u kobiet po 40. roku życia. Od 2011 roku dostępna jest polska wersja kalkulatora FRAX oparta na danych epidemiologicznych z dwóch województw: małopolskiego i mazowieckiego.

Celem pracy była ocena wartości predykcyjnej metody FRAX w populacji kobiet z regionu Krakowa na podstawie obserwacji 11-letnich. Przeprowadzono retrospektywne badanie kohortowe, oceniające występowanie złamań osteoporotycznych w obserwacji 11-letniej. Z grupy ok. 100 000 pacjentów Krakowskiego Centrum Medycznego wylosowano 5092 kobiety w wieku powyżej 50. roku życia, które zgłosiły się w latach 1997–2001. Po średnio 11 latach w wybranej grupie przeprowadzono telefoniczne badanie ankietowe wg kwestionariusza analogicznego do tego z pierwszego badania. Ostatecznie do badania zrandomizowano 1024 kobiety. Obliczono dla każdej osoby 10-letnie ryzyko złamania, stosując metodę FRAX na podstawie BMI, a u 886 pacjentek również na podstawie BMD dla szyjki kości udowej. Walidacji polskiej wersji kalkulatora FRAX dokonano poprzez porównanie prognozowanego ryzyka złamania z faktycznym wystąpieniem złamania w okresie 11-letniej obserwacji.

Wyniki: Obliczone metodą FRAX 10-letnie ryzyko głównego (major) złamania osteoporotycznego w całej grupie na podstawie BMI wynosiło 5,3% (mediana) (I/III kwartył: 3,5–8,5%) i dla bkk udowej 1,3% (0,7–2,4%). U 886 kobiet, w przypadku których dysponowano danymi BMD Tscore szyjki k. udowej, średni FRAX BMD major obliczono na 4,9% (3,3–7,9%), a dla FRAX hip 0,9% (0,3–2,3%). Rzeczywiste bezwzględne ryzyko złamania określone na podstawie znajomości liczby osób, u których wystąpiło złamanie w okresie obserwacji, było niespodziewanie wielokrotnie wyższe od przewidywanego. Dla głównych złamań (major) w badanej grupie stwierdzono ryzyko 17,7%, dla bliższego końca kości udowej było ono równe 3%.

MATEUSZ BRÓZDA, MARCIN WALIGÓRA

## OKREŚLENIE CZYNNIKÓW WARUNKUJĄCYCH PRAWIDŁOWĄ REAKCJĘ PACJENTA NA OBJAWY ZAWAŁU SERCA LUB UDARU MÓZGU W POPULACJI DOROSŁYCH MIESZKAŃCÓW MAŁOPOLSKI

Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II, Klinika Chorób Serca i Naczyń, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Prawidłowa reakcja pacjenta na objawy alarmujące jest warunkiem koniecznym do natychmiastowego wezwania służb ratowniczych, a co za tym idzie wczesnego rozpoczęcia właściwego leczenia.

**Cele:** Celem pracy była ocena czynników warunkujących prawidłową reakcję pacjenta na objawy zawału serca lub udaru mózgu.

**Materiały i metody:** Przeprowadzono badanie ankietowe wśród 5000 losowo wybranych dorosłych mieszkańców województwa małopolskiego. Ankiety wypełniły 1203 osoby, 484 mężczyzn (41%) i 698 kobiet (59%), 21 osób nie podało płci, w wieku  $48 \pm 17$  (18–79).

**Wyniki:** Najczęściej poprawnie rozpoznany objawem zawału był ból w klatce piersiowej (91%). Do pozostałych objawów należały: duszność (67%); uczucie osłabienia, zawroty głowy lub omdlenie (40,1%); ból lub uczucie dyskomfortu w barku (29,7%); ból lub uczucie dyskomfortu w żuchwie (23,5%). W przypadku udaru najczęściej wskazany był nagły brak rozumienia mowy lub brak możliwości wypowiedzania się (73,7%). Innymi objawami były: nagłe pojawienie się bełkotliwej mowy (71,4%); nagłe zaburzenia równowagi i chodu (64,8%); nagłe osłabienie kończyn po jednej stronie ciała (60,3%); nagłe zaburzenia czucia po jednej stronie ciała (58,4%); nagłe opadnięcie kącika ust (49,1%) i nagłe upośledzenie pola widzenia (42,6%). Osoby po przebytych udarach wskazywały poprawnie większą liczbę objawów udaru niż osoby, które nie przeżyły udaru (5,35 v. 4,37;  $p=0,034$ ).

**Wnioski:** Stan wiedzy mieszkańców małopolski na temat objawów zawału serca i udaru mózgu jest jednym z istotnych czynników mogących wpływać na opóźnienie momentu wezwania karetki pogotowia ratunkowego, a co za tym idzie wdrożenia wczesnego leczenia.



VITTORIO CANALE, NICOLAS MASURIER, BARTŁOMIEJ KUBICA,  
JEAN MARTINEZ, GILLES SUBRA, MACIEJ PAWŁOWSKI, PAWEŁ ZAJDEL

## LINKER PIPEKOŁOWY – KWASO-LABILNE NARZĘDZIE DLA DERYWATYZACJI AMIN DRUGORZĘDOWYCH NA PODŁOŻU STAŁYM

Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Aminokwasów Peptydów i Białek, Instytut Biocząsteczek im. Maksza Mousserona, Uniwersytet Montpellier

Linker pipekolowy (Pip-linker) został opracowany jako alternatywa dla dostępnych komercyjnie kwaso-labilnych narzędzi stosowanych w syntezie na fazie stałej związków o strukturze peptydowej, pseudopeptydowej i małowcząsteczkowych związków organicznych. Stanowi on uniwersalne narzędzie, pozwalające na odwrotną syntezę peptydów od-N-do-C końca, syntezę cyklicznych peptydów i pseudopeptydów, jak również modyfikowanych peptydów o charakterze alkoholi i moczników.

W niniejszej pracy przedstawiono nowe aplikacje dla linkera pipekolowego, umożliwiające derywatyzację amin drugorzędowych jako potencjalnych ligandów receptorów monoaminergicznych. W tym celu różnie podstawione pochodne indolu i arylopiperazyny zostały wybrane jako rdzenie strukturalne do syntezy serii N1-arylsulfonylo-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1H-indoli (seria I), 5-arylosulfonylamino-(1,2,3,6-tetrahydropirydyn-4-ylo)-1H-indoli (seria II) i 1-(3-arylosulfonylofenylo)piperazyn (seria III).

Zoptymalizowana procedura syntezy serii I i II polega na zakotwiczeniu cyklicznych amin drugorzędowych (piperydyn-4-onu lub piperazyny) do żywicy z linkerem pipekolowym i kondensacji powstałych produktów z odpowiednimi pochodnymi indolu lub na N-arylacji fragmentu piperazynowego w warunkach wspomaganych promieniowaniem mikrofalowym<sup>2</sup>. W ostatnim etapie produkty przejściowe poddano sulfonylacji w środowisku silnej zasady BTTP.

Kluczowym etapem w syntezie serii III była redukcja nitroarenów w obecności ditionianu sodu jako czynnika redukującego, którą przeprowadzono w układzie dwufazowym węglanu potasu i mieszaniny THF/H<sub>2</sub>O.

Przedstawiona metodologia syntezy na fazie stałej rozszerza platformę wysoko wydajnych metod syntezy na nośnikach polimerowych umożliwiających projek-

towanie i syntezę nowych ligandów monoaminergicznych o potencjalnym zastosowaniu w terapii psychicznych schorzeń OUN – depresji, schizofrenii czy zaburzeń neurodegeneracyjnych.

Literatura :

1. Zajdel P. et al., „Chem. Eur. J.” 2010, 16, 7547–7553.
2. Zajdel P. et al., „Tetrahedron Lett.” 2013, 54, 998–1002.

MONIKA CEMPA

## EPIDEMIOLOGIA I PREWENCJA BORELIOZY Z LYME WYWOŁANEJ PRZEZ KRĘTKI BORRELIA SP. PRZENOSZONE PRZEZ KLESZCZE NA TERENIE OJCOWSKIEGO PARKU NARODOWEGO

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Kleszcze są zaliczane do grupy najgroźniejszych pasożytów o olbrzymim znaczeniu epidemiologicznym, jednak pomimo to wciąż pozostają niedostatecznie poznane pod względem systematyczno-faunistycznym, ogólnobiologicznym, ekologicznym oraz parazytologicznym. Kleszcze mają niebagatelne znaczenie medyczne, weterynaryjne oraz gospodarcze wynikające z bezpośrednich następstw ich pasożytowania, jak również ich roli jako rezerwuarów i przenosicieli licznych wirusów, riketsji, pierwotniaków i robaków chorobotwórczych dla człowieka i zwierząt hodowlanych. Każdego roku patogeny przenoszone przez kleszcze wywołują ponad 100 tysięcy zachorowań wśród ludzi na całym świecie. Około 100 spośród wszystkich znanych gatunków odpowiada za zachorowania na boreliozę.

**Celem pracy badawczej** jest określenie związku pomiędzy świadomością mieszkańców i pracowników OPN w kwestii zagrożenia boreliozą a rzeczywistym prawdopodobieństwem zakażenia na terenie OPN w wyniku ukąszenia kleszczy przenoszących krętki *Borrelia*.

**Materiał i metody:** Kleszcze zostaną zebrane wzdłuż szlaków turystycznych oraz w miejscach najczęściej uczęszczanych przez ludzi w czasie jesiennego oraz wiosennego szczytu aktywności (wrzesień–październik 2012 oraz kwiecień–maj 2013). Badania ankietowe zostały rozpoczęte w maju 2011 roku, ich zakończenie jest przewidywane na czerwiec 2013 roku.

**Wyniki i wnioski:** Obecny stan badań sprowadza się do przeprowadzanego sondażu diagnostycznego, na który zostało wydane pozwolenie Komisji Bioetycznej UJ. Na chwilę obecną w ankiecie wzięło udział 89 osób. Zebranych zostało 65 kleszczy, próbki pobierane były w Dolinie Sąspowskiej i Dolinie Zachwytu oraz oznaczane. Zbiórka odbyła się pod koniec września i w październiku 2012 roku. Aktualnie trwa liczenie, opisywanie kleszczy i poddawanie ich badaniu odczynnikowemu.

BARBARA CHRUSCICKA, GRZEGORZ BURNAT, PAULINA CHOROBİK,  
PIOTR BRAŃSKI, ANDRZEJ PILC

## EKSPRESJA RECEPTORÓW METABOTROPOWYCH DLA GLUTAMINIANU W KOMÓRKACH HEK293 JAKO NARZĘDZIE DO IDENTYFIKACJI NOWYCH LIGANDÓW TYCH RECEPTORÓW

Zakład Neurobiologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk; Zakład Chemii Organicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

**Wprowadzenie:** Receptory metabotropowe dla glutaminianu (mGluRs) pełnią istotną funkcję neuromodulacyjną na obszarze całego mózgu. Interwencja w neurotransmisję glutaminianergiczną poprzez mGluRs jest badana pod kątem leczenia wielu schorzeń psychicznych i neurodegeneracyjnych, jak depresja, lęk, schizofrenia, epilepsja, choroba Parkinsona. Linie komórkowe z ekspresją mGluRs służą do funkcjonalnej charakterystyki receptorów i jednocześnie stanowią narzędzie do identyfikacji oraz badania efektów działania nowych ligandów (agoniści, antagoniści, allosteryczne modulatory) jako potencjalnych leków.

**Cel:** Otrzymanie linii komórkowych ze stabilną ekspresją receptorów metabotropowych dla glutaminianu oraz ich weryfikacja pod względem ekspresji poszczególnych receptorów (na poziomie RNA i białka) i ich funkcjonalności (oznaczanie poziomu wtórnych przekazników).

**Metody:** Sekwencje ludzkich receptorów mGlu 2, 3, 4, 7 i 8 zostały wklonowane do wektora pcDNA5/FRT/TO pod kontrolę promotora regulowanego tetracykliną (Invitrogen). Otrzymane plazmidy wprowadzono do komórek HEK293 T-REx z wykorzystaniem odczynnika do transfekcji GeneJuce (Novagen). Następnie komórki poddano selekcji antybiotykowej w medium zawierającym hygromycynę. Otrzymane linie komórkowe zweryfikowano pod kątem ekspresji receptorów na poziomie mRNA, wykorzystując metodę RT-PCR, oraz na poziomie białka za pomocą metody Western Blot. Funkcjonalność receptorów sprawdzano poprzez indukowaną forskoliną akumulację cAMP w liniach komórkowych (Cisbio).

**Wyniki i konkluzje:** Uzyskano linie komórkowe ze stabilną, indukowalną za pomocą tetracykliny ekspresją receptorów metabotropowych grupy II i III dla glutaminianu.

Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013 oraz w ramach projektu „ModAll” UDA-POIG.01.03.010-12-100/08-00 współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

MARTYNA CHWAŁ

## PERSONEL MEDYCZNY WOBEC ZAGADNIENÍ DONACJI I PRZESZCZEPU

Zakład Terapii Rodzin, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zasadniczym celem prezentacji będzie przedstawienie wstępnych wniosków z wywiadów z personelem medycznym prowadzonych w ramach badań do pracy doktorskiej zatytułowanej *Przeżywanie utraty pacjenta i przekonania na temat transplantacji a poczucie włączenia się w proces ratowania życia*. Będzie to raport z dotychczasowych postępów w pracy, opis sukcesów i trudności w badaniach. Ważnym elementem wystąpienia będzie dokonanie przeglądu najważniejszych prac w literaturze zagranicznej oraz krajowej dotyczącej personelu medycznego w relacji z pacjentem i jego rodziną w sytuacji zagrożenia życia pacjenta w kontekście zagadnień przeszczepu i donacji. Istotnym zagadnieniem, wokół którego będzie zbudowana prezentacja, jest brzemień personelu medycznego, trud pracy na oddziałach o potencjale donacyjnym. Omówione zostaną regulacje prawne dotyczące transplantacji w Polsce, a także najnowsze statystyki, za danymi Poltransplantu, dotyczące liczby osób oczekujących na przeszczep, ilości transplantacji w poszczególnych województwach, a także pokazujące liczbę przeszczepów od żywych i zmarłych dawców. Poruszone zostaną wątki kulturowe mające związek z sytuacją polskiej transplantologii. W sposób syntetyczny zostanie przedstawiona metodologia teorii ugruntowanej, która jest wykorzystywana do analizy wywiadów. Poruszony zostanie obecny stan badań, ich możliwości wykorzystania i dalszy rozwój, a także ich ograniczenia.

KATARZYNA CYRANKA

## PSYCHOTERAPIA A ZABURZENIA OSOBOWOŚCI, CZYLI CZY I JAK PSYCHOTERAPIA MOŻE WPŁYWAĆ NA OSOBOWOŚĆ

Katedra Psychoterapii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Doniesienia z badań zagranicznych wskazują, iż zastosowanie psychoterapii krótkoterminowej (poniżej 20h) u pacjentów z zaburzeniami nerwicowymi i zaburzeniami osobowości, mimo iż niejednokrotnie przyczynia się ona do poprawy objawowej oraz polepszenia samopoczucia pacjenta, rzadko przekłada się na głębokie, trwałe zmiany w zakresie osobowości i wyciszenie patomechanizmów leżących u podstaw zaburzenia.

Jednocześnie liczne doświadczenia kliniczne wskazują, iż długoterminowa indywidualna terapia psychodynamiczna lub psychoanalityczna oraz intensywna psychoterapia grupowa (powyżej 100 godzin) są skutecznym sposobem leczenia zaburzeń nerwicowych i osobowościowych, dającym zarówno subiektywnie odczuwane poczucie wyleczenia u pacjentów, potwierdzone oceną terapeuty, jak i przekładające się na trwałe, głębokie zmiany w zakresie osobowości, przejawiające się widoczną poprawą funkcjonowania i przeżywania pacjenta w różnych obszarach jego życia.

Prezentacja ma na celu metaanalizę dotychczasowych badań nad zmianami w zakresie osobowości zachodzącymi w wyniku psychoterapii oraz przedstawienie narzędzia do badania osobowości MMPI2 – będącego złotym standardem w diagnostyce osobowości na świecie, dostępnego w Polsce dopiero od listopada 2012 roku – w kontekście realizowanego przez doktorantkę przewodu doktorskiego.

Przedstawione zostaną cele badawcze, hipotezy, grupa badana oraz metodologia rozpoczętych przez doktorantkę badań z odniesieniem do literatury w tym zakresie.

Badanie jest planowane jako prospektywne. Pacjenci zostają przebadani dwukrotnie: na początku i na końcu kompleksowej psychoterapii w Oddziale Dziennym Leczenia Nerwic i Zaburzeń Behawioralnych. Psychoterapia trwa standardowo 12 tygodni. Planowane jest przebadanie 240 osób powyżej 18. roku życia, obu płci.

Zastosowana pomiędzy pierwszym i drugim badaniem procedura lecznicza – kompleksowa psychoterapia – stanowi standardowe działanie lecznicze w odniesieniu do pacjentów z zaburzeniami nerwicowymi i zaburzeniami osobowości leczonych w Zakładzie Psychoterapii SU.



KAROLINA DEJKO

ZABURZENIA PSYCHOTYCZNE Z KRĘGU SCHIZOFRENII  
Z PERSPEKTYWY TEORII MENTALIZACJI –  
OPIS MECHANIZMÓW PSYCHOLOGICZNYCH LEŻĄCYCH  
U PODŁOŻA ZABURZENIA, IMPLIKACJE TERAPEUTYCZNE

Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

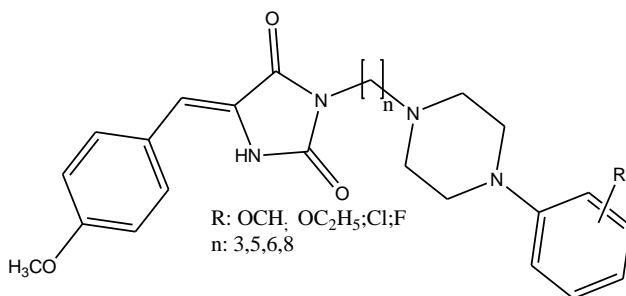
Praca podejmuje problematykę udziału czynników psychospołecznych w powstawaniu zaburzeń psychotycznych z kręgu schizofrenii, natury mechanizmów psychologicznych leżących u podstaw funkcjonowania osoby chorej oraz implikacji terapeutycznych w leczeniu tego rodzaju zaburzeń. Opis dokonywany jest z perspektywy teorii mentalizacji sformułowanej przez zespół Petera Fonagy. Teoria mentalizacji powstała na podstawie dorobku naukowego teorii przywiązania oraz teorii psychoanalitycznej, pierwotnie stosowana była w rozumieniu rozwojowych przyczyn i natury zaburzenia osobowości z pogranicza (ang. Borderline Personality Disorder). Teoria ta wskazuje na znaczenie bliskich relacji interpersonalnych, stanowiących kontekst rozwoju zdolności do mentalizacji, czyli rozumienia zachowań własnych i innych osób przez odniesienie się do sfery psychicznej (uczuć, myśli, intencji). Opisywana zdolność stanowi podstawę efektywnej regulacji emocjonalnej oraz stabilnej struktury osobowości. W niniejszej pracy proponuje się zastosowanie teorii mentalizacji do opisu mechanizmów leżących u podłoża zaburzeń psychotycznych, takich jak trudności z myśleniem i komunikacją na poziomie symbolicznym, doświadczanie braku lub znacznego zniekształcenia granic między sferą psychiczną a światem zewnętrznym, słabsze funkcjonowanie Teorii Umysłu (ang. Theory of Mind), problemy z regulacją afektu. W pracy uwzględnione zostały implikacje terapeutyczne sformułowane na podstawie teorii mentalizacji. Podkreślone jest znaczenie poczucia bezpieczeństwa w relacji terapeutycznej, postawa zaciekawienia terapeuty stanami psychicznymi pacjenta, gotowość terapeuty do eksplorowania i nazywania doświadczanych przez pacjenta stanów umysłowych oraz umożliwienia wspólnej eksploracji swoich własnych uczuć i myśli. Z przyjętej perspektywy przypuszcza się, że zmiana terapeutyczna związana jest przede wszystkim z rozwojem zdolności do reflektowania własnych stanów psychicznych i stanów psychicznych innych osób. Przedstawiony opis zobrazowany jest przykładami z praktyki klinicznej.

ANNA DELA, MAŁGORZATA DYBAŁA, AGATA SIWEK, JADWIGA HANDZLIK,  
KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

## FENYLOPIPERAZYNOWE POCHODNE 4-METOKSYBENZYLIDENO HYDANTOINY I ICH AKTYWNOŚĆ WOBEC RECEPTORÓW ALFA<sub>1</sub>-ADRENERGICZNYCH

Katedra Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych, Katedra Farmakobiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Na przełomie ostatnich lat receptory alfa<sub>1</sub>-adrenergiczne (α<sub>1</sub>-AR) stały się przedmiotem intensywnych badań ze względu na ich potencjalną rolę w procesie powstawania arytmii<sup>1</sup>. Omawiane receptory należą do siedmiohelikalnych, transmembranowych receptorów sprzężonych z białkiem G. Badania nad receptorami α<sub>1</sub>-AR pokazały, iż szereg związków zawierających fragment fenylpiperazy-  
nowy wykazuje bardzo dobre powinowactwo do tych receptorów.



Pierwsze badania nad tymi pochodnymi zaowocowały otrzymaniem pochodnych fenylpiperazy-  
ny i difenylhydantoiny<sup>2</sup>. Połączenia wykazywały powinowactwo do receptorów alfa<sub>1</sub>-adrenergicznych zawierające się w mikromole-  
wowej przedziale stężeń.

W obecnych badaniach zostały zaprojektowane nowe struktury, będące fenylpiperazy-  
nowymi pochodnymi 5-arylideno-  
hydantoin. Struktura wiodąca (Rys. 1) zawiera trzy główne elementy budowy: 4-metoksybenzylideno-  
hydantoinę, fenylpiperazy-  
nę oraz łańcuch łączący te dwa obszary. Zmiany chemiczne doty-

czyły modyfikacji dwóch obszarów: podstawników w obrębie fenylopiperazyny (wprowadzenie grup: metoksylowej lub etoksylowej, chloru lub fluoru) oraz długości łańcucha węglowego (3, 5, 6 i 8 atomów węgla).

Nowe połączenia otrzymano w wyniku trzyetapowej syntezy chemicznej: kondensacji Knoevenagela, alkilacji Oyo Mitsunobu oraz stapiania reagentów w polu promieniowania mikrofalowego. Następnie oddano związki do wstępnych badań farmakologicznych (w których zastosowano znakowaną  $^3\text{[H]}$ -prazosynę jako selektywny radioligand) w celu zbadania ich powinowactwa do receptorów  $\alpha_1$ -adrenergicznych.

Powinowactwo otrzymanych połączeń do wyżej wymienionego typu receptorów zawierało się w bardzo szerokim przedziale wartości:  $K_i$ : 19,5 nM–1,1  $\mu\text{M}$ . Najbardziej aktywne były połączenia z grupą metoksylową w pozycji *orto* pierścienia fenylowego fenylopiperazyny, posiadające trójczłonowy łańcuch węglowy.

Badania były finansowane w ramach projektu K/ZDS/001915.

Literatura:

1. Woodcock E. A. „Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.” 2007, 34, 884.
2. Handzlik J., Maciąg D., Kubacka M., Mogilski S., Filipek B., Kieć-Kononowicz K. „Bioorg. Med. Chem.” 2008, 16, 5982.

URSZULA DOBOSZEWSKA, GABRIEL NOWAK

## ROLA KINAZY SYNTAZY GLIKOGENU 3B W MECHANIZMIE DZIAŁANIA CYNKU – BADANIA WSTĘPNE

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Kinaza syntazy glikogenu 3 (GSK3) jest kinazą serynowo-treoninową. Fosforyluje ponad 40 różnych substratów. Jej dwie izoformy: GSK3 $\alpha$  i GSK3 $\beta$  występują w całym organizmie, przy czym GSK3 $\beta$  szczególnie w ośrodkowym układzie nerwowym. GSK3 $\beta$  wyróżnia się konstytutywną aktywnością w komórkach w fazie spoczynku. W regulacji aktywności kinazy podstawowe znaczenie ma obniżająca aktywność fosforylacja w pozycji Ser-9. Od momentu odkrycia, że stosowany od ponad 60 lat stabilizator nastroju, lit, jest inhibitorem GSK3, badacze zwrócili uwagę na możliwy związek między GSK3 a chorobami afektywnymi, sugerując terapeutyczny potencjał inhibitorów kinazy. Pierwiastkiem śladowym, którego suplementacja zwiększa skuteczność terapii imipraminą u chorych z rozpoznaniem choroby afektywnej jednobiegunowej, z brakiem odpowiedzi na wcześniejsze leczenie w wywiadzie, jest cynk. Celem pracy było określenie zmian w poziomie białka GSK3 $\beta$  w modelu depresji po podaniach imipraminy i cynku.

**Materiał i metody:** Zwierzęta eksperymentalne poddano procedurze chronicznego łagodnego stresu. 2 tygodnie po zastosowaniu pierwszych bodźców stresowych rozpoczęto podawanie cynku (10 mg/kg m.c./dzień) lub imipraminy (10 mg/ kg m.c./dzień). Grupa kontrolna otrzymywała sól fizjologiczną (1 ml/kg m.c./dzień). 24 godziny po podaniu ostatniej dawki zwierzęta uśmiercono i pobrano struktury mózgu.

W hipokampie oznaczono poziom białka GSK3 $\beta$  metodą Western blot. Wyniki: Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w poziomie białka GSK3 $\beta$  między grupami. Pozostaje to w zgodzie z wynikami pracy Li i wsp. 2004, w której nie zaobserwowano różnic w poziomie całkowitego GSK3 $\beta$  po podaniach imipraminy, widoczny był natomiast istotny wzrost ufosforylowanej formy (w pozycji Ser-9) GSK3 po zastosowaniu leku. Uzyskane wyniki skłaniają do oznaczenia ufosforylowanej formy kinazy w toku dalszych badań.

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

## CZĘŚCIOWA ELIMINACJA NATURALNEJ FLORY JELITOWEJ NASIŁA PRZEBIEG REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW (CIA) U MYSZY

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Katedra Biologii Medycznej, Instytut Pielęgniarstwa,  
Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą chorobą zapalną dotykającą około 1% populacji dorosłych, która występuje dwukrotnie częściej u kobiet niż u mężczyzn. Obecnie stwierdza się, że w reakcji zapalnej RZS biorą udział limfocyty CD4<sup>+</sup> Th1 i Th17. Modelem zwierzęcym imitującym RZS jest kolagenowe zapalenie stawów (CIA).

W przedstawionych badaniach podjęto próbę oceny wpływu częściowej eliminacji naturalnej flory jelitowej na przebieg RZS u myszy. Częściowej eliminacji naturalnej flory jelitowej dokonano poprzez doustne podanie antybiotyku w wodzie do picia przez 2 tygodnie przed wywołaniem CIA. Podawanie antybiotyku kontynuowano przez pierwszy tydzień po indukcji CIA. Kolagenowe zapalenie stawów wywoływano u myszy szczepu DBA1 poprzez podskórne podanie bydłęcego kolagenu (COLL II) z kompletnym adiuwantem Freund'a (CFA). Po upływie 3 tygodni myszom podano podskórnie COLL II z niekompletnym adiuwantem Freund'a (IFA). Następnie zwierzęta były monitorowane i przebieg choroby oceniano wg czterostopniowej skali. Eliminację flory bakteryjnej oceniano poprzez określenie ilości kolonii bakteryjnych [colony forming unit (CFU)] wzrastających w warunkach tlenowych i beztlenowych wyizolowanych z treści jelitowej.

Wstępne badania wykazały, że częściowa eliminacja naturalnej flory jelitowej wzmacnia przebieg CIA u myszy. Zaobserwowano również, że częściowa eliminacja flory, co oceniono spadkiem ilości CFU, nie wpływa na wagę ciała myszy. Dodatkowo w badaniach *in vitro* zaobserwowano zwiększenie produkcji INF- $\gamma$  i IL-17A oraz zmniejszenie uwalniania IL-4 przez komórki węzłów chłonnych pachowych i pachwinowych (ALN). Ponadto stwierdzono, że pojenie antybiotykiem w wodnym roztworze, a następnie indukcja CIA powoduje zwiększoną produkcję INF- $\gamma$ , IL-17A i IL-6 przez komórki węzłów chłonnych krezkowych (MLN).

MONIKA DZIECIUCH, MARIUSZ KĘPCZYŃSKI, MARIA NOWAKOWSKA

## LIPOSOM JAKO NOŚNIK 5-FLUOROURACYLU

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni, Polska Akademia Nauk, Kraków; Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

5-fluorouracyl (5-FU) jest lekiem powszechnie stosowanym w onkologii do leczenia między innymi nowotworów przewodu pokarmowego, piersi, głowy i szyi. Z punktu widzenia molekularnego lek ten jest antymetabolitem pirymidyn, hamuje syntezę DNA. Krótki czas połowicznego rozpadu 5-FU w osoczu (10–20 min) stwarza konieczność częstego podawania leku w dużych dawkach. Współcześnie szeroko badane nośniki leków, bazujące głównie na materiałach polimerowych, mają za zadanie niwelować skutki uboczne farmaceutyków. Stosowanymi w klinice nośnikami leków są liposomy biodegradowalne, biozgodne pęcherzyki zbudowane z fosfolipidów. Zaletą pęcherzyków lipidowych jest możliwość enkapsulacji zarówno leków hydrofilowych, jak i hydrofobowych. Efektywność zamykania 5-FU w liposomach zależy od metody tworzenia liposomów.

W badaniach wykorzystano metody hydratacji suchego filmu lipidowego, mikrokapsułkowania (MCV), technikę faz odwróconych (REV). W celu zmniejszenia stopnia wypływu 5-FU z liposomów utworzono kompleks inkluzyjny leku z  $\beta$ -hydroksypropylocyklodekstryną. Fosfolipidowy skład błony został wzbogacony w cholesterol w celu polepszenia stabilności nośników. Efektywność enkapsulacji 5-FU w liposomach została zbadana metodą HPLC. Metody spektroskopowe wykorzystano do badań kinetyki uwalniania leku z liposomów. Stabilność, rozmiar układu 5-FU-liposom zostały zbadane metodą dynamicznego rozpraszania światła.

Oprócz działań niepożądanych, charakterystycznych dla leków cytotoksycznych, terapia 5-FU prowadzi do wytworzenia oporności nowotworu na lek. Obecnie szeroko badane są inhibitory glikoproteiny P – białka odpowiedzialnego za oporność wielolekową komórek nowotworowych. W pracy zbadano oddziaływania 5-FU z błoną lipidową modyfikowaną itrakonazolem – lekiem przeciwwgrzybiczym o potencjalnej roli inhibitora glikoproteiny P.

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

## WPLYW PRZEWLEKŁEGO KONTROLOWANEGO WYSIŁKU FIZYCZNEGO NA PARAMETRY STANU ZAPALNEGO WE KRWI OBWODOWEJ U PACJENTÓW Z WYSOKIM PRAWIDŁOWYM CIŚNIENIEM TĘTNICZYM

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

Celem pracy było określenie wpływu 3-miesięcznego treningu na cyklometrach rowerowych u osób zdrowych z wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym. Treningowi poddano 12 osób, które ćwiczyły regularnie 3 razy w tygodniu, z intensywnością 60–85% rezerwy tętna utrzymaną przez 30–40 min.

Metoda: Badania były prowadzone na jednojądrzastych komórkach wyizolowanych z krwi obwodowej (PBMC) i analizowanych przy pomocy cytometrii przepływowej pod względem czynników stanu zapalnego.

Wyniki: W populacji limfocytów T zaobserwowano wzrost odsetka limfocytów CD4+ (60,06  $\pm$  4,12 v. 64,42  $\pm$  3,74;  $p < 0,05$ ) oraz spadek odsetka limfocytów CD8+ (29,58  $\pm$  2,61 v. 25,36  $\pm$  1,97;  $p < 0,05$ ). Zauważono też wzrost odsetka komórek efektorowych w populacji limfocytów CD3+ (41,43  $\pm$  4,15 v. 47,32  $\pm$  4,02;  $p < 0,05$ ) oraz w populacji CD4+ (22,21  $\pm$  2,26 v. 26,29  $\pm$  2,46;  $p < 0,05$ ) oraz CD8+ (26,94  $\pm$  4,29 v. 37,46  $\pm$  4,70;  $p < 0,05$ ), jak również spadek odsetka komórek naiwnych (30,61  $\pm$  3,90 v. 24,06  $\pm$  3,62;  $p < 0,05$ ) oraz pamięci (15,91  $\pm$  2,22 v. 11,25  $\pm$  1,32;  $p < 0,05$ ) w populacji CD8+. W populacjach CD4+ (1,31  $\pm$  0,55 v. 0,34  $\pm$  0,04;  $p < 0,05$ ), CD8+ (3,04  $\pm$  0,51 v. 1,76  $\pm$  0,35;  $p < 0,05$ ) oraz DN (9,92  $\pm$  1,60 v. 4,84  $\pm$  0,80;  $p < 0,05$ ) wystąpił spadek odsetka komórek wykazujących ekspresję markera wczesnej aktywacji – CD69, natomiast w populacji DN również spadek ekspresji dla markera późnej aktywacji – CD25 (7,46  $\pm$  1,35 v. 5,91  $\pm$  1,19;  $p < 0,05$ ). Zaobserwowano też wzrost ekspresji dla receptora CCR5 w przypadku limfocytów CD4+ (0,45  $\pm$  0,16 v. 1,54  $\pm$  0,56;  $p < 0,05$ ) oraz CD8+ (1,77  $\pm$  0,39 v. 5,82  $\pm$  1,86;  $p < 0,05$ ). Wykazano spadek produkcji IL-4 przez komórki CD4+ (0,18  $\pm$  0,02 v. 0,09  $\pm$  0,01;  $p < 0,05$ ) oraz wzrost produkcji TNF $\alpha$  przez komórki CD4+ (0,18  $\pm$  0,02 v. 0,09  $\pm$  0,01;  $p < 0,05$ ) i CD8+ (44,50  $\pm$  3,30 v. 51,52  $\pm$  3,91;  $p < 0,05$ ).

Podsumowanie: Zastosowany przewlekły, kontrolowany wysiłek fizyczny spowodował zmiany świadczące o mobilizacji układu immunologicznego i poprawie odporności organizmu.



JOANNA FILIPOWSKA, TADEUSZ NIEDŹWIEDZKI, ANNA M. OSYCZKA

## OSTEOINDUKTYWNE WŁASNOŚCI RUSZTOWAŃ KOMPOZYTOWYCH PLGA-BIOAKTYWNE SZKŁA W HODOWLACH LUDZKICH MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH POCHODZENIA SZPIKOWEGO

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

W naszych badaniach testujemy hipotezę, że eksperymentalne bioaktywne rusztowania otrzymane z PLGA i wysokokrzemowych lub wysokowapniowych bio-szkieł (PLGA-S2 lub PLGA-A2) indukują procesy kościotworzenia w hodowlach ludzkich szpikowych mezenchymalnych komórek macierzystych (hBMSC).

Poprzednio wykazaliśmy, że w porównaniu do rusztowań z PLGA wyżej wymienione bioaktywne rusztowania stymulują osteogenezę hBMSC w obecności białek morfogenetycznych kości (BMP-2) lub deksametazonu (Dex). Obecnie testowaliśmy, czy i w jaki sposób same materiały są w stanie indukować procesy kościotworzenia w hodowlach hBMSC. W tym celu komórki wysiewane były na materiały i hodowane przez 2 dni bez czynników osteogennych.

Ekspresja mRNA dla osteogennych czynników transkrypcyjnych Runx-2 i Osx w warunkach nieróżnicujących była istotnie różna dla komórek hodowanych na PLGA i tych hodowanych na kompozytach. Zaobserwowano też istotne różnice we wzorze ekspresji Runx-2 i Osx na kompozytach. Ponadto, na PLGA-A2 komórki wykazywały podwyższoną w stosunku do PLGA ekspresję mRNA dla BMP-2 oraz wyższą aktywność białek Smad 1,5,8, przekazujących sygnał od BMP-2. Obecne badania wskazują, że kompozyt PLGA-A2 posiada naturalne zdolności osteoinduktywne. Natomiast wzmacniający efekt egzogenego BMP-2 na osteogenezę ludzkich komórek szpikowych zaobserwowano dopiero w hodowlach długoterminowych (ok. 20 dni): komórki wykazywały podwyższoną ekspresję mRNA dla kolagenu typu I, osteokalcyny i sialoproteiny kostnej na obu materiałach kompozytowych.

Obecne i poprzednie wyniki wskazują, że testowane przez nas materiały kompozytowe w różny sposób modulują procesy osteogenezy i mogą znaleźć zastosowanie w wielu odmiennych strategiach inżynierii tkanki kostnej.

Podziękowania dla zespołu prof. dr hab. Marii Borczuch-Łączki (AGH) za przygotowanie bioaktywnych rusztowań kompozytowych. Projekt finansowany z grantu badawczego dra A. M. Osyczka nr NCN B/NZ4/00664.

ANNA FURMAN, KRZYSZTOF BURY, PAWEŁ ROSTOFF, JADWIGA NESSLER

## WSKAŹNIKI PŁYTKOWE A OTYŁOŚĆ BRZUSZNA U CHORYCH Z PRZEWLEKŁĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA

Klinika Choroby Wieńcowej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Otyłość brzuszna (abdominal obesity, AO) jest jednym z czynników ryzyka rozwoju przewlekłej niewydolności serca (NS). Pacjenci ze zwiększonym obwodem talii ( $\geq 94$  cm u mężczyzn,  $\geq 80$  cm u kobiet), charakteryzują się nasiloną aktywacją płytek krwi, a przez to podwyższonymi wartościami średniej objętości płytek krwi (mean platelet volume, MPV). Niewiele wiadomo na temat związku między AO a wskaźnikami płytkowymi u pacjentów z NS.

Cel: Ocena związku między AO a wskaźnikami płytkowymi u pacjentów z NS.

Metody: Badaniem zostało objętych 424 pacjentów, którzy zostali podzieleni na dwie grupy: A – 106 pacjentów z NS i LVEF  $\leq 45\%$  (79 mężczyzn, średni wiek  $68,4 \pm 10,3$  lat) oraz B – 318 pacjentów bez NS i z LVEF  $> 45\%$  (200 mężczyzn, średni wiek  $62,4 \pm 12,2$  lat).

Wyniki: Nie wykazano różnic między grupami w odniesieniu do liczby płytek krwi ( $221,8 \pm 79,6$  v.  $222,5 \pm 70,1 \times 10^9/L$ ,  $p=0,931$ ) oraz MPV ( $10,54 \pm 1,16$  v.  $10,52 \pm 1,07$  fL,  $p=0,859$ ). Jednakże w grupie A stwierdzono istotny związek między obwodem talii a MPV ( $r=0,19$ ,  $p=0,046$ ) oraz BMI ( $r=0,02$ ,  $p=0,036$ ). Co więcej, u pacjentów z NS wartość MPV istotnie korelowała z liczbą płytek krwi ( $r=-0,34$ ,  $p<0,0003$ ), poziomem cholesterolu całkowitego w surowicy ( $r=-0,24$ ,  $p=0,022$ ) oraz cholesterolu frakcji LDL ( $r=-0,31$ ,  $p=0,027$ ). Jedynie w grupie B obwód talii dodatkowo korelował z częstością występowania dysfunkcji rozkurczowej lewej komory ( $r=0,14$ ,  $p=0,023$ ).

Wnioski: Nie stwierdzono istotnego związku między występowaniem NS a wartością MPV oraz liczbą płytek krwi. U pacjentów z NS wykazano istotną dodatnią korelację między obwodem talii a wartością MPV. Otyłość brzuszna jest związana z większą częstością występowania dysfunkcji rozkurczowej lewej komory u chorych bez NS.

ANNA GLINKA

## OCENA WPŁYWU MUTACJI KANAŁU HERG NA EFEKT PROARYTMICZNY LEKÓW

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

**Wstęp:** Zgodnie z hipotezą jonową zmiany funkcjonowania kanałów jonowych w błonie kardiomiocytów związane są z modyfikacją potencjału czynnościowego i w następstwie elektrofizjologii serca.

**Metodyka:** W badaniu symulowano wpływ mutacji w genie hERG (powodujących upośledzenie wbudowywania się białek budujących kanał do błony komórkowej kardiomiocytów i redukcję gęstości prądu potasowego IKr) na efekt proarytmiczny leku. Hamowanie prądu IKr było sumą zmian spowodowanych mutacjami (F805C, G601S, D456Y, I31S, R823W, F640V, A561V) oraz blokowania zależnego od leku. Wpływ tiorydazyny obliczono, wykorzystując wartość IC<sub>50</sub> oraz dane kliniczne dla stężenia leku w osoczu. Symulując pobudzenie adrenergiczne, stymulowano komórkę 40, 60, 80 i 120 razy na minutę (bpm). Za punkty końcowe przyjęto wystąpienie EAD (wczesny potencjał następczy) lub arytmii oraz wartość APD<sub>90</sub>. Przeprowadzono 192 symulacji (64 dla komórek epikardium, endokardium i miokardium).

**Wyniki:** Arytmię obserwowano najczęściej przy rytmie serca wynoszącym 120 bpm (26 przypadków na 48 symulacji, dla wszystkich 7 mutacji), a najrzadziej przy 40 bpm (8 przypadków, dla wszystkich 7 mutacji). Wartość APD<sub>90</sub> wahała się od 218 ms dla komórek epikardium przy rytmie serca 120 bpm i braku zarówno mutacji, jak i leku, do 747 ms dla komórek endocardium, przy rytmie serca 60 bpm, dla komórek z mutacją A561V w genie hERG i po podaniu tiorydazyny.

**Wnioski:** Model matematyczny kardiomiocytów komorowych umożliwił odtworzenie efektu wydłużania się czasu trwania potencjału czynnościowego, wczesne potencjały następcze i arytmie komorowe związane z blokadą kanałów jonowych. Symulacje dają możliwość badania mechanizmów powstawania zaburzeń elektrofizjologicznych związanych z wystąpieniem mutacji i/lub podaniem leków przy jednoczesnej pełnej kontroli warunków eksperymentu.

KATARZYNA GŁOMBIK, AGNIESZKA BASTA-KAIM, RAFAŁ OLSZANECKI

## OCENA POTENCJALNEJ ROLI ZABURZEŃ SZLAKU INSULINOWEGO W MÓZGU W PATOGENEZIE DEPRESJI

Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Polska Akademia Nauk; Zakład Farmakologii,  
Katedra Farmakologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Najnowsze badania wskazują, że zaburzenia metabolizmu glukozy i deficyty w szlakach przekazywania sygnału, w które zaangażowana jest insulina, mogą odgrywać znaczącą rolę w patogenezie depresji. Insulina wywiera swoje biologiczne efekty poprzez wiązanie się z receptorem insulinowym (IR), którego aktywacja w mózgu kontrolowana jest m.in. przez rodzinę substratów receptora insulinowego (IRS). Celem pracy było określenie czy u dorosłych zwierząt poddanych procedurze stresu prenatalnego (zwierzęcy model przypominający depresję) dochodzi do zmian w zachowaniu, zaburzeń w ekspresji i poziomie insuliny, jej receptora oraz białek z rodziny IRS. Ciężarne samice szczurów rasy Sprague-Dawley poddawano trzy razy dziennie stresowi (począwszy od 14. dnia ciąży aż do porodu). U dorosłego 3-miesięcznego potomstwa – samców kontrolnych oraz stresowanych prenatalnie – przeprowadzono weryfikacje behawioralną (test wymuszonego pływania i podniesionego labiryntu krzyżowego), a następnie w wybranych strukturach mózgu prowadzono oznaczenia biochemiczne. Uzyskane wyniki wskazują, że stres prenatalny powoduje wydłużenie czasu bezruchu w teście Porsolta oraz skrócenie czasu przebywania w ramieniu otwartym labiryntu krzyżowego, a także zmniejszenie ilości wejść do tego ramienia. Ponadto u zwierząt stresowanych prenatalnie dochodzi do podwyższenia ekspresji mRNA i poziomu insuliny w korze czołowej. Dodatkowo obserwowano dysfunkcje w poziomach podjednostek wewnątrzkomórkowych IR w korze czołowej oraz wzrost poziomu aktywnej formy IRS-1. Nasze wyniki wskazują, że stres prenatalny może prowadzić do zmian w szlaku przekazywania związanego z insuliną w korze mózgowej i stanowić przyczynę pojawiania się epizodów depresyjnych w życiu dorosłym.

Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. ISD „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków UE w ramach EFS – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013.

KAROLINA GOLIŃSKA-GRZYBAŁA, RAFAŁ GRZYBCZAK,  
ILONA PALKA, ANNA FURMAN, JADWIGA NESSLER

## ZNACZENIE MIGOTANIA PRZEDSIONKÓW U PACJENTÓW Z OSTRYM ZESPOŁEM WIEŃCOWYM LECZONYCH METODĄ PRZEZSKÓRNEJ INTERWENCJI WIEŃCOWEJ

Klinika Choroby Wieńcowej, Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II w Krakowie

**Wstęp:** Migotanie przedsionków (AF) jest częstym powikłaniem chorób serca. Niedokrwienie miokardium w przebiegu OZW, a także inwazyjne leczenie re-perfuzyjne sprzyjają powstawaniu zaburzeń rytmu serca.

**Cel:** Określenie charakterystyki populacyjnej oraz znaczenia klinicznego wystąpienia AF u pacjentów z OZW leczonych PCI.

**Materiał i metody:** Przeprowadzono retrospektywną analizę statystyczną danych z obrazu klinicznego 672 chorych (243 kobiet i 429 mężczyzn) hospitalizowanych z powodu OZW. Wykluczono pacjentów z chorobą nowotworową, istotną wadą zastawkową serca, chorobami tarczycy, utrwalonym AF. Obecność napadowego AF w przebiegu OZW pozwoliła podzielić pacjentów na 2 grupy (z AF oraz bez AF).

**Wyniki:** AF wystąpiło u 99 chorych (14,7%) – 51 kobiet (51,5%) i 49 mężczyzn (49,5%), z czego u 69 pacjentów wystąpiło w trakcie hospitalizacji (69%), a u 30 zostało rozpoznane przed przejściem do szpitala (30%). Pacjenci z AF w porównaniu do pacjentów bez arytmii charakteryzowali się ( $p < 0,05$ ): starszym wiekiem (72,56 v. 63,6 lat), płcią żeńską (50,51 v. 33,68%), częstszym występowaniem dwunaczyniowej choroby wieńcowej (34,6% v. 26,8%), krytycznym zwężeniem pnia lewej tętnicy wieńcowej (14,43% v. 5,96%), większą częstością komorowych zaburzeń rytmu (36,08% v. 15%), a także nagłego zatrzymania krążenia w trakcie hospitalizacji zakończonego i niezakończzonego zgonem (8,16% v. 1,22%).

**Wnioski:** Migotanie przedsionków jest częstym zaburzeniem rytmu u pacjentów z OZW leczonych PCI (14,7% zabiegów). Wiąże się z gorszym przebiegiem klinicznym wczesnej fazy leczenia OZW. Markerami wystąpienia arytmii są głównie: wiek, płeć żeńska, krytyczne zwężenie pnia lewej tętnicy wieńcowej oraz choroba wielonaczyniowa.

ANNA GONCIARZ, JOANNA SZYMURA-OLEKSIK

## OCENA WPŁYWU WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH NA WIĄZANIE KWASU NIKOTYNOWEGO ORAZ JEGO POCHODNYCH Z ALBUMINĄ WOŁOWĄ

Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET); Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Kwas nikotynowy ulega w organizmie przekształceniu do nikotynamidu, ten z kolei jest metylowany do N-metylonikotynamidu. Mimo podobnej struktury chemicznej związku te posiadają odmienne właściwości fizykochemiczne oraz różnią się profilem farmakodynamicznym i farmakokinetycznym. Wiązanie leku z białkami krwi znacząco wpływa na jego losy w organizmie, ponieważ zgodnie z hipotezą wolnego leku tylko frakcja wolna, niezwiązana z białkami, może przenikać przez błony biologiczne, docierać do miejsca działania i wywierać określone efekty. O sile i stopniu wiązania leku z białkami krwi mogą decydować budowa oraz jego właściwości fizykochemiczne, zwłaszcza lipofilność i charakter kwasowo-zasadowy.

Z zastosowaniem elektroforezy kapilarnej w trybie analizy frontальной oceniono stopień wiązania kwasu nikotynowego, nikotynamidu oraz N-metylonikotynamidu z albuminą wołową. Stopień i siłę wiązania z badanym białkiem korelowano z dostępnymi w literaturze wartościami logP oraz pKa badanych związków, będącymi miarą, odpowiednio, właściwości lipofilowych oraz charakteru kwasowego lub zasadowego związków.

Najsilniej z albuminą wiązał się kwas nikotynowy, wykazujący spośród badanych związków najbardziej lipofilny oraz kwasowy charakter. Najsłabiej natomiast wiązał się N-metylonikotynamid, będący silnie spolaryzowaną, dodatnio naładowaną cząsteczką.

Wykazano zależność pomiędzy właściwościami fizykochemicznymi badanych związków a siłą wiązania z albuminą. Silniejsze wiązanie substancji lipofilowych z badanym białkiem może wynikać z obecności w strukturze tego białka ugrupowań o podobnym charakterze. Ponadto większe powinowactwo do albuminy wykazują związki o charakterze kwasowym, nie zaś cząsteczki zasadowe. Powodem tego mogą być oddziaływania jonowe między badaną substancją a lizyną, zasadowym aminokwasem, bogato występującym w strukturze albuminy.

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



AGNIESZKA GRABOWSKA

## OZNACZENIE PŁCI PŁODU Z KRWI MATKI

Zakład Genetyki Medycznej, Katedra Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

Krew matki może być źródłem informacji o nienarodzonym dziecku. Znajdują się w niej komórki dziecka oraz jego DNA. cffDNA wykryto we krwi zdrowych, ciężarnych kobiet w roku 1997. Od tego czasu trwają nieustanne prace nad jego wykorzystaniem w rutynowej diagnostyce prenatalnej.

cffDNA, czyli wolne DNA płodu, to fragmenty kwasów nukleinowych dziecka krążące w krwi matki. Stanowi ono około 5% frakcji wolnego DNA obecnego w osoczu ciężarnych. Jego ilość wzrasta wraz z zaawansowaniem ciąży, jednak zanika ono zaraz po porodzie.

Materiał badawczy stanowiło 5 ml krwi obwodowej matki. W grupie badanej znajdowały się kobiety w II trymestrze ciąży zaliczane do grupy ryzyka i skierowane przez lekarza na zabieg amniopunkcji. Metodyka badania oparta była na izolacji cffDNA z krwi oraz jego analizie molekularnej. Wykorzystano metodę Real-time PCR przy zastosowaniu sond specyficznych dla genów chromosomu Y. Opracowano metodę izolacji cffDNA z osocza krwi oraz oznaczenia płci płodu na podstawie próbki krwi matki. Przeanalizowano 36 próbek biologicznych, we wszystkich wypadkach poprawnie oznaczono płeć dziecka. Na podstawie analiz jako najbardziej czuły marker płci wybrano gen DYS14. Opracowano protokół analizy oparty o gen kontrolny, krzywe kalibracyjne dla referencyjnego DNA oraz przelicznik 6,6 pg DNA na 1 ekwiwalent genomu (GEq).

Analiza cffDNA wyizolowanego z krwi matki stwarza możliwość nie tylko oznaczenia płci dziecka, ale również opracowania nowych testów prenatalnych. Pozwoli to na wczesne określenie ryzyka zagrożenia płodu w sposób nieinwazyjny, niwelując ryzyko związane z rutynową diagnostyką inwazyjną.

ALEKSANDRA GREGORIUS, EWA CZARNOBILSKA, RADOSŁAW ŚPIEWAK

## OPTIMALIZACJA CYTOMETRYCZNEGO TESTU AKTYWACJI BAZOFILÓW W DIAGNOSTYCE ALERGII WZIEWNEJ NA ROZTOCZE KURZU DOMOWEGO U DZIECI

Zakład Dermatologii Doświadczalnej i Kosmetologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Alergologii Klinicznej i Środowiskowej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Test aktywacji bazofilów (BAT) jest techniką laboratoryjną, która może wspomóc diagnostykę oraz monitorowanie leczenia alergii wziewnej. Celem pracy było ustalenie optymalnego protokołu wykonania i interpretacji tego testu w przypadku kwalifikacji pacjentów pediatrycznych do immunoterapii swoistej z alergenem roztocza kurzu domowego (*Dermatophagoides pteronyssinus*).

Badanie objęło 64 pacjentów z alergią oddechową podzielonych na dwie grupy: 32 pacjentów z istotną klinicznie alergią na *D. pteronyssinus* (po kwalifikacji do immunoterapii swoistej z tym alergenem) oraz 32 pacjentów kontrolnych z alergią oddechową na alergeny sezonowe (tymotka, brzoza). Do ustalenia optymalnego punktu odcięcia prawidłowo różnicującego pacjentów uczulonych od nieuczulonych wykorzystano analizę krzywych ROC dla pobudzenia bazofilów z pięcioma różnymi stężeniami alergenu (od 22,5 ng/ml do 0,00225 ng/ml) oraz analizę pola pod krzywą (AUC).

Najlepszy punkt odcięcia został ustalony na poziomie 9,76% aktywowanych bazofilów dla stężenia alergenu *D. pteronyssinus* 2,25 ng/ml. Wyniki kwalifikacji wg zaleceń producenta istotnie statystycznie różniły się od „złotego standardu” (kwalifikacja lekarza na podstawie wywiadu i wyników skórnych testów punktowych), podczas gdy wyniki uzyskane za pomocą zoptymalizowanego protokołu nie wykazywały istotnych różnic w stosunku do „złotego standardu”. Zastosowanie wyliczonego punktu odcięcia pozwoliło na zdiagnozowanie uczulenia na roztocze kurzu domowego dodatkowo u jednego pacjenta w badanej grupie (95,31% prawidłowo zakwalifikowanych pacjentów w odniesieniu do przyjętego złotego standardu – kwalifikacji lekarskiej, w porównaniu do 93,75% zakwalifikowanych prawidłowo na podstawie kryterium sugerowanego przez producenta).

Potwierdzono przydatność cytometrycznego testu aktywacji bazofilów w diagnostyce alergii na roztocze kurzu domowego u dzieci. Zoptymalizowany protokół badania dla populacji dzieci z alergią wziewną na roztocze kurzu domowego zwiększa skuteczność diagnostyczną testu.

KATARZYNA GRYCHOWSKA, KRZYSZTOF MARCINIEC, VITTORIO CANALE,  
GRZEGORZ SATAŁA, ANDRZEJ MAŚLANKIEWICZ, ANDRZEJ J. BOJARSKI,  
MACIEJ PAWŁOWSKI, PAWEŁ ZAJDEL

## WPLYW FRAGMENTU ARYLOETEROWEGO NA SELEKTYWNOŚĆ 5-HT<sub>7</sub>/5-HT<sub>1A</sub> RECEPTOROWĄ W GRUPIE CHINOLINOSULFONAMIDOWYCH POCHODNYCH ARYLOXY-/ARYLTIOETILOPIPERYDYN

Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Chemii Organicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny; Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

Od lat uznaną grupę ligandów receptorów monoaminergicznych stanowią pochodne długołańcuchowych arylopiperazyn. Opierając się na wynikach badań *in silico*, zaproponowano koncepcję ich biomimetyków o strukturze aryloksy/arylotioetylowych pochodnych amin alicyklicznych modyfikowanych układami amidowymi bądź sulfonamidowymi<sup>1</sup>. Dotychczasowe wyniki badań nad zależnościami struktura – aktywność w tej grupie połączeń wskazują na możliwości sterowania powinowactwem i selektywnością receptorową poprzez dobór rodzaju podstawnika w układzie aryloksy/arylotioetylowym, zmiany odległości między zasadowym atomem azotu a fragmentem amidowym/sulfonamidowym oraz rodzaj fragmentu amidowego/sulfonamidowego.

W oparciu o wcześniejsze rezultaty zaplanowano serię chinolinosulfonamidowych pochodnych aryloksy/arylotioetylowych 4-aminometylopiperydyny jako potencjalnych ligandów receptorów 5-HT<sub>7</sub><sup>2</sup>. Modyfikacje strukturalne polegały na wprowadzeniu różnych podstawników w pierścieniu fenylovym fragmentu aryloksy/arylotioetylowego, jak również zastąpieniu pierścienia fenyloвого aromatycznym układem heterocyklicznym. Ponadto w obrębie fragmentu sulfonamidowego wprowadzono różnie podstawione układy chinolinosulfonamidowe.

Zaplanowane połączenia zsyntetyzowano na nośnikach polimerowych z wykorzystaniem żywicy polistyrenowej typu BAL dzięki sekwencyjnemu dołączaniu bloków budulcowych. Produkty finalne zostały oczyszczone za pomocą preparatywnego chromatografu cieczowego sprzężonego ze spektrometrem mas. Zsyntetyzowane połączenia poddano ocenie ich powinowactwa do receptorów 5-HT<sub>7</sub> i 5-HT<sub>1A</sub>.

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

### Literatura:

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

MAŁGORZATA GRZANKA, MAGDALENA SZOPA, BEATA KIEĆ-WILK, NATALIA NOWAK, BARTŁOMIEJ MATEJKO, MACIEJ T. MALECKI, TOMASZ KLUPA

## WSTĘPNA SELEKCJA CHORYCH DO BADAŃ PRZESIEWOWYCH W CUKRZYCY TYPU MODY NA PODSTAWIE NOWYCH KRYTERIÓW KLINICZNYCH

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Przyczyną rozwoju najczęstszej formy cukrzycy monogenowej MODY (maturity-onset diabetes of the young) są mutacje w genie hepatocytowego czynnika jądrowego 1 $\alpha$  (HNF1 $\alpha$ ). U pacjentów z cukrzycą HNF1 $\alpha$  MODY stwierdzono wysoką wrażliwość na pochodne sulfonylomocznika (SU), co często umożliwia rezygnację z insulinoterapii. Niestety większość pacjentów z cukrzycą monogenową jest błędnie diagnozowana jako pacjenci z cukrzycą typu 1 (T1DM) lub typu 2 (T2DM), co skutkuje ich nieoptymalnym leczeniem.

**Cel:** Celem badania było przetestowanie nowych klinicznych kryteriów wyboru pacjentów do badań molekularnych w poszukiwaniu HNF1 $\alpha$  MODY.

**Materiał:** Do badania włączono pacjentów z T2DM, u których okres skutecznego leczenia pochodnymi sulfonylomocznika był dłuższy niż 15 lat oraz BMI <30 kg/m<sup>2</sup>, a także pacjentów z T1DM aktualnie leczonych ciągłym podskórnym wlewem insuliny (CSII). Kryteria włączenia do badania obejmowały całkowite dzienne zapotrzebowanie na insulinę (TDIR) mniejsze niż 0,3 j/m/kg po co najmniej 5 latach po rozpoznaniu cukrzycy oraz zapotrzebowanie na insulinę bazalną mniejsze niż 30% TDIR.

**Wyniki:** Przeanalizowano dokumentację medyczną 524 pacjentów ze zdiagnozowaną T2DM i 159 pacjentów z T1DM. Na podstawie zaproponowanych kryteriów wyselekcjonowano 14 pacjentów z T2DM, dla 11 z nich zsekwencjonowano gen HNF1 $\alpha$ . U jednego pacjenta z tej grupy znaleziono dużą delecję, stanowiącą sprawczy wariant cukrzycy. Wśród pacjentów z T1DM leczonych za pomocą CSII i spełniających kryteria selekcji związana z cukrzycą mutacja w egzonie 4 (P291fsinsC) została znaleziona u jednego pacjenta. U drugiego pacjenta obecna była mutacja V87G w genie GCK.

**Wnioski:** Zaprezentowano nowe kliniczne kryteria, które mogą być pomocne we wstępnej selekcji pacjentów do badań molekularnych w poszukiwaniu HNF1 $\alpha$  MODY.

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

## WYSTĘPOWANIE OPERONU ICAADBC A ZDOLNOŚĆ DO TWORZENIA ŚLUZU ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEGO U GRONKOWCÓW STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS I STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS IZOLOWANYCH OD NOWORODKÓW HOSPITALIZOWANYCH NA ODDZIAŁACH INTENSYWNEJ OPIEKI NEONATOLOGICZNEJ

Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Gronkowce koagulazo-ujemne, a szczególnie *S. epidemidis* i *S. haemolyticus*, stanowią istotny czynnik etiologiczny zakażeń szpitalnych, głównie dzięki zdolności do tworzenia biofilmu. Jednym z etapów tego procesu jest akumulacja komórek w warstwie zewnątrzkomórkowego śluzu.

Uważa się, że za produkcję śluzu odpowiada operon *icaADBC*, składający się m.in. z genów *icaA* oraz *icaD*. W skład operonu *icaADBC* wchodzi również transpozon IS256, wpływający na zwiększenie ekspresji genów.

Cel badań: Porównanie zdolności do produkcji śluzu z obecnością genów *icaA*, *icaD* oraz fragmentu IS256 u badanych szczepów.

Materiały i metody: Badaniem objęto 63 szczepy *S. epidermidis* i 39 szczepów *S. haemolyticus* pochodzących od hospitalizowanych noworodków. Produkcję śluzu oceniono półilościowo metodą probówkową wg Christensena w skali od – do +++ . Bakterie zawieszono w 3ml podłoża płynnego TSB inkubowano przez noc w temperaturze 37°C. Następnie usunięto podłoże, a pozostałe na ściankach próbki bakterie barwiono roztworem safraniny. Obecność genów *icaA*, *icaD* oraz transpozonu IS256 zbadano przy pomocy PCR.

Wyniki: (1) Test probówkowy: 30%, 43%, 14%, 13% *S. epidermidis* oraz 13%, 18%, 69% i 0% *S. haemolyticus* sklasyfikowano odpowiednio jako -, +, ++, +++. (2) Gen *icaA* wystąpił u 26% szczepów *S. epidermidis* i 3% szczepów *S. haemolyticus*, gen *icaDB* u 38% szczepów *S. epidermidis* i 28% *S. haemolyticus*, zaś transpozono IS256 u 68% szczepów *S. epidermidis* i u wszystkich *S. haemolyticus*.

**Wnioski:** Wszystkie szczepy *S. epidemidis* sklasyfikowane jako +++ w teście probówkowym posiadały geny operonu *icaADBC*. Innych korelacji nie zaobserwowano. Część szczepów tworzących śluz nie posiadało genów operonu *icaADBC*, co świadczy o udziale w tym procesie innych mechanizmów.

NATALIA GUZIOR, BARBARA MALAWSKA

## SYNTEZA, OZNACZANIE AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ I KINETYKI ENZYMATYCZNEJ NOWYCH HETERO- DIMERYCZNYCH INHIBITORÓW CHOLINOESTERAZ HAMUJĄCYCH AGREGACJĘ BETA AMYLOIDU

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

Projektowanie leków działających na kilka celów biologicznych jest atrakcyjnym kierunkiem poszukiwań możliwości terapeutycznych chorób o złożonym patomechanizmie, między innymi choroby Alzheimera. W ostatnich latach zostało opisanych wiele inhibitorów cholinesteraz (acetylocholinoestrazy, AChE i butyrylocholinoestrazy, BuChE) o podwójnym uchwycie działania. Inhibitory te oprócz hamowania aktywności cholinesteraz wpływają na agregację beta amyloidu [1,2].

Wyniki uzyskane z wcześniejszych badań stały się podstawą do zaprojektowania i syntezy nowych heterodimerycznych struktur, mogących hamować cholinesterazy i wpływać na agregację beta amyloidu. Aktywność nowych związków wobec cholinesteraz oraz badanie kinetyki enzymatycznej zostały wykonane spektrofotometrycznym testem Ellmana [3]. Zdolność hamowania agregacji beta amyloidu wyznaczono we współpracy z zespołem prof. Holzgrabe, wykorzystując zmodyfikowany test Tioflawionowy T [4]. Otrzymane związki są selektywnymi inhibitorami AChE lub inhibitorami AChE i BuChE. Aktywność wobec AChE (wartości IC<sub>50</sub>) mieści się w przedziale 0,057–8,69  $\mu\text{M}$  i 1,06–11,22  $\mu\text{M}$  dla BuChE. Związki okazały się inhibitorami o mieszanym typie inhibicji enzymatycznej. Niektóre z pochodnych hamują agregację beta amyloidu w 22,72–39,60% przy stężeniu 50  $\mu\text{M}$ .

### Literatura:

1. Bajda M., Guzior N., Ignasik M., Malawska B., „Curr. Med. Chem.”, 2011, 18, 4949–4975.
2. Peters J.-U., „Polypharmacology in Drug Discovery”, Willey, 2012.
3. Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., Feather-Stone R. M., „Biochemical Pharmacology”, 1961, 88–95.
4. Ignasik M., Bajda M., Guzior N., Prinz M., Holzgrabe U., Malawska B., „Arch. Pharm. Chem. Life Sciences”, 2012, 1–8.

Joanna Harzowska-Szczygieł

## STAN ZDROWIA I STYL ŻYCIA MATEK NIEPEŁNOSPRAWNYCH OSÓB

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

Przyjście na świat dziecka niepełnosprawnego powoduje wiele zmian w życiu całej rodziny. Zmiany te dotyczą wszystkich członków rodziny, jednak szczególnie dotkliwie są odczuwane przez matki, gdyż to na ich barki spada niemal cały problem dotyczący opieki i wychowania. Obecność dziecka niepełnosprawnego jest poważnym źródłem stresu, który może być rozważany w kategoriach krytycznego zdarzenia życiowego.

Cel: Ocena stanu zdrowia i stylu życia matek niepełnosprawnych osób.

Materiał i metody: Badaniem ankietowym zostanie objętych 100 matek dzieci niepełnosprawnych oraz 100 matek dzieci w pełni sprawnych. Badanie ankietowe będzie zawierało standaryzowany kwestionariusz samooceny stanu zdrowia, kwestionariusz stylu życia kobiet oraz autorski kwestionariusz dotyczący sytuacji rodzinnej. Do grupy badanej będą włączone kobiety w przedziale wiekowym 45–65 lat, mające dorosłe dzieci.

Wyniki i wnioski: Wyniki badań mają udowodnić, że długotrwała opieka nad niepełnosprawnym dzieckiem niekorzystnie wpływa na stan zdrowia ich matek oraz znacząco zmienia ich styl życia. We współczesnym świecie zwraca się szczególną uwagę na zdrowie niepełnosprawnych – ich rehabilitację i funkcjonowanie w społeczeństwie, spychając na dalszy plan kobiety, które najczęściej sprawują pełną opiekę nad takimi osobami. Przez całe życie dbając o dzieci, zapominają o swoim zdrowiu – spychają je na dalszy plan, co w późniejszym czasie może wiązać się także z ich kalectwem i niemożnością sprawowania opieki nad dzieckiem.



KATARZYNA IWULSKA

## CZYNNIKI RYZYKA PIERWOTNYCH I NAWRACAJĄCYCH POSTACI RAKA PODSTAWNOKOMÓRKOWEGO SKÓRY TWARZY O AGRESYWNYM TYPIE WZROSTU

Katedra Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej, Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej, Instytut Stomatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Cel:** Analiza ekspresji markera proliferacji Ki-67, międzykomórkowego czynnika adhezyjnego E-kadheryny,  $\alpha$ -aktyny mięśni gładkich ( $\alpha$ -SMA) oraz stopnia naciekania nerwów w postaciach pierwotnych i nawrotowych raka podstawnokomórkowego (BCC) skóry twarzy o agresywnym typie wzrostu.

**Materiał:** W okresie 1997–2009 spośród 369 chorych operowanych na Oddziale Klinicznym Chirurgii Szczękowo-Twarzowej z powodu raka podstawnokomórkowego skóry twarzy wyselekcjonowano bloczki parafinowe preparatów operacyjnych 36 chorych z agresywną postacią BCC. Preparaty zostały podzielone na dwie grupy: pierwotne BCC (21 bloczków) i wznowy BCC (15 bloczków). Preparaty obydwu grup poddano ponownemu badaniu histopatologicznemu oraz immunohistochemicznemu celem oceny ekspresji markerów nowotworowych.

**Wyniki:** Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy grupami pierwotnych i wtórnych BCC o agresywnym typie wzrostu w ekspresji E-kadheryny, Ki-67 i  $\alpha$ -SMA ( $p>0,05$ ). Obie grupy przedstawiały podobny przebieg kliniczny – porównywalny odsetek nieradykalnego wycięcia guza, wystąpienia nawrotów oraz przerzutów ( $p>0,05$ ). Odsetek naciekania nerwów (S100) w grupie pierwotnych BCC był wyższy w porównaniu do nawracających BCC ( $p=0,006$ ) i wiązał się z częstszym występowaniem przerzutów w grupie pierwotnych BCC ( $p=0,03$ ). Zmniejszona ekspresja E-kadheryny wiązała się z wyższym ryzykiem wznowy pierwotnych BCC ( $p=0,04$ ) oraz nieradykalnego usunięcia wznowy w nawracających BCC ( $p=0,01$ ).

**Wnioski:** Najczęściej występującą agresywną postacią BCC skóry twarzy jest podtyp rylcowaty. Ponieważ nie wykazano istotnych różnic w przebiegu klinicznym między pierwotnymi i nawracającymi BCC o agresywnym typie wzrostu, wydaje się, iż obie grupy wymagają zastosowania podobnego leczenia. Wyniki badania sugerują, że ocena naciekania nerwów w pierwotnym BCC może być czynnikiem predysponującym do wystąpienia przerzutów. Zmniejszona ekspresja E-kadheryny może stanowić czynnik ryzyka wystąpienia wznowy BCC.

ANNA JAGUSIAK, BARBARA PIEKARSKA, TOMASZ PAŃCZYK, PIOTR LAIDLER

## BADANIE WŁAŚCIWOŚCI KOMPLEKSÓW NANORUREK WĘGLOWYCH I ZWIĄZKÓW TYPU CZERWIENI KONGO JAKO POTENCJALNYCH UKŁADÓW CELOWANEGO DOSTARCZANIA LEKÓW

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

Obserwowany w ostatnich latach gwałtowny rozwój badań nad nośnikami leków jest związany z ogromnymi korzyściami, jakie ich zastosowanie przynosi medycynie. Istotnym problemem jest brak specyficzności w dostarczaniu leków do komórek i niszczenie zdrowych tkanek. Niekorzystne efekty tych zjawisk widać szczególnie wyraźnie w terapii antynowotworowej. Znalezienie skutecznego terapeutycznie nośnika, który dostarczałby lek bezpośrednio do miejsca stanu zapalnego lub ogniska nowotworu bez niszczenia zdrowych tkanek, stanowi cel dla wielu zespołów badawczych. Nośnik powinien:

- wykazywać dużą pojemność względem osadzanego leku;
- być nietoksyczny i łatwo usuwany z organizmu;
- zapewniać transport leków przez błony komórkowe.

Modelowym lekiem stosowanym w pracy jest doksorubicyna. Z uwagi na poważne efekty uboczne prowadzone są obecnie badania nad różnego rodzaju nośnikami tego powszechnie stosowanego chemioterapeutyku. Potencjalnymi transporterami leków są nanorurki węglowe (Carbon nanotubes, CNT), a także związki o charakterze supramolekularnym – typu czerwieni Kongo (Congo red, CR). Połączenie obu układów wydaje się obiecującym rozwiązaniem i wpisuje się w szeroki nurt badań nad nośnikami leków.

Celem prowadzonych badań jest określenie, czy funkcjonalizowane CNT będą spełniać warunki niezbędne do wykorzystania ich w funkcji nośników umożliwiających celowane dostarczenie leków do komórek. Pomimo istnienia doniesień o oddziaływaniu związków typu CR z CNT oraz możliwości wiązania leków zarówno przez różne formy CNT, jak i przez CR, nie prowadzono dotychczas badań nad nośnikami, które łączyłyby zalety obu układów. Istnieją podstawy, by przypuszczać, iż taki nośnik byłby dobrze rozpuszczalny i stabilny, a także bardziej pojemny niż każdy z tych nośników działający niezależnie. Nośnik taki mógłby być alternatywą dla już istniejących transporterów leków.

ANNA JAKUBOWSKA

## BADANIA NAD OTRZYMYWANIEM NOWYCH STEREOIZOMERÓW $\alpha$ -AMINOKWASÓW Z WYKORZYSTANIEM RÓWNOWAŻNIKÓW GLICYNY

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

Jednym z najtrudniejszych wyzwań, jakie stoją przed badaniami biomimetycznymi, jest synteza nowych sekwencji peptydowych charakteryzujących się korzystniejszymi właściwościami farmakokinetycznymi i farmakodynamicznymi w porównaniu z naturalnymi, aktywnymi peptydami i białkami. Spośród wielu niekodowanych aminokwasów czwartorzędowe alfa-aminokwasy odgrywają jedną z kluczowych ról w tych badaniach. Posiadają one czwartorzędowy atom węgla, który po wprowadzeniu do peptydu stabilizuje jego konformację. Kolejną zaletą wprowadzenia czwartorzędowych alfa-aminokwasów do struktury peptydów jest zmiana ich właściwości lipofilowych. Ponadto nienaturalne alfa-aminokwasy (D-aminokwasy, aminokwasy cykliczne) stanowią strukturalnie istotną część wielu aktywnych biologicznie związków, które stosowane są jako leki lub są obecnie w badaniach klinicznych. Stereoizomery cyklicznych alfa-aminokwasów są również ligandami receptora NMDA i jako takie mogą znaleźć zastosowanie w terapii chorób neurodegeneracyjnych, depresji, padaczki czy schizofrenii.

W prezentowanych badaniach opracowano metodę syntezy stereoizomerów kwasu 1-amino-3-hydroksy-pentanokarboksyłowego. Na pierwszym etapie badań opracowano metodę syntezy enancjomerów jodków cyklicznych siarczanów (IV), które jako biselektrofile zostały użyte do alkilacji enancjomerów równoważnika glicyny, pochodnej oksazynonu. Otrzymano w ten sposób cztery diastereoizomery 8-tert-butylo-2-hydroksy-7-metoksy-8-metylo-9-oksa-6-azaspiro[4.5]-dec-6-en-10-onu. Na kolejnym etapie prowadzonych badań ustalono konfigurację absolutną uzyskanych pochodnych za pomocą dwuwymiarowych widm magnetycznego rezonansu protonowego, wykorzystujących efekt Overhausera (NOESY). W tym celu dokonano modyfikacji chemicznej uzyskanych wcześniej związków, polegającej na ich utlenieniu w celu uzyskania pochodnych karbonylowych oraz na estryfikacji grupy hydroksylowej za pomocą enancjomerów kwasu 2-metoksy-2-fenylooctowego. Ostatnim etapem prowadzonych badań była hydroliza 8-tert-butylo-2-hydroksy-7-metoksy-8-metylo-9-oksa-6-azaspiro[4.5]dec-6-en-10-onu do poszczególnych diastereoizomerów kwasu 1-amino-3-hydroksy-pentanokarboksyłowego i ich izolacja w postaci wolnych aminokwasów przy użyciu żywicy jonowymiennej Dowex 50WX8. Otrzymane aminokwasy zostały przekazane do badań, które mają na celu określenie ich powinowactwa do miejsca wiążącego glicynę receptora NMDA.

DOROTA ŁUCJA JARCZEWSKA

## MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA METODY TEORII UGRUNTOWANEJ DO BADAŃ JAKOŚCIOWYCH W MEDYCYNIE RODZINNEJ

Zakład Medycyny Rodzinnej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Metoda teorii ugruntowanej opisana przez Glasera i Straussa zajmuje wciąż wiodącą pozycję wśród metod badań jakościowych w socjologii. W medycynie pozornie niekonkretny schemat badawczy i duża zależność od działań badacza wydają się ograniczać jej możliwości. Jednak zalety to brak prekonceptualizacji ram teoretycznych badania i możliwość konstrukcji koncepcji badawczych opartych („ugruntowanych”) na danych przedstawionych przez uczestników badania przy uwzględnieniu elastycznych narzędzi heurystycznych do analizy badawczej. Metoda teorii ugruntowanej pozwala na pogłębione zrozumienie zjawiska. Opisuje ona precyzyjniej niż metody ilościowe subiektywne przeżycia, umiejętności, uczucia, emocje, działania zwyczajowe, interakcje między ludźmi i role społeczne. Kontekst rodzinny pacjenta jest niepowtarzalnym, dynamicznym systemem, warunkującym zachowania w zdrowiu i chorobie. Aby się do niego odwołać, lekarz rodzinny powinien go dogłębnie poznać i zrozumieć, co pozwoli na uruchomienie zasobów rodziny sprzyjających opiece nad pacjentem. Lekarz rodzinny jako jedyny spośród lekarzy specjalistów reprezentant służby zdrowia pracuje z pacjentem i rodziną w ich naturalnym środowisku.

Podczas prezentacji przedstawiony zostanie przykładowy schemat badania dotyczącego interakcji przewlekle chorego pacjenta w wieku podeszłym, członków jego rodziny i lekarza rodzinnego w zakresie opieki nad tym pacjentem. Schemat oparty jest na metodzie teorii ugruntowanej z dokładnym uwzględnieniem wszystkich jej etapów: wywiady intensywne z ich transkrybowaniem, kodowanie skoncentrowane, zogniskowane kodowanie kategorii, analizowanie i teoryzowanie, dobieranie próbek i przypadków odchyłań, sformułowanie tez badawczych (teorii) podlegających generalizacji.

MAGDALENA JAROSZ, GRZEGORZ SULKA, MARIAN JASKUŁA

## NANOPOROWATY ANODOWY TLENEK TYTANU(IV) JAKO MATERIAŁ NA IMPLANTY KOŚCI

Zespół Elektrochemii, Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Tytan i jego stopy są obecnie najczęściej stosowanymi materiałami w implantach kości. Są to materiały wykazujące wysoką biokompatybilność, wytrzymałość mechaniczną i odporność na korozję. Wadą tych materiałów jest to, że tytan jest inertny, a więc nie może się bezpośrednio połączyć z kością. Obecnie poszukuje się materiałów, które imitują nanochropowatą powierzchnię tkanek. Jednym z takich materiałów jest nanotubularny  $\text{TiO}_2$ , powstały na drodze elektrochemicznego utleniania blaszki Ti. Jego zaletą jest to, że tworzy się on bezpośrednio na blaszce tytanowej oraz jest tani i prosty w otrzymywaniu. Proces anodyzacji pozwala ponadto na precyzyjną kontrolę średnicy porów czy odległości między porami. Jednakże tak otrzymana warstwa  $\text{TiO}_2$  słabo przylega do powierzchni tytanu, co jest dużym problemem w kontekście potencjalnego zastosowania jako implantu kości.

Innym rozwiązaniem jest stworzenie bardzo dobrze przylegającej warstwy nanoporowatego  $\text{TiO}_2$  na powierzchni Ti. Metoda ta opiera się na zastosowaniu anodyzacji w elektrolitach zawierających jony fluorkowe i małą ilość wody. Tak otrzymany nanoporowaty  $\text{TiO}_2$  można następnie zmodyfikować, uzyskując materiały o właściwościach antybakteryjnych.

Nanoporowaty  $\text{TiO}_2$  został przygotowany w wyniku trójstopniowego procesu anodyzacji w elektrolicie na bazie glikolu etylenowego, zawierającego aniony fluorkowe. Proces anodyzacji prowadzony był w temperaturze  $20^\circ\text{C}$ , stosując napięcie międzyelektrodowe równe 40 V. Czas pierwszego i drugiego stopnia anodyzacji wynosił 3 godziny, natomiast trzeciego 10 minut. Proces anodyzacji prowadzony był w celce dwuelektrodowej, w której elektrodą pracującą i przeciw-elektrodą były blaszki tytanowe. Tak otrzymane próbki poddano następnie modyfikacjom. Próbki wygrzano w dwóch temperaturach, otrzymując różne fazy krystaliczne tlenku tytanu(IV). W pory otrzymanego tlenku tytanu(IV) osadzono również nanocząstki srebra.

ANDRZEJ JARYNOWSKI, ANA SERAFIMOVIC, FREDRIK LILJEROS,  
ANDRZEJ GRABOWSKI

## MODELOWANIE ROZPRZESTRZENIANIA SIĘ CHOROÓB PRZENOSZONYCH DROGĄ PŁCIOWĄ, ICH KONSEKWENCJE ORAZ STRATEGIE KONTROLI DLA POLSKI

Zakład Teorii Układów Złożonych, Instytut Fizyki, Uniwersytet Jagielloński; Grupa Modelowania Epidemiologicznego, Karolinska Institutet w Sztokholmie; CIOB Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

W mojej pracy zajmuję się modelowaniem rozprzestrzeniania się chorób przenoszonych drogą płciową, zwłaszcza wirusem brodawczaka ludzkiego. W tym celu wykorzystuję informacje na poziomie indywidualnym i zbiorowych, dotyczące częstotliwości odbywania stosunków seksualnych oraz zmiany parterów. Dodatkowo mamy do czynienia w Polsce ze zmianą norm seksualnych, która to zmiana nie rozkłada się równomiernie po kategoriach wiekowych. Docelowo model ma zagregować najważniejsze ścieżki zakażeń (główna populacja, prostytutki oraz mężczyźni uprawiający seks z mężczyznami) dla najważniejszych patogenów (wirusy: HPV, HSV, HIV, HB(C)V; bakterie: chlamydie, rzeżączki, krętki; grzyby: drożdżaki; inne drobnoustroje: rżęsiutki). Głównym miarodajnym efektem będzie analiza kosztów i strat potencjalnych działań kontroli epidemiologicznej oraz wskazanie problemów, z którymi będzie musiała się zmagać służba zdrowia w przyszłości. Interesuje mnie zwłaszcza porównanie różnych scenariuszy zmiany norm seksualnych na obserwowane dystrybucje zakażeń w czasie oraz uwzględnienie zmian demograficznych, takich jak starzenie się społeczeństwa. Podstawową metodą badawczą są symulacje komputerowe. W tym celu opracowany został model reprezentujący aktywną seksualnie populację Polaków, uwzględniający strukturę wiekową odpowiadającą zarówno charakterystycznej dla danego wieku aktywności seksualnej, jak i podatności na choroby. Seksualność Polaków została estymowana poprzez porównanie występowania poszczególnych patogenów w Polsce i krajach nordyckich przy uwzględnieniu różnic w opiece medycznej, jak na przykład programy przesiewowe. Wstępne wyniki pozwalają szacować, że czeka nas ponowny wzrost zachorowań na raka szyjki macicy w perspektywie najbliższych 10 lat, jeżeli tempo wzrostu liczby nowych partnerów seksualnych utrzyma się na tym samym poziomie. Należy oczekiwać tych zmian mimo wzrostu świadomości społecznej i medycznej w ostatnich latach.

ANNA JASIÓWKA

## WIEDZA MIESZKAŃCÓW MAŁOPOLSKI NA TEMAT WYBRANYCH ASPEKTÓW ZWIĄZANYCH Z TRANSPLANTOLOGIĄ

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

Transplantologia jest dynamicznie rozwijającą się dziedziną medycyny, mającą szczególnie znaczenie ze względu na fakt, że jest ona bardzo często ostatnią szansą na przedłużenie lub uratowanie życia pacjentów, u których inne metody leczenia okazały się nieskuteczne. Polska, jak i inne kraje, boryka się z problemem niewystarczającej liczby dawców. Organizowane są liczne kampanie społeczne, które mają rozpowszechnić wśród ludzi idee dawstwa organów.

Celem prezentowanej pracy było poznanie wiedzy mieszkańców Małopolski na temat wybranych aspektów związanych z transplantologią.

Analizowane dane pochodzą z projektu zrealizowanego w Urzędzie Statystycznym w Krakowie w styczniu 2011 r. W badaniu wzięły udział 774 dorosłe osoby mieszkające na terenie Małopolski.

Ponad 55% respondentów wskazało prawidłowo, że śmierć człowieka następuje w przypadku trwałego, nieodwracalnego ustania czynności mózgu. Wiedza o kryterium śmierci była zależna od miejsca zamieszkania, wykształcenia oraz wieku respondentów. Jedna piąta respondentów (21%) nie miała wiedzy na ten temat. O oświadczeniu woli słyszało ponad 84% badanych. Posiadanie wiedzy o jego istnieniu jak i deklaracja podpisania oświadczenia woli była zależna od miejsca zamieszkania, wieku i wykształcenia. Niewielu badanych (13%) wskazało na zgodę domniemaną jako aktualnie obowiązujące rozwiązanie prawne dotyczące kwestii dawstwa organów. Większy odsetek wskazał zasadę zgody bezpośredniej (35,8%) i pozostawienie decyzji rodzinie osoby zmarłej (16,3%). Brak wiedzy deklarowało 28,4% badanych.

W projekcie zbadano mieszkańców Małopolski pod kątem ich wiedzy na temat dawstwa organów. Otrzymane wyniki wskazują, że wiedza ta nie jest wystarczająca. W związku z tym istnieje konieczność intensyfikacji działań nakierowanych na propagowanie wiedzy w tej dziedzinie.

KATARZYNA JASNOS, MARCIN MAGIEROWSKI, SŁAWOMIR KWIECIEN,  
DANUTA DROZDOWICZ, TOMASZ BRZOZOWSKI

## TLENEK WĘGLA JAKO POTENCJALNY CZYNNIK GASTROPROTEKCYJNY WOBEC OSTRYCH USZKODZEŃ BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA

Zakład Fizjologii Doświadczalnej, Katedra Fizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Tlenek węgla (CO) powstaje w organizmie człowieka jako produkt oksydacyjnej degradacji hemu w reakcji katalizowanej przez enzym oksygenazę hemową. CO odgrywa rolę w transmisji nerwowej, modulacji napięcia ścian naczyń krwionośnych oraz hamowaniu agregacji płytek krwi. Przypuszcza się, że endogenny gazomediator może stanowić integralną składową bariery śluzówkowej żołądka.

**Cel:** Celem badań było wykazanie gastroprotekcyjnych właściwości CO podawanego dożołądkowo w postaci jego donoru CORM-2 oraz określenie dawki hamującej w 50% rozwój uszkodzeń wrzodowych indukowanych etanolem.

**Materiał i metodyka:** Badania prowadzono na szczurach białych rasy Wistar. Zwierzętom podawano dożołądkowo (i.g.) za pomocą metalowej sondy CORM-2 we wzrastających dawkach od 1–10 mg/kg, a następnie po 30 minutach zaaplikowano w ten sam sposób 75% etanol w celu wywołania uszkodzeń. Metodą planimetryczną zmierzono powierzchnię uszkodzeń wrzodowych. Żołądkowy przepływ krwi został zmierzony przy użyciu laserowego przepływomierza Dopplera.

**Wyniki:** W grupach otrzymujących donor CO – CORM-2 zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie powierzchni uszkodzeń błony śluzowej żołądka oraz wzrost żołądkowego przepływu krwi w stosunku do grupy kontrolnej, która otrzymała sól fizjologiczną. Dawką hamującą w 50% powstawanie uszkodzeń wrzodowych była dawka 5 mg/kg m.c.

**Wnioski:** CO uwalniany ze związku będącego jego donorem (CORM-2) wykazuje dawkozależne działanie gastroprotekcyjne względem uszkodzeń błony śluzowej żołądka indukowanych etanolem. Działaniu temu towarzyszy zwiększenie żołądkowego przepływu krwi.



GRZEGORZ JORDAN

## ROLA PENTOKSYFILINY ORAZ NIEZBĘDNYCH NIENASYCONYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH Z GRUPY $\Omega$ -3 W LECZENIU STANU PRZEDRZUCAWKOWEGO

Klinika Położnictwa i Perinatologii, Katedra Ginekologii i Położnictwa, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Stan przedrzucawkowy jest jedną z najpoważniejszych form nadciśnienia tętniczego występującego w ciąży. Mimo licznych hipotez dokładna etiopatogeneza tego schorzenia nie została dotychczas w pełni wyjaśniona, co skutkuje niestety ograniczeniem terapii zachowawczej do postępowania objawowego w postaci stosowania głównie leków hipotensyjnych. Pojawiają się jednak nowe grupy leków, osiągające obiecujące wyniki, szczególnie warte uwagi są pochodne metyloksantyn oraz niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe z grupy  $\Omega$ -3. Całkowite i skuteczne wyleczenie stanu przedrzucawkowego jest możliwe, z uwagi na jego patomechanizm, jedynie przez zakończenie ciąży.

**Cel:** Celem pracy jest poznanie szczegółowego wpływu stosowania NNKT z grupy  $\Omega$ -3, w szczególności DHA, w połączeniu z pentoksyfiliną na leczenie stanu przedrzucawkowego.

**Materiał i metody:** Badanie będzie prowadzone u ciężarnych z ciążą powikłaną stanem przedrzucawkowym, które zostaną losowo przydzielone do jednej z dwóch grup: badanej i kontrolnej. Liczebność każdej grupy będzie wynosić co najmniej 50 ciężarnych. Pacjentki będą leczone zgodnie z obowiązującymi standardami. Dodatkowo grupa badana będzie otrzymywała pentoksyfilinę w dawce 800 mg/d oraz suplementację NNKT z grupy  $\Omega$ -3 w postaci DHA w dawce 1 g/d. W grupie kontrolnej pacjentki nie będą otrzymywać żadnego z badanych leków.

W trakcie badania będziemy zbierać dane dotyczące wartości ciśnienia tętniczego, białkomoczu oraz występowania jakichkolwiek objawów dodatkowych. Dobrostan płodu będzie oceniany pod kontrolą USG. Po porodzie oceniane będą sposób rozwiązania, wiek ciążowy oraz wzrost, masa i punktacja w skali Apgar dziecka.

**Wyniki:** Badanie poszerzy dotychczasową wiedzę na temat etiologii stanu przedrzucawkowego i rozpowszechni stosowanie DHA oraz pentoksyfiliny, co może otworzyć nowe i bardziej skuteczne możliwości profilaktyki i leczenia tego schorzenia.

JOANNA JUREK

## PROCES DROP-OUTU W TERAPII PAR Z PERSPEKTYWY PSYCHOTERAPEUTY. BADANIA JAKOŚCIOWE

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

Problem porzucania leczenia w przypadku terapii rodzin wydaje się ważnym aspektem związanym z funkcjonowaniem jednostek służących pomocą psycho-terapeutyczną. Jak wskazują badania, około 30% rodzin przerywa terapię w okresie pierwszych trzech sesji. Zjawisko porzucania terapii niesie za sobą implikacje zarówno ekonomiczne – związane z niewłaściwym wykorzystywaniem zasobów publicznej służby zdrowia – jak również odnoszące się do sytuacji psychologicznej osób zaangażowanych w udzielanie pomocy, tj. wypalenie zawodowe, poczucie braku skuteczności działań. Celem prezentowanych badań było zatem przyjrzenie się temu, jak terapeuta rozumie zjawisko drop-outu i czy jest w stanie wskazać czynniki będące jego przyczyną.

Do badań włączono pracujących w Zakładzie Terapii Rodzin psychoterapeutów, którzy zostali poproszeni o udzielenie odpowiedzi na pytania otwarte zawarte w półstrukturyowanym wywiadzie. Pytania dotyczyły przebiegu procesów terapeutycznych prowadzonych przez badanych terapeutów, które zakończyły się porzuceniem. Zgodnie z przyjętymi założeniami Metodologii Teorii Ugruntowanej związanymi ze sposobem analizy danych empirycznych na wstępie nie stawiano żadnych hipotez oprócz powiązania pomiędzy drop-outem a percepcją procesu terapii przez terapeutów. Celem analizy danych jakościowych pozyskanych z wywiadów było stworzenie modelu opisującego proces drop-outu z perspektywy terapeutów.

Wylonione w trakcie analizy kategorie oraz przypisane im kody treściowe umożliwiły stworzenie modelu wyjaśniającego badane zjawisko. Terapeuci szukali wyraźnie przyczyn drop-outu zarówno w procesie terapii (w tym we własnych interwencjach), jak i w parze. Często wskazywano na brak nadziei związany z perspektywą jednego lub obojga małżonków oraz brak motywacji do zmiany. W rozumieniu drop-outu ważny okazał się również stosunek emocjonalny terapeutów do rodzin, które były postrzegane przez nich jako trudne.

KAROLINA KACZMARCZYK

## RÓŻNICE W SKŁADZIE KOMÓRKOWYM NACIEKU ZAPALNEGO PODŚCIELISKA NEREK U PACJENTÓW PO PRZESZCZEPIE NERKI

Zakład Patomorfologii Klinicznej i Doświadczalnej, Katedra Patomorfologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Jak wskazują dotychczasowe doniesienia, u pacjentów po przeszczepie nerki, u których w biopsjach zerowych stwierdzono obecność śródmiąższowego włóknienia i zanik kanalików w połączeniu z subklinicznym odrzucaniem, przeżycie przeszczepu jest krótsze niż u pacjentów, u których występowało wyłącznie włóknienie z atrofią lub samo odrzucanie, jak również wśród pacjentów z biopsjami bez patologicznych zmian. Różnice te wynikają najprawdopodobniej z odmiennego w składzie nacieku komórkowego i co za tym idzie ostrzejszego w przebiegu zapalenia.

Postanowiono sprawdzić rodzaj nacieku komórkowego w podścielisku nerek w różnych stanach patologicznych nerek przeszczepionych.

Materiał stanowiło 14 biopsji nerek przeszczepionych. Wykonano odczyny immunohistochemiczne w kierunku tryptazy, chymazy, CD20, CD3, CD68,  $\alpha$ -SMA i CD34. Oznaczono liczbę komórek tryptazo- i chymazo-dodatnich, limfocytów B i T, makrofagów, a także oznaczono odsetek podścieliska kory nerki zajęty przez komórki SMA+ (miofibroblasty) oraz liczbę kapilar okołokanalikowych. Średnia liczba komórek tryptazo-dodatnich wynosiła 18,77/10 pól widzenia, średnia liczba komórek chymazo-dodatnich wynosiła 7,3/10 pól widzenia, średnia liczba limfocytów B i T na 10 pól widzenia wynosiła odpowiednio 39,62 i 148,5 komórek, średni odsetek podścieliska kory nerki zajęty przez komórki SMA+ wynosił 0,4, natomiast średnia liczba kapilar okołokanalikowych wynosiła 0,26. Sprawdzone również korelację pomiędzy poziomem kreatyniny a poszczególnymi wskaźnikami. Korelację dodatnią zaobserwowano jedynie w przypadku stężenia kreatyniny i ilości komórek SMA+. W pozostałych przypadkach korelacja była ujemna. Stwierdzono także większą liczbę makrofagów w przypadkach z rozpoznaniem FSGS; większa liczba limfocytów T występowała podczas odrzucania komórkowego i przewlekłych zmian na poziomie GI.

Uzyskane wstępne wyniki sugerują, że badane komórki uczestniczą w zmianach występujących w nerce przeszczepionej.

MARTA KACZOR-KAMIŃSKA

## WPŁYW METALI CIĘŻKICH NA EKSPRESJĘ ENZYMÓW O AKTYWNOŚCI ZALEŻNEJ OD GRUP SULFHYDRYLOWYCH W WYBRANYCH TKANKACH ŻAB

Zakład Biochemii Ogólnej, Katedra Biochemii Lekarskiej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Związki siarki, w tym białka i enzymy zawierające w swoim centrum aktywnym grupę –SH, pełnią ważną rolę w układach biologicznych. Cysteina w organizmach zwierząt jest m.in. wbudowywana w białka, jest również substratem do syntezy glutationu i może być przekształcana na drodze beztlenowych przemian do związków zawierających siarkę sulfanową. Enzymy związane z powstawaniem i przemianami siarki sulfanowej to rodanaza (transferaza siarkowa tiosiarczan: cyjanek), transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (MPST) i  $\gamma$ -cystationaza ( $\gamma$ -liaza cystationinowa, CST). Wszystkie mają w centrum aktywnym grupę –SH, zasadniczą dla procesu katalizy.

Badania ekspresji genów prowadzone były na osobnikach gatunków *Xenopus tropicalis*, które przez 10 dni poddawane były działaniu jonów ołowiu (28 mg/l), kadmu (40 mg/l) i rtęci (1,353 mg/l).

Badanie ekspresji genów kodujących CST i MPST potwierdziło, że regulacja ekspresji tych dwóch genów może zachodzić na etapie transkrypcji. Zaobserwowano wzrost ekspresji genu kodującego CST w przypadku serca i nerki narażonego na działanie jonów ołowiu (nerka) i rtęci (serce), natomiast w przypadku jonów ołowiu i kadmu ekspresja genu kodującego CST w sercu pozostaje na poziomie porównywalnym do oznaczonego w grupie kontrolnej. W przypadku genu kodującego MPST zaobserwowano obniżenie jego ekspresji w sercu narażonym na każdy z metali ciężkich w porównaniu do grupy kontrolnej (wyniki były skorelowane ze spadkiem aktywności właściwej tego enzymu). W nerkach zaobserwowano wzrost ekspresji genu MPST (ołów). Uzyskane wyniki sugerują, że wzrost reaktywnych form tlenu w odpowiedzi na obecność jonów metali ciężkich prowadzi do wzrostu mRNA dla danego enzymu, co związane jest z zapotrzebowaniem komórki na konkretne białko oraz intensyfikacją przebiegu reakcji, w których bierze ono bezpośredni udział.

ŁUKASZ KACZYŃSKI

## PRAGMATYCZNE BADANIA KLINICZNE I BADANIA OBSERWACYJNE – PEŁNE ŹRÓDŁO INFORMACJI NA TEMAT EFEKTYWNOŚCI PRAKTYCZNEJ TECHNOLOGII MEDYCZNYCH

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

**Wprowadzenie:** Właściwa ocena efektywności praktycznej w ramach raportu oceny technologii medycznych (HTA) ma podstawowe znaczenie dla prawidłowego ustalenia zasadności finansowania danego leczenia ze środków publicznych. Informacji o efektywności praktycznej dostarczają pragmatyczne badania kliniczne z randomizacją (pRCTs) oraz badania obserwacyjne i rejestry chorych. Wyzwaniem jest właściwa ocena jakości obu rodzajów prób, co jest niezbędne, aby uhierarchizować pod względem miarodajności przedstawiane w nich dane kliniczne.

**Materiał i metody:** W celu uzyskania najbardziej aktualnych danych na temat oceny jakości badań pRCTs i obserwacyjnych wykonano dwa przeglądy systematyczne w bazie Medline przez Pubmed, stosując następujące kwerendy: odpowiednio „(pragmatic OR practical OR naturalistic OR real world) AND (design OR project OR quality assessment)” i „(observational studies OR cohort studies OR casecontrol studies OR cross-sectional studies OR follow-up studies) AND (tool OR scale) AND (quality OR validity)”. Okres wyszukiwania: do marca 2013 roku.

**Wyniki:** W wyniku zastosowanych strategii wyszukiwania uzyskano odpowiednio 19651 i 22619 trafień. Odnaleziono szereg kwestionariuszy i narzędzi wykorzystywanych do oceny jakości już opublikowanych prób pRCTs (PRECIS, PR-tool, Pragmascope tool) oraz badań obserwacyjnych (m.in. NOS, NICE i HEB). Użyteczność zidentyfikowanych narzędzi zostanie oceniona w ramach wytycznych CONSORT i STROBE, będących konsensusem dotyczącym sposobu właściwej prezentacji wyników zakończonych badań. Przeprowadzona zostanie również analiza newralgicznych punktów metodologicznych obu rodzajów badań, które powinny stanowić niezbędne elementy kwestionariusza oceny jakości analizowanych rodzajów prób klinicznych.

**Wnioski:** Wykorzystanie właściwych kwestionariuszy do oceny jakości pRCTs w połączeniu z wyodrębnieniem wartościowych informacji z prób bez randomizacji będzie skutkowało uzyskaniem rzetelnych informacji na temat skuteczności nowo wdrażanych terapii w standardowych warunkach realizacji świadczeń opieki zdrowotnej.

ELŻBIETA KALEMBKIEWICZ

## SYNTEZA I WŁAŚCIWOŚCI NOWYCH POCHODNYCH KSANTYN JAKO NARZĘDZI W BADANIACH NAD RECEPTORAMI ADENOZYNOWYMI

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

Do licznej rodziny receptorów GPCR (G-Protein Coupled Receptors) zaliczamy receptory adenozynowe. Wśród nich wyróżniamy 4 podtypy: A1 i A3, które hamują powstawanie cAMP (cykliczny adenozynomonofosforan), oraz A2A i A2B, które stymulują wytwarzanie cAMP. Istnieją liczne doniesienia mówiące o ligandach wykazujących właściwości antagonistyczne w kierunku receptorów adenozynowych, które mogą mieć potencjalne zastosowanie w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Parkinsona lub w leczeniu astmy.

Wśród ligandów receptorów adenozynowych wyróżniamy dwie grupy połączeń: pochodne nieksantynowe i ksantynowe. Pierwszymi pochodnymi zawierającymi w swojej budowie układ ksantyny, dla których zbadano powinowactwo do receptora adenozynowego, były naturalnie występujące kofeina, teofilina i teobromina. We wcześniejszych badaniach własnych poszukiwano ligandów dla receptorów adenozynowych wśród pochodnych imidazo-, pirymidyno- i diazepinopurynodionów.

Celem naszych badań było poszukiwanie nowych ligandów mających właściwości fluorescencyjne w grupie pochodnych ksantyn wykazujących powinowactwo w kierunku receptorów adenozynowych. Zsyntetyzowano nowe związki, zawierające w swojej budowie strukturę trójcykliczną (pirymidynopurynodionu) albo dwucykliczną (trimetylopurynodionu) połączoną łańcuchem alifatycznym z częścią fluorofora (NBD – nitrobenzofurazan). Otrzymane związki poddano badaniom czystości z wykorzystaniem chromatografii cienkowarstwowej, a ich struktury potwierdzono analizą widm <sup>1</sup>H NMR.

Badania były finansowane z funduszu Narodowego Centrum Nauki grant DEC-2012/04/M/NZ4/00219.

### Literatura:

1. Müller C. E. Jacobson K. A., „Biochimica et Biophysica Acta” 2010, 1–19.
2. Kozma E. et al., „Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters” 2013, 26–36.
3. Yuzlenko O., Kieć-Kononowicz K., „Current Medicinal Chemistry” 2006, 13, 3609–3625.
4. Drabczyńska A., Müller C. E., Kieć-Kononowicz K. et al., “Bioorganic and Medicinal Chemistry” 2007, 5003–5017.

KATARZYNA KILAN, PIOTR WARSZYŃSKI

## WPŁYW JONÓW WAPNIA NA POWSTAWANIE I PRZEPUSZCZALNOŚĆ WIELOWARSTWOWYCH FILMÓW POLIMEROWYCH ZAWIERAJĄCYCH ALGINIAN

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

Wielowarstwowe filmy polimerowe otrzymywane metodą LBL (layer-by-layer)<sup>1</sup> znajdują zastosowanie m.in. w medycynie jako funkcjonalne powłoki albo membrany w układach dostarczających leki. Film polimerowy do takich zastosowań powinien wykazywać odpowiednie cechy: biologiczne (tj. biokompatybilność) i fizykochemiczne (m.in. określona grubość i kontrolowana przepuszczalność filmu dla danych związków). Celem niniejszej pracy jest zbadanie wpływu jonów wapnia na własności multiwarstw zbudowanych z alginianu sodu (ALG) i poliargininy (pARG), które na odpowiednich etapach powstawania były kontaktowane z roztworami zawierającymi jony wapnia. Multiwarstwy otrzymano metodą LBL. Metoda ta polega na sekwencyjnej adsorpcji polielektrolitu z jego roztworu na wybranym podłożu. Po zakończeniu adsorpcji następuje etap przemywania i adsorpcja polielektrolitu o przeciwnym znaku. Proces powtarza się do uzyskania pożądanej liczby warstw. Grubości kolejnych warstw otrzymanych układów określono za pomocą mikrowagi kwarcowej (QCM-D) – filmy w warunkach na mokro i za pomocą elipsometrii – filmy suche. Zaobserwowaliśmy silny wzrost grubości kolejnych warstw ze wzrostem stężenia jonów wapnia w roztworach odmywających, co należy tłumaczyć sieciowaniem ALG w warstwach przez  $\text{Ca}^{2+}$ . Do określenia przepuszczalności filmów zastosowano woltamperometrię cykliczną z czynnikami elektrochemicznymi o różnej wielkości. Wraz ze wzrostem liczby warstw zaobserwowaliśmy zmniejszanie się prądów katodowych i anodowych dla wybranych czynników elektroaktywnych, co świadczy o zmniejszającej się przepuszczalności otrzymanych multiwarstw ze wzrostem ich grubości. Pomimo znaczącego wzrostu masy w układach kontaktowanych z jonami  $\text{Ca}^{2+}$ , który zaobserwowano w eksperymentach QCM-D, zmiany w przepuszczalności tych układów nie były widoczne.

Literatura:

1. G. Decher, „Science” 1997, 277, 1232–1237.



KAROLINA KLESIEWICZ, ELŻBIETA KARCZEWSKA, ALICJA BUDAK

## ANALIZA WYSTĘPOWANIA MUTACJI A2143G WARUNKUJĄCEJ OPORNOŚĆ NA KLARYTROMYCYNĘ W SZCZEPACH HELICOBACTER PYLORI

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Zakażenie *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) dotyczy około 58% osób w Polsce (dane PTG-E, 2008). Poważnym problemem w leczeniu zakażeń *H.pylori* jest narastająca oporność szczepów na leki stosowane rutynowo w terapii tego zakażenia. Największy wpływ na niepowodzenie leczenia ma oporność na klarytromycynę, która w Polsce wynosi 28% (dane PTG-E, 2008).

Cel: 1. Ocena częstości występowania szczepów *H.pylori* opornych na klarytromycynę w latach 2010–2012 u pacjentów z chorobami górnego odcinka przewodu pokarmowego na terenie Małopolski. 2. Ocena częstości występowania mutacji A2143G warunkującej oporność na klarytromycynę wśród opornych szczepów *H.pylori*.

Materiał i metody: Badaniami objęto 62 szczepy *H.pylori* wyizolowane od 275 pacjentów, którzy zgłosili się do poradni gastrologicznej. Pacjentom podczas gastroskopii pobrano dwa wycinki błony śluzowej żołądka, z których izolowano szczepy *H.pylori*. Obecność bakterii potwierdzono metodami mikrobiologicznymi. Następnie określono lekowrażliwość szczepów *Helicobacter* metodą ilościową E-test (wartości graniczne wg wytycznych EUCAST v1.3, maj 2011). W celu wykrycia mutacji A2143G dla szczepów opornych na klarytromycynę wykonano reakcję PCR-RLFP z użyciem odpowiednich primerów oraz enzymu Eco31I.

Wyniki: Odsetek zakażeń *H.pylori* w latach 2010–2012 wyniósł 22,6% (62/275). U 19,4% szczepów *H.pylori* stwierdzono oporność na klarytromycynę (12/62). Występowanie mutacji punktowej A2143G w domenie V genu 23SrRNA, potwierdzono u 58,3% szczepów – dla 7 spośród 12 szczepów opornych na klarytromycynę.

Wnioski: Otrzymane wyniki mają istotne znaczenie przy wyborze odpowiedniego schematu leczenia. Stwierdzono, że >50% szczepów *H.pylori* opornych na klarytromycynę, posiadało mutację A2143G. Określenie typu mutacji i dobranie odpowiednich parametrów metod genetycznych może w przyszłości znacznie przyspieszyć diagnostykę oraz umożliwić celowane leczenie i eradykację zakażenia.

MAGDALENA KLIMEK, ANDRZEJ GALBARCZYK, IŁONA NENKO,  
GRAŻYNA JASIEŃSKA

## KARMIENIE PIERSIĄ A ROZMIARY CIAŁA DZIECKA: ZNACZENIE DLA ZDROWIA PUBLICZNEGO

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

Karmienie piersią jest rekomendowane przez międzynarodowe organizacje zajmujące się promocją zdrowia jako działanie szczególnie istotne dla zapobiegania rozwojowi nadwagi i otyłości wśród dzieci. Mleko matki posiada unikalną kompozycję składników odżywczych, mineralnych i witamin idealnie dostosowanych do potrzeb nowo narodzonego dziecka oraz naturalnie limitowaną zawartość energetyczną w porównaniu do mleka modyfikowanego. Dzięki tak skomponowanemu, naturalnemu pokarmowi masa ciała dziecka może utrzymywać się na optymalnym poziomie.

**Cel:** Ocena zależności pomiędzy długością okresu karmienia piersią a rozmiarami ciała (wysokość ciała, masa ciała, procent tkanki tłuszczowej) kobiet.

**Materiał i metody:** W badaniu wzięło udział 377 kobiet w wieku do 30 lat, uczestniczek projektu badawczego „Mogielica XXI: Jakość życia i zdrowie”, zamieszkałych na terenie Beskidu Wyspowego. Kwestionariusze osobowe oraz pomiary antropometryczne zostały wykonane w latach 2003–2010. Na podstawie siatek centylowych dla polskich kobiet oceniono stopień odchylenia masy ciała poszczególnych uczestniczek od 50. percentyla w danej grupie wiekowej.

**Wyniki:** Kobiety dłużej karmione piersią charakteryzowały się niższą masą ciała ( $P=0,02$ ) w stosunku do normy (50. percentyl) oraz niższym procentem tkanki tłuszczowej po uwzględnieniu wieku ( $P=0,02$ ). Nie stwierdzono natomiast związku pomiędzy długością okresu karmienia piersią a wysokością ciała ( $P=0,1$ ).

**Wnioski:** Krótsze karmienie piersią (oznaczające wcześniejsze wprowadzenie do diety dziecka mleka modyfikowanego) może wpływać na wzrost jego masy ciała w wyniku dostarczania dziecku zbyt wysokich dawek energetycznych, co może prowadzić do nadwagi i otyłości oraz chorób w dorosłości. Podsumowując, zwiększenie świadomości młodych matek w kwestii znaczenia karmienia piersią w rozwoju dziecka powinno stanowić element programów Zdrowia Publicznego w zakresie promocji zdrowia oraz prewencji nadwagi i otyłości wśród dzieci.

KAMILA KOCHAN, ALEKSANDRA KORZENIOWSKA, EDYTA MAŚLAK,  
MAŁGORZATA BARAŃSKA, STEFAN CHŁOPICKI

## CZY DIETA MA ZNACZENIE? BADANIE WPŁYWU DIETY WYSOKOBIAŁKOWEJ I NISKOWĘGLOWODANOWEJ NA ROZWÓJ NIEALKOHOLOWEGO STŁUSZCZENIA WĄTROBY W MYSIM MODELU MIAŻDŻYCY ZA POMOCĄ TECHNIK OBRAZOWANIA

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków JCET,  
Uniwersytet Jagielloński; Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uni-  
wersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Miażdżycy jest jedną z najniebezpieczniejszych chorób cywilizacyjnych współczesnego świata. Równocześnie stanowi ona dodatkowy czynnik ryzyka dla rozwoju niealkoholowego stłuszczenia wątroby (ang. NAFLD, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease)<sup>1</sup>. Badania nad miażdżycą wykazały znaczący wpływ sposobu żywienia na jej progresję, szczególnie w przypadku diety o wysokiej zawartości białek w stosunku do węglowodanów (ang. LCHP, Low Carbohydrate High Protein)<sup>2</sup>. Spośród szerokiej gamy technik badawczych niezwykłą przydatnością w stosunku do materiałów biologicznych charakteryzują się metody obrazowania spektroskopowego, gwarantujące uzyskanie informacji na poziomie molekularnym nie tylko na temat składu, ale także dystrybucji wybranych substancji<sup>3</sup>. Celem prezentowanej pracy była ocena wpływu diety LCHP na rozwój niealkoholowego stłuszczenia wątroby w mysim modelu miażdżycy (ApoE/LDLr<sup>-/-</sup>) oraz określenie skuteczności terapii kwasem nikotynowym za pomocą obrazowania technikami spektroskopii oscylacyjnej (mapowania ramanowskiego oraz obrazowania w podczerwieni). Jako metodę referencyjną zastosowano barwienia histochemiczne, stanowiące „złoty standard” w zakresie badań nad wątrobą. Wyniki potwierdzają duży wpływ diety LCHP na progresję stłuszczenia wątroby, a także wyraźne działanie hamujące kwasu nikotynowego. Ponadto, mapowanie ramanowskie pozwoliło określić stopień nienasylenia lipidów w stłuszczeniach, ujawniając istotne różnice w zależności od diety.

### Literatura:

1. A. Brea et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25: 1045–1050.
2. R. Kostogrys et al., *Atherosclerosis*, 2012, 223: 327–331.
3. K. Majzner et al., *Analyst.*, 2013, 138: 603–610.

Podziękowania: Praca była finansowana przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (grant koordynowany przez JCET-UJ, POIG.01.01.02-00-069/09). Pragniemy również podziękować panu Antoniemu Borgiaszowi oraz prof. Renacie Kostogrys z Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie za hodowlę i udostępnienie myszy ApoE/LDLR-/- do przeprowadzonych badań.

PAULINA KOCZURKIEWICZ, IRMA PODOLAK, KATARZYNA WÓJCIK,  
AGNIESZKA GALANTY, ZBIGNIEW JANECZKO, JAROSŁAW CZYŻ,  
MARTA MICHALIK

## SYNERGISTYCZNY EFEKT SAPONINY TRITERPENOWEJ LCLET 4 STOSOWANEJ ŁĄCZNIE Z MITOKSANTRONEM NA LUDZKIE KOMÓRKI NOWOTWORU PROSTATY

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Saponiny triterpenowe to szeroko rozpowszechniona w świecie roślin wyższych grupa metabolitów wtórnych. Związki te zbudowane są z części niecukrowej zwanej aglikonem, który w przypadku saponin triterpenowych jest pochodną triterpenową, oraz z części cukrowej zwanej glikonem, w skład której wchodzi 1-3 reszt cukrowych. Ze względu na szeroką rozpiętość strukturalną saponiny posiadają szereg ciekawych właściwości biologicznych i farmakologicznych. Do najciekawszych aktywności farmakologicznych saponin należą działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne oraz ostatnio bardzo intensywnie badana aktywność przeciwnowotworowa.

W zależności od budowy chemicznej saponiny mogą różnie wpływać na komórki nowotworowe, wywołując efekt cytotoksyczny poprzez indukcję apoptozy, prowadząc do zmian w dystrybucji cyklu komórkowego i hamując angiogenezę oraz inwazyjność komórek nowotworowych. Badania pokazują, że obiecujące wyniki uzyskuje się, stosując saponiny w terapiach łączonych z obecnie stosowanymi chemioterapeutykami. W ten sposób można obniżyć dawkę chemioterapeutyku przy zachowaniu skuteczności działania względem komórek nowotworowych oraz podnieść selektywność działania związków przy jednoczesnym obniżeniu toksyczności względem komórek prawidłowych organizmu.

Celem pracy było zbadanie synergistycznego wpływu saponiny triterpenowej (Lclet 4) izolowanej z rośliny *Lysimachia clethroides*, stosowanej łącznie z lekiem przeciwnowotworowym – mitoksantronem – na podstawowe cechy ludzkich komórek nowotworu prostaty DU-145 kluczowe dla ich potencjału inwazyjnego.

Analiza porównawcza efektów cytostatycznych i pro-apoptotycznych wykazała, że saponina Lclet 4 stosowana łącznie z mitoksantronem wyraźnie obniża potencjał inwazyjny komórek nowotworowych (DU-145) w dawkach nietoksycznych dla komórek prawidłowych prostaty ludzkiej (PNT2). Co więcej, efekt ten występuje tylko przy równoczesnym podawaniu związków, podczas gdy każdy z osobna nie wykazuje takiego działania.

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

## MECHANIZM DZIAŁANIA SELENO-KRZEMOWYCH POCHODNYCH PEPTYDÓW W PROCESIE KARCINOGENEZY W MODELACH IN-VITRO

Pracownia Genetyki i Biologii Molekularnej, Katedra Fizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Proces karcinogenezy obejmuje wiele stadiów prowadzących od transformacji komórek prawidłowych, poprzez stadia przedrakowe, aż do zaawansowanych form raka zdolnych do tworzenia przerzutów. Najnowsze doniesienia wskazują, że zarówno w długofalowym leczeniu zapobiegającym powstawaniu nowotworów, jak i jako leki antynowotworowe mogą być wykorzystywane związki selenu. Z kolei krzemowe mimetyki peptydów wykazują hamujące działanie na metaloproteinazy, wskazując na ich potencjał w walce z powstawaniem przerzutów.

Celem niniejszej pracy jest zbadanie selenometioniny (SeMet), egzogennych  $\alpha$ -aminokwasów zawierających atom krzemu oraz seleno-krzemowych pochodnych peptydów jako potencjalnych regulatorów przebiegu najważniejszych szlaków związanych z proliferacją i ekspansją komórek nowotworowych, tj. szlaku sygnałowego białek WNT oraz metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP). Zbadany zostanie również ich wpływ na apoptozę.

Badania prowadzone są w modelu *in vitro* z użyciem ludzkich nowotworowych linii komórkowych jelita grubego: HT-29 oraz trzustki: Panc1. Jak dotąd komórki były poddawane 48-godzinnej inkubacji ze wzrastającymi stężeniami SeMet. Badania wykazały istotne statystycznie zahamowanie wzrostu komórek po zastosowaniu stężenia 225  $\mu$ M dla Panc1 oraz 125  $\mu$ M dla HT-29. Różnice w stężeniach można tłumaczyć specyfiką tkankową nowotworu. Obecnie podejmowana jest próba oceny wpływu stymulacji SeMet na poziom ekspresji genów pro- i antyapoptotycznych (Bax, Bcl-2, XIAP) oraz  $\beta$ -kateniny w komórkach nowotworowych. Na kolejnych etapach badań stymulacja zostanie przeprowadzona z użyciem seleno-krzemowych pochodnych peptydów. Zbadany zostanie ich wpływ na stopień ekspresji i aktywacji białek, a także zdolność komórek do migracji.

W oparciu o opublikowane teksty i wstępne wyniki badań można postawić hipotezę, że związki seleno-krzemowe mogą stanowić ważną grupę leków przeciwnowotworowych, wykazujących swoje działanie poprzez hamowanie wzrostu i ekspansji komórek nowotworowych.

JOANNA KOSAŁKA, KATARZYNA MACIKOWSKA, AGATA SKRZYPEK,  
MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ, AGNIESZKA WRÓBEL, DOMINIKA STETTNER

## DIAGNOSTYKA RADIOLOGICZNA A RZECZYWISTOŚĆ KLINICZNA

Oddział Alergii i Immunologii, II Katedra Chorób Wewnętrznych; Uniwersytecka Klinika Stomatologiczna; Oddział Kliniczny Dermatologii, Katedra i Klinika Dermatologii; Oddział Kliniczny Otolaryngologii; Oddział Kliniczny Położnictwa i Perinatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wprowadzenie:** Badanie ortopantomograficzne jest jednym z podstawowych badań diagnostycznych współczesnej stomatologii, stanowiąc istotny element, który w połączeniu z oceną kliniczną oraz innymi niezbędnymi w danych przypadkach metodami pozwala na postawienie prawidłowej diagnozy i podjęcie adekwatnych czynności terapeutycznych.

**Cel:** Celem było przedstawienie przypadków klinicznych, w których tego rodzaju badanie obrazowe nie w pełni znajduje przełożenie na obraz śródzabiegowy.

**Materiał i metody:** Do badania zostali włączeni pacjenci leczeni w Ambulatorium Chirurgii Stomatologicznej Uniwersyteckiej Kliniki Stomatologicznej w Krakowie. We wszystkich przytoczonych przypadkach diagnostyka została oparta na badaniu klinicznym oraz radiologicznym w postaci zdjęcia ortopantomograficznego. Pacjenci zostali poddani leczeniu chirurgicznemu między innymi w związku z zaostrzeniem przewlekłego zapalenia okołowierzchołkowego powikłanego stanem zapalnym przyzębia brzęznego zz.16,17, podejrzeniem torbieni zawiązkowej całkowicie zatrzymanego z.18, destrukcją korony z.28 w przebiegu choroby próchnicowej.

**Wnioski:** Na podstawie przedstawionych przypadków można stwierdzić, że obraz radiologiczny widoczny na zdjęciach ortopantomograficznych nie zawsze w pełni koreluje z obserwowanym obrazem śródzabiegowym, jednakże jest fundamentalnym badaniem ułatwiającym odpowiednie rozpoznanie. Biorąc pod uwagę powyższe obserwacje, należy stwierdzić, że w niektórych przypadkach pożądane byłoby wykonanie dodatkowo tomografii komputerowej, umożliwiającej bardziej precyzyjne opisanie danej sytuacji klinicznej.

AGNIESZKA KOTLARZ, KAZIMIERZ PITYŃSKI, ANTONI BASTA

## ROLA LIMFANGIOGENEZY W PROCESIE NOWOTWOROWYM W RAKU SROMU

Klinika Ginekologii i Onkologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Rak sromu jest jednym z rzadszych nowotworów. Stanowi 1% nowotworów złośliwych występujących u kobiet oraz 5% nowotworów złośliwych narządu rodnego. Rokowanie wiąże się ze stanem regionalnych węzłów chłonnych oraz stopniem zaawansowania choroby. Postępowaniem z wyboru jest leczenie chirurgiczne. Ze względu na większą liczbę młodych, aktywnych seksualnie kobiet chorujących na raka sromu podjęto wysiłki celem wprowadzenia praktyki leczenia oszczędzającego. Główną przyczyną niepowodzeń leczenia nowotworów złośliwych są przerzuty. Poznanie mechanizmów przerzutowania było możliwe po odkryciu markerów oraz czynników wzrostu dla naczyń limfatycznych. W badaniach na modelach zwierzęcych zauważono, że przed wystąpieniem przerzutu do węzłów chłonnych dochodzi do zmian w węzle. Ostatnie dane kliniczne wskazują, że przerzuty do węzłów chłonnych odgrywają istotną rolę w systemowym rozsiewie nowotworu. Możliwość przewidzenia przerzutowania pierwotnego guza może wpłynąć na postępowanie terapeutyczne.

**Cel:** Ocena nowotworzenia naczyń limfatycznych w guzie oraz w węzłach chłonnych wartowniczych u kobiet operowanych z powodu raka sromu.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u kobiet leczonych operacyjnie z powodu raka sromu. Obliczono gęstość naczyń limfatycznych w guzie nowotworowym, na granicy guz-podścielisko oraz w węzłach chłonnych wartowniczych. Wyniki opracowano statystycznie i odniesiono do podstawowych cech patomorfologicznych raka sromu.

**Wyniki:** Nowotworzenie naczyń limfatycznych stwierdzono w guzie, na granicy guz-podścielisko i w węzłach wartowniczych z przerzutami i bez przerzutów nowotworowych. Stwierdzono korelację pomiędzy limfangiogenazą w guzie i na granicy guz-podścielisko. Nie zaobserwowano współzależności pomiędzy limfangiogenazą zachodzącą w guzie i węzłach wartowniczych a wielkością guza i stopniem zróżnicowania histologicznego.

**Wnioski:** Proces limfangiogenezy obecny jest w guzie nowotworowym oraz w węzłach chłonnych wartowniczych, także przed wystąpieniem przerzutów.



PAULA KOWALCZYK

## SYNTEZA I BADANIA SAR WŚRÓD N-BENZYLOAMIDOWYCH ANALOGÓW KWASU 4-HYDROKSYBUTANOWEGO JAKO POTENCJALNYCH INHIBITORÓW GAT

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

Literatura przedmiotu wskazuje, że wiele schorzeń neurologicznych, takich jak padaczka, lęk, ból neuropatyczny, płasawica Huntingtona, choroba Parkinsona oraz niektóre formy schizofrenii, jest wynikiem zmniejszenia się aktywności hamującej układu GABA-ergicznego. Jednym z wielu sposobów regulacji zaburzeń tego układu jest ograniczenie wychwytu zwrotnego kwasu 4-aminobutanowego (GABA), głównego neuroprzekaźnika hamującego w OUN. Można to osiągnąć w wyniku zahamowania poszczególnych izoform transporterów GABA, tak zwanych białek GAT (GAT1-GAT4). Tymczasem jedynym lekiem o takim mechanizmie działania jest stosowana w terapii padaczki tiagabina. Jednakże z powodu szeregu niekorzystnych właściwości farmakologicznych jej zastosowanie jest ograniczone. Dlatego też poszukiwane są nowe i selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego GABA, które byłyby bardziej efektywne i miały lepszy profil tolerancji.

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

Kontynuując powyższe badania, postanowiono określić, w jakim stopniu uwodornienie wiązania podwójnego we fragmencie aromatycznym cząsteczki wpływa na powinowactwo otrzymanych związków do transporterów GAT. W związku z tym w pozycji 2. kwasu butanowego wprowadzono ugrupowanie: 4,4-difenylobutanyloaminowe lub N,N-(metylo)(4,4-difenylo)butanyloaminowe przy zachowaniu stałego trzonu N-benzyloamidu GHB.

Zaplanowane modyfikacje pozwoliły na otrzymanie dwóch serii związków, które zostały przekazane do badań *in vitro* wobec poszczególnych podtypów białek GAT (mGAT1-4). Uzyskane wyniki pozwoliły określić wstępne zależności pomiędzy strukturą a aktywnością w tej grupie połączeń.

JADWIGA KRYCZYK, MIROSLAW BARTYZEL, EWA OCHAB,  
ANNA BŁAŻEWSKA-GRUSZCZYK, MARIAN SŁOWIACZEK,  
PAWEŁ ZAGRODZKI

## ANALIZA ZASOBÓW JODU W ORGANIZMIE PACJENTEK Z CHOROBAŁ HASHIMOTO

Zakład Bromatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Instytut Fizyki Jądrowej, Polska Akademia Nauk, Kraków; CM „DIAGNOZA”, Kraków

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zachorowań na autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto. Ta przewlekła choroba należy do głównych niejątrrogennych przyczyn niedoczynności gruczołu tarczowego. Częściej dotyka ona kobiet niż mężczyzn, zwykle pomiędzy 35. a 50. rokiem życia. Etiologia choroby Hashimoto wciąż pozostaje niejasna. Przypuszcza się jednak, iż jest ona wypadkową interakcji pomiędzy uwarunkowaniami genetycznymi a czynnikami środowiskowymi, m.in. nadmiernym spożyciem jodu.

Celem pracy była analiza zawartości jodu w diecie oraz w próbkach porannego moczu pacjentek z niedawno rozpoznaną chorobą Hashimoto. Badaniami objęto grupę 13 kobiet w przedziale wiekowym 21–48 lat.

Analiza zawartości jodu w diecie dokonywana była na podstawie 24-godzinnego wywiadu żywieniowego. Aby zwiększyć dokładność tej oceny, ankietę żywieniową przeprowadzano z każdą pacjentką dwu- lub trzykrotnie (w czasie kolejnych wizyt w Centrum Medycznym „DIAGNOZA” w Krakowie). Celem ułatwienia oszacowania wielkości posiłku wykorzystywany był „Album Fotografii Produktów i Potraw” opracowany przez Instytut Żywności i Żywienia. Do obliczenia zawartości jodu w jednodniowym jadłospisie służył program komputerowy Dieta 5D opracowany w Samodzielnej Pracowni Epidemiologii i Norm Żywienia Instytutu Żywności i Żywienia. Tak uzyskane wartości porównywane były z aktualną normą żywieniową RDA. Pomiaru jodu w moczu dokonano za pomocą zmodyfikowanej metody Sandella i Kolthoffa, opartej na katalitycznym działaniu jodu w reakcji ceru(IV) z arsenem(III). Mocz poranny zbierano od poszczególnych osób przez 5 kolejnych dni. Stężenie jodu w moczu wyznaczono przy użyciu spektrometru UV-VIS Helios- $\alpha$  (Spectronic Unicam, Leeds, Wielka Brytania). W pracy dokonano porównania wielkości spożycia jodu oszacowanego na podstawie wywiadu żywieniowego oraz na podstawie stężenia tego pierwiastka w moczu.

ANNA KRZTOŃ-KRÓLEWIECKA

## OBCIĄŻENIE PRACĄ I ZAKRES USŁUG ŚWIADCZONYCH W PODSTAWOWEJ OPIECE ZDROWOTNEJ Z PERSPEKTYWY LEKARZY SYSTEMU. BADANIE „QUALITY AND COSTS IN PRIMARY CARE” W POLSCE – WSTĘPNE WYNIKI

Zakład Medycyny Rodzinnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wprowadzenie:** Podstawowa opieka zdrowotna (POZ) jest pierwszym poziomem opieki profesjonalnej, do której pacjenci kierują swoje potrzeby zdrowotne i która zaspokaja większość potrzeb profilaktycznych i terapeutycznych populacji. Lekarze jako główni świadczeniodawcy POZ i bezpośredni obserwatorzy są w stanie dostarczyć wiarygodnych, rzeczywistych danych o funkcjonowaniu podstawowej opieki zdrowotnej w Polsce. Celem badania jest analiza obciążenia pracą, identyfikacja zakresu usług świadczonych w POZ i ocena ich jakości z perspektywy lekarzy systemu.

**Materiał i metoda:** Badanie jest badaniem ankietowym w ramach międzynarodowego projektu QualicoPC – Quality and Costs in Primary Care in Europe, mającego na celu porównanie jakości i kosztów opieki w podstawowej opiece zdrowotnej w 31 krajach Europy oraz w Izraelu, Australii i Nowej Zelandii. W Polsce obejmuje 220 losowo wybranych lekarzy POZ z województw małopolskiego, podlaskiego i zachodniopomorskiego, którzy zostali poproszeni o wypełnienie międzynarodowego kwestionariusza, przetłumaczonego i dostosowanego do warunków polskich.

**Wyniki:** Całkowity tygodniowy czas pracy lekarza POZ wynosi średnio 39 godzin (min. 6 godzin, maks. 99 godzin). 11% badanych lekarzy pracuje więcej niż 48 godzin/tydzień. Lekarz POZ przyjmuje średnio 35 pacjentów dziennie (min. 5 pacjentów, maks. 80 pacjentów). Prawie wszyscy lekarze POZ są włączeni w leczenie zapalenia płuc, niepowikłanej cukrzycy typu 2 oraz przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Około 10% lekarzy POZ w ramach swojej praktyki przeprowadza drobne zabiegi chirurgiczne, takie jak wycięcie torbieli łojowej skóry głowy, wycięcie wrastającego paznokcia.

**Wnioski:** Lekarze POZ zajmują się głównie problemami internistycznymi. Procedury „małej chirurgii” są w POZ wykonywane sporadycznie. Po zakończeniu badania w skali międzynarodowej możliwa będzie ocena wyników z Polski w szerszym kontekście.

MARCIN KRZYKAWSKI

## BADANIE UNACZYNIENIA MODELU GUZA MYSIEGO PAN\_02

Zakład Immunologii, Katedra Immunologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Nowotwory trzustki są jednymi z najbardziej zjadliwych nowotworów. Mimo wielu badań i coraz lepszego zrozumienia choroby wciąż brakuje skutecznych terapii. Bardzo wysoka śmiertelność wynika z unaczynienia guza i wysokiej przerzutowości.

Istnieje wiele modeli nowotworów wszczepiennych, jednak brak całościowych i opracowanych danych na temat samego guza przysparza wielu problemów naukowcom. Każdy, kto chce przeprowadzić eksperyment na danym modelu nowotworowym, musi przeprowadzać eksperymenty wstępne na własną rękę, często uzyskując tylko częściowe dane.

W niniejszej pracy został opisany model guza mysiego PAN\_02, jego unaczynienie i przerzutowość. Unaczynienie guza zostało zbadane za pomocą ultrasonografu dopplerowskiego i immunohistochemii. Po uśmierceniu myszy zbadano jego morfologię i przerzutowanie. Dane opracowano na podstawie długotrwałej obserwacji wzrostu guza.

Model guza PAN\_02 charakteryzuje się wysokim potencjalnym do przerzutowania i nierównym unaczynieniem. Ze względu na to sugerujemy, że PAN\_02 może dobrze naśladować nowotwory ludzkie.

TEOFILA KSIĄŻEK, WALENTYNA BALWIERZ

## MARKERY MOLEKULARNE CHOROBY RESZTKOWEJ U DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ

Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Ostra białaczka szpikowa (AML) stanowi około 15% przypadków złośliwych nowotworów układu krwiotwórczego występujących u dzieci. Pomimo stosowania intensywnych metod leczenia uzyskiwane wyniki terapii są ciągle niezadowalające (około 50% wyleczeń). Lepsze poznanie biologii tej choroby umożliwi bardziej precyzyjną ocenę odpowiedzi na prowadzoną terapię, a oznaczanie minimalnej choroby resztkowej (MRD) może przyczynić się do poprawy wyleczalności dzięki wyodrębnieniu nowych czynników rokowniczych i indywidualizacji leczenia.

Celem przeprowadzonego badania było oznaczenie częstości występowania nieprawidłowości molekularnych i ich przydatności do oznaczenia MRD u dzieci z AML. Do oznaczenia występowania specyficznych markerów molekularnych blastów białaczkowych – genów fuzyjnych /AML1 – ETO, PML – RAR $\alpha$ , CBF $\beta$  – MYH11/ oraz nadekspresji genu WT1 – zastosowano ilościową reakcję Real – time PCR.

Genotypowanie molekularne wykonano u 181 dzieci z nowo rozpoznaną AML leczonych w Polsce według jednolitego programu AML – BFM 2004 INTERIM. Materiał do analizy stanowiło RNA wyizolowane z komórek mononuklearnych pochodzących ze szpiku kostnego pobranego od pacjentów przy ustalaniu diagnozy. Występowanie genów fuzyjnych AML1 – ETO, PML – RAR $\alpha$ , CBF $\beta$  – MYH11 stwierdzono odpowiednio u: 16%, 4,4% i 7,7% dzieci. Analizę ekspresji genu WT1 przeprowadzono u 158 pacjentów, nadekspresja tego genu wystąpiła u 81% dzieci.

Przydatność wykorzystania metod molekularnych do śledzenia zmian poziomu MRD w AML nie została dotychczas jednoznacznie określona. Istotne jest prowadzenie dalszych badań w celu opracowania standardowego protokołu oznaczania poziomu MRD, który pozwoli na bardziej precyzyjną kwalifikację pacjentów do odpowiedniego sposobu leczenia i tym samym zwiększenia wyleczalności w AML.

PAULINA KUBOWICZ, PAWEŁ ZAJDEL, MACIEJ PAWŁOWSKI,  
KRZYSZTOF MARCINIEC, ELŻBIETA PĘKAŁA

## BADANIE BIOTRANSFORMACJI I STABILNOŚCI METABOLICZNEJ NOWYCH POCHODNYCH ARIPIPRAZOLU – W POSZUKIWANIU DOSKONAŁEGO LEKU PRZECIWDOPRESYJNEGO

Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Katedra Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Chemii Organicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny

Metabolizm jest jednym z ważnych procesów farmakokinetycznych, którym może podlegać lek w organizmie. Utworzone metabolity często decydują o kierunku i skuteczności farmakoterapii. Obecnie już na etapie badań przedklinicznych próbuje się poznać drogi biotransformacji substancji o charakterze potencjalnych leków<sup>1</sup>.

Celem naszych badań było porównanie metabolizmu aripiprazolu, neuroleptyku stosowanego m.in. w przebiegu schizofrenii, z trzema jego pochodnymi sulfonamidowymi, których synteza nakierowana była na otrzymanie połączeń o szerszym zakresie działania niż lek referencyjny<sup>2</sup>.

W badaniach zastosowano model *in vitro* wykorzystujący mikrosomy wątrobowe, które inkubowano w środowisku buforowym z badanymi związkami w obecności kofaktora. W celu określenia stabilności metabolicznej nowych pochodnych i porównania jej ze stabilnością aripiprazolu eksperymenty prowadzono w kilku odstępach czasowych. Przebieg reakcji biotransformacji i finalne metabolity oceniano przy pomocy techniki LCMS/MS.

Najbliższy analog aripiprazolu, PZ387, charakteryzował się podobną do niego stabilnością. Natomiast związek PZ549 – różniący się długością łącznika węglowego, wykazujący bardzo silne działanie przeciwdepresyjne w badaniach na myszach – okazał się niestabilny metabolicznie. Struktura PZ508 o wyraźnie zaznaczonej aktywności antypsychotycznej w ogóle nie ulegała biotransformacji.

Na podstawie przeprowadzonych analiz wydaje się, iż zastąpienie ugrupowania eterowego – występującego w aripiprazolu – fragmentem sulfonamidowym, jak również długość linkera węglowego mają istotne znaczenie dla właściwości farmakologicznych nowych pochodnych i ich stabilności.

Przeprowadzone badania potwierdzają, iż modele *in vitro* wykorzystujące frakcje wątrobowe są szybkim, stosunkowo tanim, etycznie akceptowalnym oraz użytecznym narzędziem na etapie badań przedklinicznych nowych kandydatów na lek.

Literatura:

1. P. Fasinu i in., *Curr. Drug. Metab.*, 2012, 215–224.
2. P. Zajdel i in., *Eur. J. Med. Chem.*, 2013, 42–50.

KAMIL KUŚ, JOANNA SZYMURA-OLEKSIK

## BADANIE AKTYWNOŚCI WYBRANYCH IZOENZYMÓW CYTOCHROMU P450 U SZCZURÓW

Zakład Farmakokinetiki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET)

Metabolizm leku jest jednym z najważniejszych procesów farmakokinetycznych, decydujących o szybkości jego eliminacji oraz stężeniu we krwi. Większość reakcji I fazy biotransformacji jest przeprowadzana przez izoenzymy cytochromu P450, z których najbardziej istotne to CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 oraz 3A metabolizujące ponad 90% leków. Ocena wzajemnej relacji enzym – badany związek w aspekcie indukcji lub inhibicji enzymatycznej stanowi ważną część badań metabolizmu potencjalnych leków. Tego typu analizy realizowane są już we wczesnych etapach przedklinicznej oceny profilu farmakokinetycznego nowych związków.

Celem pracy było oznaczenie aktywności wybranych izo-enzymów cytochromu P450 u szczurów z zastosowaniem techniki LC/MS/MS.

W badaniu zastosowano mieszaninę („koktajl”) specyficznych substratów poszczególnych izoenzymów (dla CYP1A2 – fenacetyna, CYP2C9 – tolbutamid, CYP2C19 – mefenytolina, CYP2D6 – bufuralol, CYP2E1 – chlorzoksazon oraz CYP3A – midazolam). Substancje te inkubowano z frakcją mikrosomalną wątroby szczura, a następnie ilościowo oznaczano ich specyficzne metabolity z zastosowaniem techniki LC/MS/MS. Zbadano kinetykę tych reakcji, wyznaczając podstawowe parametry kinetyczne, takie jak szybkość maksymalna ( $V_{max}$ ) oraz stała Michaelisa-Menten ( $K_m$ ).

Opracowaną metodę zastosowano do badania aktywności izoenzymów cytochromu P450 w obecności specyficznych inhibitorów. W tym celu do mieszaniny inkubacyjnej zawierającej poszczególne substraty enzymów dodawano inhibitory (furfuralinę dla CYP1A2, sulfafenazol dla CYP2C9, N-3 (+) benzylnirwanol dla CYP2C19, chinidynę dla CYP2D6, disulfiram dla CYP2E1 oraz ketokonazol dla CYP3A) oraz wyznaczano wartości  $IC_{50}$ .

Metoda ta, dzięki stosunkowo niskim kosztom i krótkiej analizie oraz wysokiej wydajności, może być stosowana w badaniach przesiewowych (HTS) metabolizmu nowych związków, potencjalnych leków.



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

KATARZYNA KUŚMIERSKA-URBAN

## ROLA POLIMORFIZMÓW GENETYCZNYCH UKŁADU RENINA-ANGIOTENSYNA W ETIOPATOGENEZIE NADCIŚNIENIA CIĄŻOWEGO I STANU PRZEDRZUCAWKOWEGO

Oddział Kliniczny Kliniki Położnictwa i Perinatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Stan przedrzucawkowy i nadciśnienie indukowane ciążą stanowią złożone i wieloczynnikowe schorzenia uwarunkowane genetycznie i środowiskowo. Proponowane patomechanizmy schorzeń obejmują odpowiedź zapalną, wzrost stresu oksydacyjnego czy dysfunkcję śródbłonka. W ostatnich latach istotną rolę w etiopatogenezie zaburzeń ciśnienia w ciąży przypisuje się zmienności genetycznej genów kodujących w układzie renina-angiotensyna, w którym szczególną rolę odgrywa angiotensynogen oraz kodujący go gen posiadający liczne polimorfizmy. Wykrycie zmian genetycznych predysponujących do wystąpienia zaburzeń ciśnienia w ciąży pozwoli na wczesne rozpoznanie oraz obserwację wraz z odpowiednio wcześniej włączonym leczeniem dostosowanym do potrzeb danej pacjentki.

W prawidłowo przebiegającej ciąży obserwujemy zmiany w układzie krążenia obejmujące obniżenie oporu naczyniowego z następowym obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi oraz powiększenie objętości krwi krążącej. Jednym z odpowiedzialnych za to mechanizmów jest stymulacja układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz zmiany stężenia i aktywności poszczególnych składowych. Przedmiotem badania są polimorfizmy genów angiotensynogenu, enzymu konwertującego angiotensynę oraz receptory dla angiotensyny, a także endotelialnej syntazy tlenu azotu.

Badaniem objęto grupę losowo wybranych kobiet ciężarnych hospitalizowanych w Oddziale Klinicznym Kliniki Położnictwa i Perinatologii Szpitala Uniwersyteckiego. W grupie badanej znalazły się ciężarne z rozpoznaniem ciążowego nadciśnienia tętniczego, stanu przedrzucawkowego i nadciśnienia przewlekłego oraz ciężarne normotensyjne.

Celem pracy było oszacowanie udziału wybranych polimorfizmów genów układu renina-angiotensyna oraz polimorfizmu śródbłonkowej syntazy tlenu azotu w patogenezie stanu przedrzucawkowego oraz nadciśnienia ciążowego, a także opracowanie testu wczesnego rozpoznania stanu przedrzucawkowego w oparciu

o polimorfizmy wybranych genów w celu określenia prawdopodobieństwa wystąpienia stanu przedrzucawkowego. Uzyskane wyniki zostały odniesione do przebiegu ciąży, ciężkości nadciśnienia, odpowiedzi na leczenie hipotensyjne, sposobu zakończenia ciąży oraz stanu noworodków.

MAŁGORZATA LASOTA, WALENTYNA BALWIERZ

## CYTOSTATYCZNE I CYTOTOKSYCZNE EFEKTY DZIAŁANIA INHIBITORÓW RECEPTORA C-KIT NA RÓŻNE LINIE KOMÓREK OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ

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

Receptor c-KIT (CD117) posiadający aktywność kinazy tyrozynowej na komórkach układu krwiotwórczego pełni istotną rolę w regulacji wzrostu i różnicowaniu komórek. W ostrej białaczce szpikowej (AML) komórki wykazują ekspresję tego receptora u 60–80% chorych. Mutacje aktywujące w obrębie genu c-KIT są jednym z kluczowych czynników w progresji nowotworowej. Dlatego receptor c-KIT może być właściwym celem terapeutycznym, a inhibitory kinaz tyrozynowych zastosowane u pacjentów z AML mogą przyczynić się do poprawy wyleczalności.

Celem obecnie przedstawianego badania była ocena wpływu czterech inhibitorów receptora c-KIT – imatinibu, nilotinibu, midostaurinu i dasatinibu na trzy linie komórek ostrej białaczki szpikowej (HL 60, MV-4-11, THP-1). Poszczególne linie komórkowe dobrano tak, aby reprezentowały różne podtypy AML oraz najczęściej występujące u chorych na AML translokacje genetyczne. Kolejne zadania badawcze obejmowały: ocenę *in vitro* wpływu badanych inhibitorów na wzrost i przeżywalność komórek nowotworowych oraz wyznaczenie połowicznych dawek cytostatycznych.

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

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

EWELINA LEWKOWICZ

## OCENA CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA GUZÓW NEUROENDOKRYNNYCH UKŁADU POKARMOWEGO W KRAKOWIE I POWIECIE KRAKOWSKIM

Katedra i Klinika Endokrynologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Guzy neuroendokrynne układu pokarmowego (GEPNET) stanowią 70% wszystkich guzów neuroendokrynnych. Wskaźnik występowania GEPNET wynosi 3/100000 osób/rok. GEPNET charakteryzują się powolnym rozwojem, wszystkie są potencjalnie złośliwe. Celem pracy jest ocena zapadalności na GEPNET w Krakowie i powiecie krakowskim w ramach tworzonego rejestru.

**Metody:** Badaniem objęto pacjentów z rozpoznanymi w okresie od stycznia 2002 do grudnia 2011 roku na podstawie badania histopatologicznego GEPNET, >18 lat, w chwili rozpoznania zamieszkujących teren Krakowa i powiatu krakowskiego.

**Wyniki:** Przebadano 150 chorych, 83 kobiety i 67 mężczyzn. Średni wiek rozpoznania choroby to 58 lat  $\pm$ 17. W grupie przeważają guzy G1 wg WHO 2010 (66%). Pozostałe przypadki stanowią guzy G2 (28%), raki neuroendokrynne (5%) oraz mieszane raki gruczołowo-neuroendokrynne (1%). Według klasyfikacji TNM-AJCC/UICC guzy stopnia 0 (stage 0) stanowiły 3%, stopnia I (stage I) 54%, stopnia II (stage II) 11%, stopnia III (stage III) 10% i stopnia IV (stage IV) 22% przypadków. Lokalizacja zmian: jelito grube (26%), jelito cienkie (20%), trzustka (19%), żołądek (18%), wyrostek robaczkowy (17%). Współczynniki zapadalności w latach 2002–2011: 0,8; 1,0; 1,0; 2,3; 2,2; 1,9; 1,5; 2,1; 2,7; 2,0/100000 osób/rok. Dla całej grupy stwierdzono znamieny statystycznie rosnący trend zapadalności.

**Wnioski:** Obserwuje się wzrastającą częstość występowania GEPNET. Konieczne są dalsze badania, by wyselekcjonować osoby z grup ryzyka występowania GEPNET.

LIDIA LIBOWICZ, MARIA NOWAKOWSKA

## POLISACHARYDOWE RUSZTOWANIA DO STEROWANEJ REGENERACJI KOŚCI

Zespół Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów, Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Rosnące zapotrzebowanie na materiały mogące z powodzeniem spełniać rolę efektywnych substytutów kości stawia nowe wyzwania dla inżynierii tkankowej. Coraz większą uwagę skupia sterowana regeneracja kości (ang. Guided Bone Regeneration), sięgająca poza gabinety dentystyczne.

Proces rekonstrukcji uszkodzonych tkanek składa się z kilku etapów. Początkowo z organizmu pacjenta, w celu zmniejszenia immunogenności, pobiera się fragment tkanki (biopsja). Pozyskany w ten sposób materiał poddaje się obróbce polegającej na uwolnieniu komórek z naturalnej macierzy otaczającej je w organizmie. Komórki wysiewa się na rusztowaniach komórkowych (*in vitro*) symulujących natywną macierz łącznotkankową, zaś dodany czynnik wzrostu przyspiesza proces proliferacji. Podstawowym zadaniem rusztowań komórkowych (ang. *scaffold*) jest fizyczne stworzenie podłoża dla komórek oraz regulacja procesu proliferacji i różnicowania. Dlatego też jednym z najciekawszych zadań jest uzyskanie materiału, który będzie w stanie naśladować mikrośrodowisko międzykomórkowe oraz promować naturalny proces regeneracji kości.

Celem badań było uzyskanie resorbowalnych układów polimerowych w postaci porowatych rusztowań 3D jako potencjalnych materiałów zdolnych do hodowli i różnicowania komórek mezenchymalnych. Głównym składnikiem układu jest chitozan – naturalny polimer uzyskiwany z pancerzy skorupiaków. Ten polisacharyd odznacza się doskonałą biogodnością, jest biodegradowalny, a dodatkowo wykazuje właściwości antybakteryjne. Podstawowy układ został usieciowany oraz wzbogacony o komponenty mające za zadanie polepszyć właściwości mechaniczne oraz biologiczne uzyskanych rusztowań.

AGNIESZKA MACHUL

## WPŁYW METABOLITÓW BAKTERII Z RODZAJU LACTOBACILLUS NA BIOFILM PSEUDOMONAS AERUGINOSA ORAZ STAPHYLOCOCCUS AUREUS U PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁYM ZAPALENIEM UCHA ŚRODKOWEGO

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

**Wstęp:** Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* wchodzą w skład normalnej flory m.in. przewodu pokarmowego czy jamy ustnej. Dzięki produkcji małych peptydów o działaniu antybakteryjnym, lotnych kwasów tłuszczowych oraz nadtlenu wodoru wpływają na liczebność populacji bakteryjnych czynników etiologicznych. Niezwykle ciekawym zagadnieniem jest możliwość wykorzystania wyżej wymienionych metabolitów w zapobieganiu tworzenia biofilmu. Biofilm to trójwymiarowy układ tworzony przez bakterie wykazujące zdolność adhezji do powierzchni abiotycznych i biotycznych. Współczesne badania kliniczne wskazują na obecność tej struktury w szerokim zakresie mikrobiologicznych infekcji. Dużym problemem jest biofilm tworzący się w przewlekłych stanach zapalnych ucha środkowego, gdzie dominującymi czynnikami etiologicznymi są *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus*.

**Cel:** Celem pracy było określenie wpływu metabolitów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* na tworzenie biofilmu i liczebność populacji *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Staphylococcus aureus*.

**Materiały i metody:** Szczepy bakteryjne należące do rodziny *Staphylococcus* oraz *Pseudomonas*, które wykorzystano w doświadczeniach, pochodzą od pacjentów z przewlekłym zapaleniem ucha środkowego. Wykorzystane metody badawcze obejmowały hodowlę biofilmu w 96-dołkowych płytkach z powierzchnią adherencyjną. Aktywność enzymatyczną metabolitów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* określono przy pomocy testów płytkowych.

**Wyniki i wnioski:** Przeprowadzone badania wykazały skuteczność metabolitów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* w stosunku do tworzenia i redukcji powstałego biofilmu oraz ograniczenia liczebności populacji bakterii chorobotwórczych. Dalsze badania mogą posłużyć do opracowania nowej metody leczenia przewlekłych stanów zapalnych ucha środkowego, zmniejszenia cierpienia pacjentów borykających się z tą jednostką chorobową oraz obniżenia kosztów złożonego procesu leczenia.

JOANNA MACIĄG, MARTA CZEŚNIKIEWICZ-GUZIŁ, ANNA MACIĄG, DANIEL NOWAKOWSKI, GRZEGORZ OSMENDA, GRZEGORZ WILK, TOMASZ GUZIŁ

## ROLA PRZEWLEKŁEGO, WYWOŁANEGO INFEKCJĄ, STANU ZAPALNEGO TOCZĄCEGO SIĘ POD PŁYTKĄ PROTEZY W JAMIE USTNEJ W PATOGENEZIE NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Profilaktyki i Stomatologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wielokierunkowy charakter patogenezы nadciśnienia tętniczego i jej powiązanie ze stanem zapalnym prowadzą do pytania o mechanizm aktywacji układu odpornościowego w nadciśnieniu tętnicznym. Pod względem częstości występowania zmian zapalnych i infekcji szczególną uwagę zwraca jama ustna. Celem projektu jest określenie, jakie są wzajemnie związki pomiędzy infekcją grzybiczą toczącą się pod płytką protezy w jamie ustnej a ogólnoustrojowym stanem zapalnym. Rekrutowani pacjenci użytkują górne protezy stomatologiczne i mają stan zapalny błony śluzowej podniebienia wywołany infekcją *Candida albicans* (grupa badana, n=50). Do grupy kontrolnej (n=30) włączani są pacjenci bez stanu zapalnego i infekcji. Pacjenci są badani przed rozpoczęciem leczenia (wizyta 1), bezpośrednio po jego zakończeniu (wizyta 2) i dwa miesiące później (wizyta 3). Analiza obejmuje parametry stanu zapalnego jamy ustnej oraz aktywacji układu odpornościowego określanej za pomocą analizy cytometrycznej wyizolowanych z krwi obwodowej limfocytów T oraz monocytów. Do badania włączono 33 osoby (22 z grupy badanej oraz 11 z grupy kontrolnej). Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w odsetkach podstawowych populacji limfocytarnych (CD4,CD8), a także limfocytów naiwnych (CD45RA+) oraz limfocytów pamięci (CD45RO+). Nie zaobserwowano również istotnych statystycznie różnic pomiędzy odsetkami wymienionych powyżej populacji oznaczanymi podczas kolejnych wizyt, jednak zaobserwowano zwiększenie median (Q1;Q2) odsetków limfocytów naiwnych (36,5 (29; 50,2), 41,3 (33,9; 56,8) i 50,1 (36,5; 59,1), p=0,06) oraz zmniejszenie median odsetków limfocytów pamięci (51,2 (34,6; 57,8), 49,7 (35,2; 59,2), 38,3 (30,5; 56,1), p=0,08) wraz z kolejnymi wizytami. W celu określenia dokładnych zależności pomiędzy infekcją *C. albicans* w jamie ustnej a ogólnoustrojowym stanem zapalnym konieczne są dalsze badania.



MARTYNA MACIÓW-GLĄB, SEBASTIAN ROJEK, MAŁGORZATA KŁYS

## „DOPALACZE” – ŚMIERTELNE ZAGROŻENIE? DWA PRZYPADKI ŚMIERTELNEGO ZATRUCIA POCHODNYMI KATYNONU – 4-MMC I 4-MEC – EKSPERTYZA SĄDOWO-LEKARSKA

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk

Z roku na rok pojawia się coraz więcej doniesień na temat syntetycznych katynonów napotykanym w całej Unii Europejskiej. Mimo że znaczna część tych związków to beta-keto analogi pochodnych amfetaminy, to jednak obecność ugrupowania ketonowego pozwala ominąć kontrolę. Klinicyści odnotowują wzrost zatruć środkami zawierającymi katynony, rośnie także liczba zatruć śmiertelnych powiązanych ze związkami należącymi do tej grupy, co z kolei implikuje nowe wyzwania stawiane toksykologom klinicznym i sądowym. Referat ten prezentuje 2 przypadki, w których pochodne katynonu: 4-metylometykatynon (mefedron) i 4-metyloetylokatynon (4-MEC) były główną przyczyną zgonu, prawdopodobnie w mechanizmie złośliwego zespołu serotoninowego.

Materiał biologiczny pobrany w trakcie sekcji został przekazany do badań toksykologicznych i histopatologicznych. Ocena toksykologiczna obejmowała analizę metodą LC-ESIMS-MS próbek krwi (1 ml) po ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Oznaczenie prowadzono za pomocą chromatografu cieczowego 1200 połączonego z tandemowym spektrometrem mas QQQ-6410 firmy Agilent Technologies. Badania histopatologiczne przeprowadzone były na wycinkach narządów utrwalonych w formalinie (mózg, wątroba, nerka, płuco, żołądek, trzustka, śledziona), wybarwionych standardowo eozyną i hematoksyliną. Badania makro- i mikroskopowe wykazały: masywny obrzęk płuc, przekrwienie w obrębie żołądka, mózgu, wątroby, nerki. W badaniach toksykologicznych ujawniono obecność pochodnych katynonu – 4-MMC (1312 ng/ml denat 1), metkatynonu (212 ng/ml denat 1) i 4-MEC (1267ng/ml denat 2).

Praca ta podkreśla konieczność kompleksowego podejścia do ekspertyzy sądo-wo-lekarskiej, w której konfrontacja wyników badań histopatologicznych, toksykologicznych i sekcji zwłok może dopiero pozwolić na wnioskowanie o przyczynie zgonu. W przypadku nowych, słabo poznanych substancji, jakimi są katynony, ogromny nacisk należy kłaść na rozwój wyrafinowanych metod analitycznych, pozwalających na oznaczanie ich w materiale biologicznym, a także rozbudowę baz danych toksykologicznych na ich temat.

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

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

## GASTROPROTEKCYJNE DZIAŁANIE SIARKOWODORU W OBREBIE BŁONY ŚLIZOWEJ ŻOŁĄDKA WZGLĘDEM USZKODZEŃ INDUKOWANYCH W EKSPERYMENTALNYM MODELU ISCHEMII Z NASTĘPOWĄ REPERFUZJĄ

Zakład Fizjologii Doświadczalnej, Katedra Fizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Siarkowodor (H<sub>2</sub>S) – powszechnie znany, toksyczny gaz – jest nowo odkrytym endogennym gazomediatozem, działającym naczyniorozszerzająco i neuromodulująco oraz regulującym procesy zapalne. Przypuszcza się, że molekula ta może stanowić część fizjologicznej bariery ochronnej błony śluzowej żołądka.

Cel: Celem badania było określenie roli endogenego H<sub>2</sub>S w mechanizmie gastroprotekcji błony śluzowej żołądka przed uszkodzeniami indukowanymi przez eksperymentalny model ischemii z następową reperfuzyją (I/R). Zbadano, czy mechanizm ten jest związany z koaktywnością aferentnych włókien czuciowych oraz syntezą endogennych prostaglandyn.

Materiał i metody: Szczury rasy Wistar (średnia masa 250 g) zostały uśpione farmakologicznie. Po otwarciu jamy brzusznej na pień trzewny nałożono specjalną kłamrę zmniejszającą przepływ krwi przez to naczynie (ischemia). Po 30 minutach zdjęto zacisk i przywrócono prawidłowy przepływ w trzewiach (reperfuzyja) na 3 godziny. Po tym czasie zmierzono żołądkowy przepływ krwi (GBF) laseromierzem przepływowym oraz powierzchnię uszkodzeń metodą planimetryczną.

30 minut przed ekspozycją na I/R poszczególne grupy otrzymały: L-cysteinę (10 mg/kg i.g.) – prekursor H<sub>2</sub>S lub NaHS (5 mg/kg i.g.) – donor H<sub>2</sub>S w kombinacji lub bez z kapsazepiną (5 mg/kg i.p.) – blokerem receptorów VR na zakończeniach włókien czuciowych oraz selektywnymi i nieselektywnymi inhibitorami cyklooksygenazy (COX)-1 i COX-2: indometacyna (5 mg/kg i.p.), SC-560 (5 mg/kg i.g.), celekoksyb (10 mg/kg i.g.).

Wyniki: Ekspozycja na I/R spowodowała powstanie krwawiących uszkodzeń błony śluzowej żołądka oraz spadek GBF. Upřednie podanie L-cysteiny i NaHS

zredukowało ten szkodliwy efekt. Połączenie tych substancji z inhibitorami COX oraz kapsazepiną w znacznym stopniu wpłynęło na zmiany mierzonych parametrów.

Wnioski: H<sub>2</sub>S wykazuje działanie gastroprotekcyjne w obrębie błony śluzowej żołądka względem uszkodzeń indukowanych w modelu I/R. Mechanizm ten jest związany z modulacją GBF oraz koaktywnością naczyniorozszerzających włókien czuciowych i endogennych prostaglandyn.

GRZEGORZ MAJKA, KLAUDYNA ŚPIEWAK, KATARZYNA KURPIEWSKA, PIOTR HECZKO, GRAZYNA STOCHEL, MAGDALENA STRUS, MAŁGORZATA BRINDELL

## OPRACOWANIE WYDAJNEJ METODY PRECYZYJNEGO OZNACZANIA POZIOMU WYSYCENIA ŻELAZEM PREPARATÓW LAKTOFERYNY

Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Parazytologii, Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zespół Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej, Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Laktoferyna jest wiążącą żelazo glikoproteiną, stanowiącą istotny element wrodzonej odpowiedzi odpornościowej. Jej funkcją jest przede wszystkim hamowanie wzrostu bakterii poprzez sekwestrację jonów żelaza niezbędnych do wzrostu mikroorganizmów. Najnowsze doniesienia dowodzą, że białko to może zapobiegać wystąpieniu sepsy o późnym początku u noworodków o bardzo niskiej masie urodzeniowej. Poziom wysycenia żelazem laktoferyny wydaje się kluczowy dla jej działania, stąd niezbędne staje się opracowywanie metod dokładnego oznaczenia poziomu żelaza w preparatach tego białka wykorzystywanych zarówno do celów badawczych, jak i farmaceutycznych. Przeprowadzone badania pozwoliły na stworzenie krzywej kalibracyjnej, pozwalającej na precyzyjne określenie stopnia wysycenia żelazem bydlęcej laktoferyny w oparciu wyłącznie o pomiary absorbancji światła o długości 280 i 466 nm ( $A_{280}/A_{466}$ ). Wykorzystano metody spektrofotometryczne oraz kombinację testu immunoenzymatycznego na fazie stałej (ELISA) i analiz z użyciem spektrometrii mas w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-MS). Wykazano użyteczność opracowanej metody w kontekście szybkiego i wydajnego oznaczenia poziomu wysycenia żelazem preparatów bydlęcej laktoferyny. Ponadto przeprowadzono optymalizację metod otrzymywania apo- i hololaktoferyny (formy białka odpowiednio pozbawione i wysyczone jonami żelaza).

PIOTR MAJOR

## JAKOŚĆ ŻYCIA PO RĘKAWOWEJ RESEKCJI ŻOŁĄDKA I OPERACJI WYŁĄCZENIA ŻOŁĄDKOWO JELITOWEGO U CHORYCH OPEROWANYCH Z POWODU OTYŁOŚCI OLBRZYMIJ

II Katedra Chirurgii Ogólnej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Rękawowa resekcja żołądka sposobem laparoskopowym (sleeve gastrectomy – SG) oraz operacja wyłączenia żołądkowego pętłą Roux (gastric bypass – LRYGB) uważane są za skuteczne metody leczenia chorych z otyłością olbrzymią. Liczba zabiegów oraz grupa ich zwolenników stale rośnie.

Celem pracy jest analiza jakości życia u chorych po rękawowej resekcji żołądka i operacji wyłączenia żołądkowego.

Do grupy włączono 65 chorych, u których w okresie od kwietnia 2011 do grudnia 2012 r. wykonano SG (34) i LRYGB (31). Średni wskaźnik masy ciała (BMI) przed zabiegiem wynosił  $50,7 \text{ kg/m}^2$ . Przed zabiegiem operacyjnym z chorymi przeprowadzono wywiad dotyczący chorób współistniejących oraz głównych dolegliwości utrudniających codzienne funkcjonowanie. Ponadto każdy z nich poproszony został o wypełnienie ankiet SF-36 oraz BAROS. 12 miesięcy po zabiegu operacyjnym chorych zaproszono na wizytę kontrolną. Analizowano spadek BMI, średnią utratę nadmiaru masy ciała, ustąpienie chorób współistniejących i zmniejszenie dawek zażywanych leków. Dodatkowo porównano wyniki wyżej wymienionych ankiet przed zabiegiem operacyjnym i po nim.

Średni spadek BMI wyniósł 28%, średnia utrata nadmiaru masy ciała wyniosła 37%. Wśród chorych z zaburzeniami gospodarki wodorowęglanowej już w pierwszych dobach po leczeniu operacyjnym obserwowano zmniejszenie zapotrzebowania na insulinę. Wyniki kwestionariusza SF-36 oraz BAROS podczas wizyty kontrolnej były istotnie statystycznie lepsze niż przed zabiegiem operacyjnym. Największą poprawę (300%) odnotowano w zakresie likwidacji ograniczeń w pełnieniu ról społecznych, poczucia poprawy ogólnego stanu zdrowia (116%), poprawy witalności (102,3%) i funkcjonowania fizycznego (100%).

Operacje bariatryczne metodą rękawowej resekcji żołądka i wyłączenia żołądkowego pętłą Roux już we wczesnym okresie po zabiegu przyczyniają się do znacznej poprawy jakości życia chorych operowanych z powodu otyłości olbrzymiej.

KATARZYNA MAJZNER, NELI KACHAMAKOVA-TROJANOWSKA,  
STEFAN CHŁOPICKI, MAŁGORZATA BARAŃSKA

## BADANIE WPŁYWU SUPLEMENTACJI KWASEM ARACHIDONOWYM NA OBECNOŚĆ CIAŁEK LIPIDOWYCH W KOMÓRKACH ŚRÓDBŁONKA ZA POMOCĄ KONFOKALNEJ MIKROSPEKTROSKOPII RAMANOWSKIEJ

Zespół Obrazowania Ramanowskiego, Zakład Fizyki Chemicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET); Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Śródbłonek odgrywa istotną rolę w utrzymywaniu homeostazy, a jego dysfunkcja jest cechą charakterystyczną wielu chorób układu sercowo-naczyniowego. Mikrospektroskopia ramanowska, ze względu na możliwość jednoczesnej identyfikacji oraz badania przestrzennej dystrybucji wszystkich składników biochemicznych w próbce, zapewniając jednocześnie wysoki poziom selektywności i rozdzielczości, jawi się jako potężne nowe narzędzie w badaniach nad rolą śródbłonka w układzie sercowo-naczyniowym i w farmakologii śródbłonka.

W prezentowanych badaniach wykorzystano konfokalną mikrospektroskopię ramanowską do monitorowania zmian w pojedynczej komórce śródbłonka wskutek ekspozycji komórek na kwas arachidonowy (AA). Do badań nad wzrostem produkcji prostacykliny przez komórki oraz wychwytem AA wykorzystano ludzkie aortalne komórki śródbłonka (HaoEC) stymulowane przez AA (10 lub 25  $\mu\text{M}$ ) oraz przez sole pirydynowe (MNA, 1,4-DMP). W wyniku długiego czasu inkubacji komórek z AA i solami zaobserwowano w komórkach liczne ciała lipidowe oraz wzrost produkcji prostacykliny. Wykorzystanie spektroskopii ramanowskiej pozwoliło stworzyć trójwymiarową mapę obrazującą kształt, ilość i dystrybucję ciałek w komórce. Ilość tworzących się ciałek zdecydowanie nasilana jest w obecności soli pirydynowych, co sugeruje, że zastosowane związki pełnią funkcję nośników ułatwiających transport kwasu arachidonowego do ich wnętrza.

Podziękowania: Badania zostały wykonane w ramach projektu pn. Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego – Program Operacyjny Kapitał Ludzki 2007–2013. Praca współfinansowana ze środków funduszy Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (grant koordynowany przez JCET-UJ, POIG.01.01.02-00-069/09).

LAURA MARYŃCZAK

## ANALIZA POSTĘPOWANIA ORAZ WYNIKÓW LECZENIA WE WRODZONYCH GUZACH OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Oddział Neurochirurgii, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

**Wstęp:** Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego w pierwszym roku życia są rzadkie i różnią się od tych, które występują w późniejszym wieku, budową histologiczną, umiejscowieniem, dynamiką rozwoju oraz symptomatologią kliniczną. Stwarza to duże problemy terapeutyczne wobec na ogół złego rokowania.

**Materiał i metody:** Przeprowadzono analizę retrospektywną 28 dzieci leczonych w Oddziale Neurochirurgii USD w Krakowie z powodu guzów wrodzonych OUN w latach 1998–2010 oraz analizę prospektywną obejmującą 14 nowych przypadków. Badana grupa stanowiła 8,89% wszystkich pacjentów leczonych operacyjnie z powodu guza OUN. Analizowano występujące objawy, wiek ich wystąpienia, wiek w momencie rozpoznania, czas trwania objawów, lokalizację guza, rozpoznanie histopatologiczne, przebieg leczenia oraz wyniki leczenia.

**Wyniki:** U dwóch pacjentów zdiagnozowano guza prenatalnie podczas rutynowego badania USG w prawidłowo przebiegającej ciąży, pozostali prezentowali objawy po urodzeniu. Objawy najczęściej związane były ze wzrostem ciśnienia śródczaszkowego. Ponad połowa guzów zlokalizowana była nadnamiotowo, rzadziej w tylnym dole czaszki lub w obrębie rdzenia kręgowego, w dwóch przypadkach guz był wieloogniskowy. Guzy o wysokim stopniu złośliwości stanowiły 45,24% wszystkich rozpoznań. Połowa pacjentów przeszła leczenie uzupełniające w postaci chemioterapii. Śmiertelność ogólna wyniosła 40,47% (17 chorych), z czego u 11 chorych (64,70%) stwierdzono guz o wysokim stopniu złośliwości, a u 13 (76,47%) leczenie operacyjne z niepełną resekcją guza.

**Wnioski:** Rokowanie dla dzieci z wrodzonymi guzami OUN jest niepomyślne przede wszystkim z powodu dużych rozmiarów guza w momencie rozpoznania, wysokiego stopnia złośliwości guza oraz ograniczonych możliwości terapeutycznych, przede wszystkim radioterapii. Leczenie guzów wrodzonych sprowadza się do radykalnego leczenia operacyjnego z określeniem utkania histopatologicznego oraz następowej chemioterapii.



BARTŁOMIEJ MATEJKO

## CZYNNIKI WPLÝWAJĄCE NA WYRÓWNANIE METABOLICZNE U DOROŚLYCH PACJENTÓW Z TYPEM 1 CUKRZYCY LECZONYCH ZA POMOCĄ OSOBISTYCH POMP INSULINOWYCH

Katedra Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Terapia cukrzycy typu 1 (T1DM) za pomocą osobistej pompy insulinowej (CSII) może poprawiać wyrównanie metaboliczne oraz jakość życia chorych w stosunku do konwencjonalnych metod insulinoterapii. Celem pracy było retrospektywne poszukiwanie czynników wpływających na wyrównanie metaboliczne u dorosłych pacjentów leczonych CSII.

Charakterystyka kliniczna grupy chorych na T1DM została przeprowadzona na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej, analizy zapisów z osobistych pomp insulinowych, glukometrów oraz analiz biochemicznych. Do analizy zależności między zmiennymi mierzalnymi zastosowano analizę korelacji. Wykorzystano także narzędzia analizy wielowymiarowej (regresję wieloraką).

W badaniu udział wzięło 99 kobiet oraz 46 mężczyzn. Średni wiek pacjentów wyniósł 28,6 lat przy średnim czasie trwania cukrzycy wynoszącym 13,4 lat. Średni odsetek HbA1c w badanej grupie wyniósł 7,3%. Analizy statystyczne wykazały istnienie istotnej korelacji odsetka HbA1c z wiekiem, liczbą pomiarów glukometrycznych na dobę, liczbą hipoglikemii na dobę (korelacje ujemne), średnią glikemią i jej odchyleniem standardowym, jak również z dobową dawką insuliny, ilością insuliny na kilogram masy ciała oraz czasem leczenia CSII (korelacje dodatnie). Istotne znaczenie w obniżeniu poziomu HbA1c miały także stosowane funkcje osobistej pompy insulinowej, to jest kalkulator bolusa (BC,  $p=0,0303$ ) i system ciągłego monitorowania glikemii (CGMS,  $p=0,0119$ ). Zbudowano istotny predykcyjny model matematyczny, w którym odsetek HbA1c wyjaśniono za pomocą średniej glikemii, ilości pomiarów glukometrycznych na dobę oraz ilości jednostek insuliny na kilogram masy ciała.

Badanie wykazało, że czynniki związane zarówno z pacjentem, jak i jego terapią mają istotny wpływ na wyrównanie metaboliczne. Motywacja do leczenia, samokontrola glikemii oraz stosowanie zaawansowanych funkcji CSII, to jest BC i CGMS są kluczowymi elementami osiągnięcia celów terapeutycznych.

ANNA MATYS, EWA OTRĘBSKA, JAKUB MAZURKIEWICZ, DARIA STUDNICKA,  
BEATA MASTEK, JADWIGA HANDZLIK, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

## WPLYW NOWYCH POCHODNYCH HYDANTOINY NA ZWIĘKSZENIE SKUTECZNOŚCI ANTYBIOTYKÓW W LEKOOPORNYCH SZCZEPACH *STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS*

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

Celem badań była ocena serii pochodnych hydantoiny pod kątem ich aktywności w stosunku do szczepów: *Staphylococcus aureus* MRSA HEMSA 5 (lekooporny szczep kliniczny z nadekspresją pomp wyrzutu leków) i *Staphylococcus aureus* ATTC 25923 (szczep referencyjny). Do badań wybrano rodziny związków, które wykazywały interesujące działanie chemosensytyzera lekoopornych bakterii Gram-ujemnych *E. aerogenes* w prowadzonych wcześniej testach mikrobiologicznych<sup>1</sup>. Badane związki należały do dwóch grup. Były to piperazynowe pochodne 5-arylidenohydantoiny oraz aminowe pochodne 5-arylidenimidazolonu. Aktywność związków w stężeniach nie większych niż połowa ich minimalnych stężeń hamujących wzrost bakterii oceniano, badając wpływ tychże związków na obniżenie minimalnego stężenia hamującego oksacyliny w szczepach *S. aureus*. W przypadku szczepu *S. aureus* HEMSA 5 najbardziej aktywne okazały się związki: BM36, BM38, DS9 (aminowe pochodne 5-arylidenimidazolonu) i A10 (pochodna 5-arylidenohydantoiny zawierająca atom chloru w pozycji para podstawnika benzylidenu), które obniżały MIC oksacyliny ponad 128 razy. W przypadku szczepu referencyjnego *S. aureus* ATTC 25923 związki te obniżały MIC oksacyliny jedynie 2–4 razy. Sugeruje to, że związki te mogą blokować działanie pomp wyrzutu leków, hamować ekspresję białka PBP2a, które wykazuje niższe powinowactwo do antybiotyków β-laktamowych, lub tworzyć z oksacyliną kompleks, który blokuje to białko.

Badania były finansowane z programu K/ZDS/001915.

1. Handzlik J., Szymańska E., Alibert S., Chevalier J., Otrębska E., Pękala E., Pagès J.-M., Kieć-Kononowicz K., *Search for new tools to combat Gram-negative resistant bacteria among amine derivatives of 5-arylidenehydantoin*, „Bioorg. Med. Chem.” 21 (2013), 135–145.

OLGA MAZURYK, ELŻBIETA NIEMIEC, GRAŻYNA STOCHEL,  
ISABELLE GILLAIZEAU, MAŁGORZATA BRINDELL

## ZASTOSOWANIE BENZOTIOFENOWYCH POCHODNYCH PYRAZyny W SELEKTYWNYM DOSTARCZANIU FARMACEUTYKÓW DO MEMBRAN KOMÓRKOWYCH

Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Instytut Chemii Organicznej i Analitycznej (ICOA), Uniwersytet w Orleanie

Przeprowadzono kompleksowe badania benzotiofenowej pochodnej pyrazyny (bis-BTPyr, 2,5-di(benzo[b]tiofen-2-yl)-pyrazyna) pod kątem jej wykorzystania jako potencjalnego nośnika selektywnie dostarczającego lek do membran komórkowych. Związek ten charakteryzuje się wysoką lipofilowością ( $\log P=5,25$ ), co pozwala wnioskować o jego dużym powinowactwie do tych struktur komórkowych. Właściwości fluorescencyjne bis-BTPyr ściśle zależą od otoczenia molekuly, a wydajność kwantowa fluorescencji wzrasta znacząco w przypadku stosowania rozpuszczalników organicznych. Umieszczenie bis-BTPyr w liposomach prowadzi do znaczącego zwiększenia intensywności fluorescencji związku (ok. 100x), co sugeruje preferencyjną akumulację tych związków w membranach komórkowych. Wstępne badania biologiczne pokazały, że związki posiadają zdolność akumulowania się w komórkach nowotworowych (CT26) i że stężenie 10  $\mu\text{M}$  jest wystarczające do równomiernego barwienia komórek. Analiza toksyczności tego związku wykazuje jego słabe właściwości cytostatyczne, w stężeniu do 200  $\mu\text{M}$  obniża on żywotność komórek do około 30%. Bis-BTPyr wykazuje dość silne oddziaływanie z albuminą, a stała asocjacji dla tego adduktu wynosi  $6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ . Bis-BTPyr nie oddziałuje z DNA, co wskazuje na brak jego ewentualnego działania mutagennego czy teratogennego. Dalsze prace badawcze będą polegały na funkcjonalizacji tego związku w kierunku zwiększenia selektywności jego działania w komórkach nowotworowych.

### Literatura:

O. Mazuryk, E. Niemiec, G. Stochel, I. Gillaizeau, M. Brindell, *Benzothiophen-pyrazine scaffold as a potential membrane targeting drug carrier*, „Journal of Luminescence”, DOI 10.1016/j.jlumin.2013.02.058.

DIANA MIKOŁAJCZYK

## REGULACJA TWORZENIA BIOFILMU PSEUDOMONAS AERUGINOSA WYZOŁOWANEGO Z RAN PRZEWLEKŁYCH STOPY CUKRZYCOWEJ

Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów, Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zespół trudno gojących się ran u pacjentów chorych na cukrzycę to narastający problem nie tylko w Polsce, ale i na całym świecie, przede wszystkim ze względu na ciągły wzrost liczby chorych leczonych z powodu wad metabolicznych. Jednym z głównych czynników chorobotwórczych wywołujących powyższe rany są bakterie z rodzaju *Pseudomonas*. *P. aeruginosa* jako zewnątrzkomórkowy, oportunistyczny patogen posiada zdolność wytwarzania licznych czynników wirulencji, w tym wytwarzania biofilmu. Ta złożona, wielokomórkowa struktura tworzona jest przez mikrokolonie bakterii otoczonych warstwą trójwymiarowej macierzy zwanej EPS (ang. Extracellular Polymeric Substances), która uniemożliwia penetrację antybiotykami lub preparatom dezynfekcyjnym w głąb kolejnych warstw wytworzonego biofilmu.

Badania przeprowadzane w ramach mojej pracy doktorskiej są skoncentrowane na ocenie wpływu inhibitorów blokujących aktywność enzymów uczestniczących w biosyntezie egzopolisacharydu na tworzenie biofilmu. Synteza egzopolisacharydów rozpoczyna się już w fazie planktonowej, dlatego też zbadanie tych procesów opiera się na analizie opracowanych dwóch modeli hodowlanych w warunkach *in vitro*, bazujących na biofilmie świeżym oraz dojrzałym.

Wstępne wyniki wykazały istotny wpływ testowanych inhibitorów blokujących aktywność enzymów uczestniczących w biosyntezie egzopolisacharydu, zahamowując jego produkcję. Podążając dalej tym tokiem, planuje się określić wpływ analizowanych inhibitorów na różne szczepy izolowane od pacjentów z ranami przewlekłymi stopy cukrzycowej. Przypuszczać można, iż dzięki zastosowanym substancjom uda się zablokować dalszą syntezę zewnątrzkomórkowego egzopolisacharydu.

To innowacyjne podejście w zapobieganiu powstawaniu biofilmu, opierające się na hamowaniu biosyntezy tworzących go egzopolisacharydów bakteryjnych, jest bardzo ważnym punktem wyjścia w poszukiwaniu nowych leków przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych.

ANNA MIRCZAK

## CZYNNIKI DETERMINUJĄCE RYZYKO NIEDOŻYWIENIA OSÓB STARSZYCH MIESZKAJĄCYCH NA WSI

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

**Wstęp:** Według danych epidemiologicznych problem niedożywienia dotyczy 5–10% populacji osób starszych, co niekorzystnie wpływa na ich jakość życia uwarunkowaną stanem zdrowia.

**Cel pracy:** Celem pracy była ocena czynników determinujących ryzyko niedożywienia wśród seniorów mieszkających na wsi.

**Materiał i metody:** Analizę zebranego materiału badawczego wykonano za pomocą testu Chi-kwadrat, testów parametrycznych i nieparametrycznych, a także modelu regresji liniowej z wykorzystaniem pakietu statystycznego IBM SPSS 19 dla Windows. Jako poziom istotności dla testowanych hipotez zerowych przyjęto wartość 0,05.

**Wyniki:** Grupę badawczą stanowiły 203 osoby (61,6% kobiet i 38,4% mężczyzn), powyżej 65. roku życia mieszkające na wsi. W grupie wysokiego i średniego ryzyka niedożywienia było odpowiednio 42,2% i 33,2% badanych, natomiast stan prawidłowy (brak ryzyka niedożywienia) dotyczył 24,6% respondentów. Między płcią i poziomem wykształcenia badanych a ryzykiem ich niedożywienia zachodziła istotna relacja. Kobiety były w grupie średniego i wysokiego ryzyka niedożywienia częściej niż mężczyźni, podobnie osoby z wykształceniem podstawowym i niższym w porównaniu do osób z wykształceniem zasadniczym zawodowym. Także osoby oceniające swoją sytuację materialną jako złą były istotnie częściej w grupie wysokiego i średniego ryzyka niedożywienia niż respondenci oceniający ją na poziomie dobrym. Ponadto respondenci z wysokim i średnim ryzykiem niedożywienia mieli istotnie większą średnią częstość występujących dolegliwości oraz średnią liczbę chorób niż osoby bez ryzyka niedożywienia.

**Wnioski:** Ryzyko niedożywienia wśród badanych osób starszych w sposób istotny związane było z czynnikami społeczno-demograficznymi, niekorzystną sytuacją materialną i złym stanem zdrowia. Ponadto jakość życia uwarunkowana stanem zdrowia wśród osób o wysokim i średnim ryzyku niedożywienia była istotnie niższa niż u respondentów o prawidłowym stanie odżywienia.

AGNIESZKA MOOS, VIKTORIA BRODE, RENATA WIETECHA-POSLUSZNY,  
MICHAŁ WOŹNIAKIEWICZ, PAWEŁ KOŚCIELNIAK

## ZASTOSOWANIE ELEKTROFOREZY KAPILARNEJ DO OZNACZANIA SZEŚCIU TRÓJPIERŚCIENIOWYCH LEKÓW PRZECIWDOPRESYJNYCH W LUDZKIM PŁYNIE Z JAMY USTNEJ

Zakład Chemii Analitycznej, Pracownia Chemii Sądowej, Uniwersytet Jagielloński; Faculty of Chemistry, University of Leipzig; Instytut Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna, Kraków

Trójpierścieniowe leki przeciwdopresyjne (TLPD) są powszechnie stosowane od połowy lat 50. XX wieku. Wpływają one na procesy psychiczne, zmieniając nastroj, zachowanie i sposób myślenia. Z powodu tych właściwości podawane są w takich schorzeniach i dolegliwościach, jak depresja, nerwice czy bezsenność. Niestety cechują się dużym potencjałem toksyczności, licznymi skutkami ubocznymi i możliwością ich przedawkowania.

Aktywnymi substancjami spośród grupy TLPD są zarówno leki macierzyste, jak i metabolity powstające podczas N-demetylacji i dlatego bardzo ważna jest możliwość wykrycia i oznaczenia obu postaci leków. Opracowanie takiej metody – szybkiej, selektywnej i dokładnej pod kątem analitycznym – jest zatem zadaniem o dużym znaczeniu.

Prezentowane badania miały na celu zbadanie możliwości zastosowania elektroforezy kapilarnej (z detekcją spektrofotometryczną, CE-UV) do jednoczesnego oznaczania imipraminy, dezypraminy, doksepiny, nordoksepiny, klomipraminy oraz nortryptyliny w płynie z jamy ustnej. Próbkę przygotowano do analizy, wykorzystując jedynie wirowanie w obniżonej temperaturze (+4°C). Według wiedzy autorów niniejsza praca jest pierwszym opisanym przypadkiem bezpośredniej analizy próbki płynu z jamy ustnej metodą CE bez wcześniejszego etapu ekstrakcji analitów.

Separacja leków była prowadzona w kapilarze ze stopionej krzemionki (długość 60 cm, średnica wewnętrzna 50 μm), przy udziale buforu fosforanowego (pH 2,5), z dodatkiem β-cyklodekstryny (10 mM) jako buforu separacyjnego, w temperaturze 30°C i napięciu 25 kV. W trakcie badań wykazano, że opracowana procedura pozwala na wykrycie badanych leków w szerokim zakresie stężeń, a także na ich oznaczenie z przeciętną precyzją i zadawalającym odzyskiem.

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

EDYTA MOŹDŹEŃ, LUCYNA ANTKIEWICZ-MICHALUK, KRZYSZTOF LEWIŃSKI

## 1,2,3,4-TETRAHYDROIZOCHINOLINA – DZIAŁANIE PRZECIWDEPRESYJNE W ZWIERZĘCYCH MODELACH DEPRESJI

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

Na konieczność poszukiwania nowych strategii leczniczych w depresji wskazuje niska skuteczność dostępnych leków oraz istnienie tzw. depresji lekoopornej. Wciąż trwają poszukiwania idealnego leku przeciwdepresyjnego, który powinien spełniać określone warunki, a przede wszystkim posiadać wysoką skuteczność terapeutyczną, nie powodować poważnych powikłań ubocznych i charakteryzować się niskim ryzykiem przejścia w fazę maniakalną.

Celem przeprowadzonych eksperymentów było zbadanie potencjalnych właściwości przeciwdepresyjnych 1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny (TIQ) w różnych zwierzęcych modelach depresji. W badaniach behawioralnych zastosowano test wymuszonego pływania (FST) i test aktywności lokomotorycznej (LA). Dodatkowo metodą HPLC z elektrochemiczną detekcją oznaczono poziomy monoamin: noradrenaliny (NA), dopaminy (DA), serotoniny (5-HT) i ich metabolitów w różnych strukturach mózgu. Obliczono także szybkości metabolizmu badanych monoamin oraz indeks hamowania ich wychwyty zwrotnego. Wszystkie eksperymenty behawioralne i biochemiczne przeprowadzono na samcach szczurów rasy Wistar.

Badania behawioralne dowodzą, iż TIQ wykazuje działanie przeciwdepresyjne – w FST znamiennie skraca czas bezruchu (podobnie do klasycznego leku przeciwdepresyjnego, imipraminy), nie aktywuje motoryki zwierząt w teście LA. Badania biochemiczne pokazały, iż TIQ podnosi poziomy badanych monoamin w różnych strukturach mózgu gryzoni, zwiększa szybkość metabolizmu NA i DA, hamuje zaś metabolizm 5-HT. W rezerpinowym modelu depresji TIQ znosi prodepresyjne działanie rezerpiny i znamiennie odwraca jej efekt.

Uzyskane wyniki wskazują, iż TIQ posiada właściwości przeciwdepresyjne. Działanie to opiera się głównie na hamowaniu wychwyty zwrotnego monoamin: NA, DA i 5-HT lub hamowaniu ich degradacji przez inhibicję enzymu, monoaminooksydazy. W tym świetle TIQ dobrze rokuje jako potencjalny lek przeciwdepresyjny.

Badania wykonano w ramach projektu Interdyscyplinarne Studia Doktoranckie „Nauki molekularne dla medycyny” współfinansowanego ze środków UE w ramach EFS-POKL 2007–2013.



ALEKSANDRA MROZOWSKA

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

Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński,  
Collegium Medicum

**Wstęp:** Praca podejmuje temat stosowania leków dostępnych bez recepty (OTC) przez dorosłych mieszkańców województwa małopolskiego. Zjawisko to jest szeroko rozpowszechnione i stanowi ważne zagadnienie w ochronie zdrowia. Problematyka stosowania leków dostępnych bez recepty (OTC, over-the-counter) stanowi istotny aspekt promocji zdrowia. Zgodnie z definicją Międzynarodowej Federacji Farmaceutycznej (FIP) samodzielne leczenie objawów zaobserwowanych u siebie poprzez stosowanie leków dostępnych bez recepty możemy nazywać samoleczeniem (*self-medication*). Samoleczenie jest zjawiskiem propagowanym przez wiele krajów w Europie i na świecie. Pacjenci zachęceni są do większej niezależności w podejmowaniu decyzji dotyczących zdrowia. Również w Polsce staje się coraz ważniejszym obszarem w ramach opieki zdrowotnej.

**Cel:** Celem badań będzie poznanie zjawiska i czynników determinujących samodzielne stosowanie leków dostępnych bez recepty (OTC) przez osoby dorosłe z województwa małopolskiego.

**Metody:** Metodą, która zostanie wykorzystana do zebrania niezbędnych informacji, będzie sondaż diagnostyczny. Narzędziem badawczym będzie autorski kwestionariusz ankiety (dotyczący stosowania leków dostępnych bez recepty) oraz trzy standaryzowane narzędzia badawcze: Inwentarz Zachowań Zdrowotnych (IZZ), Skala Uogólnionej Własnej Skuteczności (GSES), Wielowymiarowa Skala Umiejszczenia Kontroli Zdrowia (MHLC).

**Kryteria włączenia do badania:** 1. osoba dorosła; 2. osoba zameldowana w województwie małopolskim. **Kryterium wyłączenia z badania:** brak zgody na przeprowadzenie badania

**Grupa badana:** Badanie zostanie przeprowadzone wśród grupy 1000 dorosłych Polaków z województwa małopolskiego wybranych drogą losowania przez Departament Ewidencji Państwowych i Teleinformatyki w Warszawie. Ankiety będą rozsyłane drogą pocztową, a ich zwrot będzie anonimowy.

**Planowany termin rozpoczęcia badań:** II kwartał 2013 roku.

MICHAŁ NATKANIEC

## AKTYWACJA UKŁADU KRZEPNIĘCIA U CHORYCH OPEROWANYCH METODĄ LAPAROSKOPOWĄ W TRYBIE PLANOWYM

II Katedra Chirurgii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wytworzenie podczas zabiegu laparoskopowego odmy otrzewnowej wiąże się z podniesieniem ciśnienia w jamie brzusznej, co powoduje zastój krwi w dużych żyłach. Odwrotna pozycja Trendelenburga, w której przeprowadza się zabieg laparoskopowej cholecystektomii, upośledza powrót żylny. Czynniki te mogą sprzyjać powstawaniu zakrzepicy żył głębokich (ZZG), choroby o niemyym przebiegu klinicznym i dającej poważne powikłania.

Celem pracy jest zbadanie wpływu wytworzenia odmy otrzewnowej na zachowanie się układu krzepnięcia oraz określenie związku między wskaźnikiem masy ciała (BMI) i wiekiem chorego a stanem układu krzepnięcia po zabiegu.

Badaną grupę stanowiło 40 chorych (K:M=31:9, średni wiek  $49 \pm 15,1$  lat, średnie BMI  $26 \pm 2,3$  kg/m<sup>2</sup>), nieobciążonych czynnikami ryzyka ZZG, niepoddawanych terapii przeciwzakrzepowej oraz bez odchyleń od normy liczby płytek krwi w badaniu morfologicznym. Grupa została poddana zabiegowi laparoskopowej cholecystektomii lub adrenalektomii. Zachowanie się układu krzepnięcia oceniono na podstawie analizy parametrów: aPTT, PT i TT. Próbkę krwi na badanie koagulologiczne pobrano dwukrotnie: w dniu przyjęcia (próbka A) oraz 5 godzin po zabiegu (próbka B). W analizie statystycznej wykorzystano test Wilcoxon dla par obserwacji oraz współczynnik korelacji liniowej Pearsona.

Średni PT, aPTT i TT próbki A wyniósł odpowiednio  $1,11 \pm 0,09$  INR;  $32,96 \pm 4,64$  s;  $15,54 \pm 1,64$  s. Średni PT, aPTT i TT próbki B wyniósł odpowiednio  $1,21 \pm 0,12$  INR;  $36,08 \pm 9,18$  s;  $15,71 \pm 1,72$  s. Zmiana parametrów krzepnięcia była istotna statystycznie dla PT,  $p=0,0008$ . BMI korelował z PT próbki B ( $p=0,04$ ).

Znamiennie statystycznie wydłużenie PT wskazuje na zmniejszone ryzyko aktywacji układu krzepnięcia w okresie pooperacyjnym. Wiek chorego nie wpływa na stan układu krzepnięcia po zabiegu. Należy zwrócić uwagę na ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych w przypadku chorych z nadwagą lub otyłych.

KATARZYNA NAZIMEK, KRZYSZTOF BRYNIARSKI

## EGZOSOMALNY CZYNNIK SUPRESYJNY LIMFOCYTÓW T CD8<sup>+</sup> HAMUJE ZDOLNOŚĆ MAKROFAGÓW DO INDUKCJI ODPORNOŚCI HUMORALNEJ U MYSZY

Katedra Immunologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Makrofagi posiadają zdolność do fagocytozy, przygotowania oraz prezentacji antygenów, co prowadzi do indukcji odpowiedzi adocytywnej. Ponadto makrofagi pełnią funkcje efektorowe w nadwrażliwości kontaktowej, która u myszy może być regulowana przez limfocyty T CD8<sup>+</sup> supresyjne produkujące czynnik T supresyjny (TsF). Nasz zespół wykazał, iż TsF złożony z antygenowo-swoistych egzosomów zawierających miRNA150 moduluje funkcje makrofagów w odpowiedzi komórkowej. Celem niniejszych badań było określenie, czy TsF wpływa na zdolność makrofagów do indukcji odpowiedzi humoralnej na antygen korpuskularny – erytrocyty barana (SRBC).

**Materiały i metody:** Makrofagi otrzewnowe indukowane tioglikolanem inkubowano z frakcją egzosomów trinitrofenolowo-swoistego TsF (TNP-TsF) lub kontrolnego czynnika negatywnego (NF), który nie wykazuje działania hamującego reakcję nadwrażliwości. Następnie makrofagi karmiono wyznakowanym haptenu TNP-SRBC i podano dootrzewnowo naiwnym biorcom. Siedem dni później od każdego biorcy pobrano indywidualnie krew oraz śledziona i oszacowano wielkość zaindukowanej odpowiedzi humoralnej w testach hemaglutynacji bezpośredniej (ocena miana swoistych przeciwciał w surowicy) oraz tworzenia łąsinek hemolitycznych – PFA (zliczenie komórek produkujących swoiste przeciwciała).

**Wyniki:** U biorców makrofagów stymulowanych egzosomami TNP-TsF zaobserwowano istotnie obniżoną liczbę komórek tworzących łąsinki w PFA (o 34%;  $p < 0,001$ ) oraz zmienioną proporcję miana przeciwciał anty-TNP-SRBC klas IgM/IgG (2/8;  $p < 0,01$ ) w porównaniu do grup kontrolnych biorców makrofagów nietraktowanych czynnikami (0,5/9) lub traktowanych egzosomami NF.

**Wnioski:** Modułacja aktywności makrofagów przez egzosomy TNP-TsF spowodowała zahamowanie dojrzewania odpowiedzi humoralnej na antygen korpuskularny wyrażone poprzez obniżenie liczby limfocytów B produkujących swoiste przeciwciała wraz ze spowolnieniem procesu przełączania klas immunoglobulin. Powyższe wyniki wskazują na istnienie mechanizmu immunoregulacji aktywności limfocytów B mediowanego przez makrofagi stymulowane antygenowo-swoistymi egzosomami jako nośnikami cząsteczek miRNA.

KATARZYNA NESSLER

## WPŁYW OBECNOŚCI CUKRZYCY TYPU 2 NA PROFIL PODFRAKCJI CHOLESTEROLU HDL U PACJENTÓW Z CHOROBAŃ NIEDOKRWIENNĄ SERCA

Zakład Medycyny Rodzinnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Pomimo uznanego powszechnie, korzystnego oddziaływania frakcji HDL w procesie miażdżycy w ostatnim okresie pojawiły się doniesienia wskazujące, że wysokie stężenia HDL nie zawsze są pożądane, a czasem wręcz niekorzystne.

W publikacjach z ostatnich lat pojawiło się określenie tak zwanego „dysfunkcyjnego” HDL. Określenie to odnosi się do sytuacji klinicznych, w których cholesterol HDL traci swoje korzystne przeciwzapalne i przeciwutleniające właściwości. Pozbawiony działania przeciwmiażdżycowego cholesterol HDL staje się „dysfunkcyjny”.

W ostatnim czasie pojawia się coraz więcej danych z badań eksperymentalnych i klinicznych wskazujących na niekorzystną rolę mieloperoksydazy (MPO) w przebiegu licznych stanów chorobowych. Obserwacje te dotyczą wielu schorzeń, związanych przede wszystkim ze stanami zapalnymi i stresem oksydacyjnym – wśród nich wymieniane są choroba niedokrwienna serca i cukrzyca typu 2.

Mieloperoksydaza jest enzymem łączącym się z Apo AI i modyfikującym HDL. Do jej uwalniania dochodzi podczas degranulacji neutrofilii i monocytów w obrębie blaszki miażdżycowej. Wydostający się na zewnątrz komórek enzym może rozprzestrzeniać się we krwi lub płynach tkankowych, jak również wiązać się z niektórymi strukturami tkankowymi lub molekularnymi bliższego lub dalszego otoczenia. Przeprowadzone do tej pory badania wskazują, że MPO poprzez aktywację peroksydacji lipidów może zaburzać prawidłowe działanie HDL, a dokładniej Apo AI. Badania wskazują, że w obecności mieloperoksydazy Apo AI nie tylko traci swoje korzystne działanie przeciwmiażdżycowe, ale uczestniczy w procesie inicjowania i rozwoju blaszki miażdżycowej.

W pracy doktorskiej postanowiono zbadać obecność MPO w poszczególnych podfrakcjach cholesterolu HDL jako czynnika uszkadzającego ich prawidłowe funkcjonowanie w populacji osób ze stabilną chorobą wieńcową i towarzyszącą cukrzyca typu 2.

MICHAŁ B. NESSLER, KATARZYNA NESSLER, FIONA M. WOOD

## WPLYW MATRYCY DO REGENERACJI SKÓRY INTEGRA® NA POZIOMY OSOCZOWYCH CYTOKIN I CZYNNIKÓW WZROSTU W TRAKCIE GOJENIA RAN – BADANIE NA MODELU EKSPERYMENTALNYM

Burn Injury Research Unit, School of Surgery, University of Western, Australia; Oddział Chirurgii Plastycznej i Rekonstrukcyjnej, Dziecięce Centrum Oparzeniowe, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Medycyny Rodzinnej, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Rany pełnej grubości skóry zaopatrywane są najczęściej przeszczepami skóry lub technikami płatowymi. Możliwe jest również zastosowanie substytutów skóry, umożliwiających regenerację skóry właściwej, zmniejszając bliznowacenie. Jednym z częściej stosowanych materiałów do regeneracji skóry jest matryca INTEGRA®. Badania histologiczne ujawniły odmiennosć etapów gojenia z zastosowaniem tego materiału, potencjalnie zmniejszającego nasilenie procesu zapalnego w ranie. Brak jest analizy stężeń osoczowych cząsteczek zapalnych i czynników wzrostu.

Aby przeanalizować wpływ matrycy INTEGRA® na poziomy osoczowych cytokin i czynników wzrostu, przeprowadzono badanie na modelu eksperymentalnym wykorzystującym myszy C57BL/6. U zwierząt oznaczono we krwi obwodowej stężenia IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , FGF-2, GM-CSF, PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TGF- $\beta$ 3 wyjściowo oraz w 1., 3., 7. i 14. dobie po wytworzeniu rany pełnej grubości skóry odpowiadającej 10% TBSA i wszczępieniu matrycy INTEGRA®. Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta bez implantowanego materiału. Obserwowano istotnie krótszy czas gojenia ran u zwierząt leczonych Integraw w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0,05$ ). Zwierzęta z implantowaną Integraw miały niższe stężenia TGF- $\beta$ 3 ( $p = 0,041$ ) w dniu 1., niższe stężenia IL-10 ( $p = 0,001$ ) i TNF- $\alpha$  ( $p = 0,009$ ) w dniu 7. W grupie tej obserwowano wyższe stężenia FGF-2 w dniu 3. ( $p = 0,01$ ) oraz wyższe stężenia PDGF-BB w dniu 14. ( $p = 0,046$ ) w porównaniu z grupą kontrolną. Nie obserwowano istotnych różnic w ilości komórek jednojądrzastych w badaniu histologicznym preparatów z dnia 14.

Działanie przeciwzapalne matrycy INTEGRA® w niewielkim stopniu jest obserwowane we krwi obwodowej. Głównym szlakiem odpowiedzi zapalnej, ulegającym modyfikacji po implantacji Integry, jest szlak związany z TNF- $\alpha$ . Klinicznie może się to w przyszłości przełożyć na opracowanie środków farmakologicznych blokujących tę cząsteczkę celem stworzenia terapii zmniejszających bliznowacenie.

RYSZARD NOSALSKI, TOMASZ MIKOŁAJCZYK,  
RYSZARD KORBUT, TOMASZ GUZIK

## ROLA CHEMOKINY RANTES W MECHANIZMIE OKOŁONACZYNIOWEGO STANU ZAPALNEGO W NADCIŚNIENIU TĘTNICZYM ZALEŻNYM OD ANGIOTENSYNY II

Laboratorium Medycyny Translacyjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Nadciśnienie tętnicze powiązane jest z aktywacją limfocytów T oraz infiltracją przez zaktywowane limfocyty okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej. Mechanizm tego zjawiska ciągle pozostaje nieznanym. Chemokina RANTES wydaje się odgrywać ważną rolę w tym procesie. Przy użyciu cytometrii przepływowej podjęto próbę wyjaśnienia tego zjawiska w mysim modelu nadciśnienia tętniczego zależnego od Angiotensyny II.

Wyniki: Angiotensyna II (AngII) indukuje zwiększoną infiltrację okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej (pvAT) przez leukocyty ( $2407 \pm 108$  v.  $654 \pm 23$  kom/mg;  $p < 0,01$ ). Wśród naciekających komórek wykazano znamienne wzrost limfocytów T ( $730 \pm 38$  v.  $140 \pm 23$  kom/mg;  $p < 0,01$ ). Ponadto zaobserwowano zwiększenie ekspresji mRNA chemokiny RANTES w pvAT ( $p < 0,001$ ). Jednocześnie wykazano, że myszy z wyindukowanym nadciśnieniem tętniczym pozbawione genu kodującego RANTES charakteryzowały się zmniejszoną liczbą komórek CD3+ infiltrujących pvAT ( $394 \pm 80$  v.  $730 \pm 38$  kom/mg;  $p < 0,05$ ). Analiza limfocytów T rezydujących w pvAT wykazała, że w toku rozwoju nadciśnienia tętniczego dochodzi do wzrostu ekspresji receptorów dla chemokiny RANTES: CCR1 ( $27,9 \pm 4,6\%$  v.  $15,7 \pm 1\%$ ), CCR3 ( $17,1 \pm 1,4\%$  v.  $10,5 \pm 1,4\%$ ) oraz CCR5 ( $23,6 \pm 0,9\%$  v.  $17 \pm 0,9\%$ ). Podobnego efektu nie zaobserwowano w tłuszczu wisceralnym.

Izolowane limfocyty T wykazują zwiększoną migrację w kierunku pvAT pozyskanego z myszy traktowanych AngII w porównaniu do tłuszczu myszy kontrolnych ( $4,4 \pm 0,7\%$  v.  $0,17 \pm 0,17\%$ ;  $p < 0,01$ ). Ponadto pvAT wykazywał ponad 5 razy większe działanie chemotaktyczne limfocytów T w porównaniu do tłuszczu wisceralnego ( $4,4 \pm 0,7\%$  v.  $0,8 \pm 0,1\%$ ;  $p < 0,05$ ). AngII indukowała wzrost migracji limfocytów T (natomiast nie B) w kierunku chemokiny RANTES. Limfocyty T o fenotypie CD4-CD8- migrowały najbardziej efektywnie w porównaniu z limfocytami T CD4+ i CD8+.

Podsumowanie: W nadciśnieniu tętniczym zależnym od AngII chemokina RANTES odgrywa istotną rolę w rekrutacji limfocytów T do okołonaczyniowej tkanki tłuszczowej, stanowiąc ważny mechanizm reakcji zapalnych.

LUDWIK ODRZYWOLEK

## OCENA ZALEŻNOŚCI MIĘDZY LICZBĄ RODZEŃSTWA A WYBRANYMI WSKAŹNIKAMI KONDYCJI BIOLOGICZNEJ

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

Wyniki wielu badań sugerują istnienie kompromisów między zwiększaniem liczby potomstwa w obrębie rodziny a pogarszaniem się jego „jakości”. Liczne badania epidemiologiczne wykazały negatywny związek pomiędzy wielkością rodziny a zdrowiem i odżywieniem dziecka.

Celem badania było sprawdzenie, czy zależność między liczbą dzieci a ich „jakością”, tzn. wybranymi wskaźnikami kondycji biologicznej, występuje w wiejskiej populacji Beskidu Wyspowego. Analizowano różnice w wysokości, masie ciała i BMI w grupie dzieci w wieku 2–18 lat w zależności od liczby rodzeństwa, które dana osoba posiada.

Informacje o osobach uczestniczących w badaniu zostały zebrane w ramach projektu „Mogielica XXI. Jakość życia i zdrowie” w latach 2003–2012 w jednej z wsi Beskidu Wyspowego. Do analizy włączono 1574 pomiary dzieci. Dane demograficzne i wywiad rodzinny przeprowadzono za pomocą kwestionariuszy, dokonano również pomiarów antropometrycznych. W celu porównania wysokości ciała, masy i BMI dzieci różnej płci oraz w różnym wieku obliczono różnicę ich pomiarów od 50. centyla wyznaczonego przez WHO.

Analiza regresji wykazała negatywny związek między liczbą rodzeństwa a masą ciała, wzrostem i wskaźnikiem BMI badanych dzieci. Dzieci wychowujące się razem z liczniejszym rodzeństwem były istotnie niższe, lżejsze i charakteryzowały się niższym wskaźnikiem BMI od tych wychowujących się w mniejszych rodzinach.

Wyniki, które uzyskano, wskazują na obecność negatywnego wpływu zwiększania liczby potomstwa na jego „jakość” wśród obu płci. Liczba rodzeństwa wyjaśnia niewielką część zmienności badanych cech, co może wynikać z obecności rodzicielskich mechanizmów kompensacyjnych oraz pomocy dziadków. W badanej populacji wielodzietność nie stanowi zatem poważnego zagrożenia dla rozwoju fizycznego dzieci.



ZUZANNA ORUBA, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA, ANETA SROKA,  
JAN POTEMPA, WOJCIECH MACYK

## FOTODYNAMICZNA INAKTYWACJA BAKTERII PORPHYROMONAS GINGIVALIS

Katedra Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, Instytut Stomatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Mikrobiologii, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński; Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Przeciwbakteryjna terapia fotodynamiczna (antimicrobial photodynamic therapy, aPDT) polega na niszczeniu drobnoustrojów przez reaktywne formy tlenu, powstające w wyniku wzbudzenia fotosensybilizatora światłem o długości fali odpowiadającej jego maksimum absorpcji. Zastosowanie aPDT stanowi obiecujące uzupełnienie terapii zapalenia przyzębia. Po pierwsze, umożliwia inaktywację periodontopatogenów, które dzięki zdolności inwazji komórek nabłonka bytują w tkance dziąsła, co uniemożliwia ich eliminację poprzez mechanoterapię. Po drugie, nie powoduje powstawania oporności mikroorganizmów.

Celem badania było określenie podatności periodontopatogennej, beztlenowej, Gram-ujemnej bakterii *Porphyromonas gingivalis* na fotodynamiczną inaktywację.

Badania przeprowadzono na szczepie wzorcowym *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Badanym fotosensybilizatorem był błękit toluidyny. Do wzbudzenia fotosensybilizatora wykorzystano diodowe źródło światła czerwonego (dł. fali 630 nm) (Fotosan, CMS Dental). Badano skuteczność procesu fotodynamicznej inaktywacji mikroorganizmów w fazie planktonicznej w zależności od stężenia fotosensybilizatora (0,004 mg/ml–0,5 mg/ml) oraz dawki światła (czas naświetlania 10–30 sekund). Po naświetleniu bakterii posiewano na płytki krwawe i po 7 dniach hodowli w warunkach beztlenowych liczono kolonie. Skuteczność procesu fotodynamicznej inaktywacji wzrasta z wydłużaniem czasu naświetlania. Przy stężeniu TBO 0,1 mg/ml i czasie naświetlania 30 sekund nie zaobserwowano wzrostu bakterii (całkowita inaktywacja bakterii). Niższe stężenia fotosensybilizatora oraz krótsze czasy naświetlania powodowały spadek wydajności procesu fotodynamicznej inaktywacji mikroorganizmów, chociaż różnice wzrostu pozostawały istotne w porównaniu do kontroli (wzrost bez aplikacji światła i fotosensybilizatora).

Przeciwbakteryjna terapia fotodynamiczna może zostać użyta jako skuteczna metoda eradykacji periodontopatogenicznej bakterii *P. gingivalis* w zakażonej tkance przyzębia.

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

EWA OTRĘBSKA, JADWIGA HANDZLIK, SANDRINE ALIBERT-FRANCO, JACQUELINE CHEVALIER, JEAN-MARIE PAGÈS, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

## BADANIE MECHANIZMÓW HAMOWANIA LEKOOPORNOŚCI BAKTERII GRAM-UJEMNYCH PRZEZ AMINOWE POCHODNE ARYLIDENOHYDANTOINY NA BAZIE SZCZEPÓW E. AEROGENES

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

Na przestrzeni ostatnich lat jesteśmy świadkami drastycznie wzrastającej liczby zgonów spowodowanych chorobami zakaźnymi, co w głównej mierze związane jest z rozwojem bakteryjnej oporności na antybiotyki. Jednym z najistotniejszych mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój oporności w bakteryjnych szczepach wielolekoopornych (MDR) jest aktywny wyrzut leków za pomocą białkowych pomp zlokalizowanych w ścianie komórkowej<sup>1</sup>. Bakterie Gram-ujemne wytworzyły specjalne trójskładnikowe systemy wyrzutu, z których do najlepiej poznanych należą AcrAB-TolC oraz MexAB-OprM, odpowiedzialne za transport antybiotyków z cytoplazmy do środowiska zewnątrzkomórkowego. Jedną ze strategii walki z MDR, wpływającą na utrzymanie wysokiego stężenia wewnątrzkomórkowego antybiotyków, jest blokowanie bakteryjnych systemów wyrzutu przez inhibitory (EPIs). Na podstawie przeprowadzonych wcześniej badań<sup>2</sup> dokonano modyfikacji strukturalnych, które doprowadziły do otrzymania serii nowych 5-arylidenowych pochodnych hydantoiny, które zostały przebadane na szczepach *Enterobacter aerogenes* o różnej ekspresji pompy AcrAB-TolC. Synteza nowej serii związków obejmowała kondensację Knoevenagela, reakcję Mitsunobu, stapianie z aminami i Ndeprotekcję. Otrzymane związki zostały przebadane w kierunku aktywności antybakteryjnej – wyznaczając wartość ich minimalnego stężenia hamującego (MIC) oraz zdolności do obniżania wartości MIC różnych antybiotyków. Dla najaktywniejszych związków zbadano sposób oddziaływania z antybiotykami, sporządzając izobologramy, oraz zbadano ich wpływ na pompę AcrAB-TolC w teście Real-Time Efflux, wykorzystującym fluorescencyjny barwnik 1,2'-DNA. Uzyskane wyniki wskazują, że istotny wpływ na właściwości EPIs może mieć obecność wolnej piperazyny połączonej linkerem 2-hydroksypropylovym z azotem hydantoiny w położeniu 3 oraz podstawnika lipofilowego w położeniu 5 hydantoiny.

### Literatura:

1. Pietras Z. et al., „Curr. Drug. Targets.”, 2008, 9, 719–728.
2. Handzlik J. et al., „Bioorg. Med. Chem.”, 2013, 21, 135–146.

OKSANA PAŃKIW-BEMBENEK, KATARZYNA ZBIERSKA, ANDRZEJ GACKOWSKI,  
BARTŁOMIEJ GUZIK, KRZYSZTOF ŻMUDKA

## WPLYW CIĄGŁEJ ŻYLNO-ŻYLNEJ HEMOFILTRACJI NA RYZIKO WYSTĄPIENIA NEFROPATII POKONTRAKTOWEJ U CHORYCH Z ZAAWANSOWANĄ PRZEWLEKŁĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA, PODDAWANYCH ZABIEGOM INTERWENCYJNYM Z UŻYCIEM ŚRODKÓW KONTRASTOWYCH

Zakład Hemodynamiki i Angiokardiografii, Instytut Kardiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Niewydolność serca (HF) często współistnieje z niewydolnością nerek. Blisko 1/3 pacjentów z ostrą HF oraz 25–40% pacjentów z przewlekłą HF rozwija dysfunkcję nerek. Diagnostyka oraz leczenie HF o etiologii niedokrwiennej (70% przypadków) wymaga badań z użyciem środków cieniujących, których stosowanie może przyczynić się do pogorszenia funkcji nerek oraz wystąpienia nefropatii pokontrastowej (CIN). Pacjenci z przewlekłą chorobą nerek, HF i cukrzycą są szczególnie narażeni na wystąpienie CIN. Szacowane ryzyko wystąpienia CIN w wymienionych grupach wynosi od 12 do 26%. Standardowe przygotowanie pacjentów do koronarografii, polegające na dożylnym podaniu płynów, nie zawsze jest możliwe ze względu na często występujące cechy przewodnienia. Takie przygotowanie również nie eliminuje całkowicie ryzyka uszkodzenia nerek u pacjentów z wysokim prawdopodobieństwem wystąpienia CIN.

Celem niniejszego badania jest ocena wpływu ciągłej żylnno-żylnej hemofiltracji (CVVH) na ryzyko wystąpienia CIN u pacjentów z zaawansowaną HF narażonych na wpływ środków kontrastowych.

Badaniem zostaną objęci pacjenci z zaawansowaną przewlekłą HF, z dysfunkcją skurczową lewej komory oraz przewlekłą chorobą nerek kierowani do diagnostyki/leczenia interwencyjnego, którzy wyrazili świadomą zgodę na udział w badaniu. Celem prewencji CIN pacjenci okołozabiegowo będą poddawani CVVH. Wystąpienie CIN będzie oceniane w 72. godzinie po podaniu kontrastu, zgodnie z definicją.

Wyniki wstępnych badań oszacowują ryzyko wystąpienia CIN w danej populacji na poziomie 7,7% (badaniem objęto 14 pacjentów), co zachęca do kontynu-

owania podjętej problematyki. Wstępne wyniki wpływu CVVH na parametry nerkowe oraz stopień zaawansowania HF zostały ujęte w referacie.

**Wnioski:** Nowatorskie wykorzystanie hemofiltracji jako sposobu prewencji CIN u pacjentów bardzo wysokiego ryzyka w przyszłości może stać się standardem postępowania leczniczego.

DOROTA PAWLICA-GOSIEWSKA

## OCENA PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW ZAPALNYCH W ROZPOZNANIU ORAZ OCENIE AKTYWNOŚCI KLINICZNEJ WRZODZIEJĄCEGO ZAPALENIA JELITA GRUBEGO

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

Diagnostyka wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (CU) jest dla pacjenta długotrwała, kosztowna i inwazyjna. Z tego powodu poszukuje się nowych parametrów laboratoryjnych, które będą obiektywnym narzędziem pomiarowym aktywności choroby, prognozowania zaostrzeń oraz monitorowania leczenia.

Do badania włączono 26 pacjentów chorych na CU (grupa I) oraz 44 pacjentów zdrowych do grupy kontrolnej (grupa II). Pacjenci chorzy na CU zostali podzieleni za pomocą indeksu Truelove-Wittsa na pacjentów z chorobą w stadium aktywnym (grupa IA) oraz w stadium remisji (grupa IB). Stężenia białka C-reaktywnego mierzono przy pomocy immunonefelometrii. Pozostałe oceniane parametry zostały zmierzone w osoczu metodą immunoenzymatyczną ELISA. Rozkład ocenianych parametrów był różny od normalnego, dlatego wyniki przedstawione są jako mediana (Q1-Q3).

Stężenie białka CRP było znamienne wyższe w grupie I niż w grupie II (odpowiednio 11,61 [6,08–27,20] v. 1,18 [0,08–4,32] mg/l,  $p < 0,0001$ ). Podobnie, stężenie kalprotektyny w osoczu było znamienne wyższe w grupie I w porównaniu z grupą II (odpowiednio 82 [55–220] v. 42,5 [10–231] ng/ml,  $p = 0,0106$ ). Stężenie pentraksyny 3 oraz neopteryny nie różnicowało grupy I od II. Stężenie białka CRP oraz pentraksyny 3 było bardziej znamienne podwyższone w grupie IA niż w grupie IB (odpowiednio CRP: 11,6–42,6 v. 4,13 (2,20–7,16) mg/l,  $p = 0,0003$  i pentraksyna 3: 1,10 (0,75–1,68) v. 0,43 (0,32–0,61) pg/ml,  $p = 0,0005$ ). Nie zaobserwowano różnic w stężeniach neopteryny i kalprotektyny pomiędzy grupami IA i IB. Zaobserwowano korelacje pomiędzy pentraksyną 3 a białkiem CRP w grupie I ( $p < 0,04$ ;  $r = 0,61$ ). Stężenie białka CRP ( $r = 0,70$ ;  $p < 0,0001$ ) oraz pentraksyny 3 ( $r = 0,68$ ;  $p < 0,0001$ ) silnie korelowało z aktywnością CU.

Zaobserwowano, że stężenie białka CRP oraz kalprotektyny oznaczanej w osoczu jest wyższe u pacjentów chorych na CU w porównaniu z grupą kontrolną. Pentraksyna 3 oraz białko CRP mogą być potencjalnymi wskaźnikami pomocnymi w wykrywaniu i monitorowaniu aktywności CU.

KAROLINA PERSONA, ANNA POLUS, JOANNA GÓRALSKA, ANNA GRUCA,  
ALDONA DEMBIŃSKA-KIEĆ, WOJCIECH PIEKOSZEWSKI

## WPŁYW BENZYLOPIPERAZYNY – MODELOWEGO ZWIĄZKU Z GRUPY „DOPALACZY” – NA PROCES APOPTOZY

Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Zakład Biochemii Klinicznej, Katedra Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

N-benzylpiperazyna (BZP) – jeden z najczęściej występujących składników tzw. „dopalaczy” – zaliczana jest do stymulantów ośrodkowego układu nerwowego, a objawy obserwowane po przyjęciu tej substancji są określane jako 10-ciękrotnie słabsze od efektów działania d-amfetaminy. Mechanizm działania BZP jest porównywany do mechanizmu działania 3,4-metylenodioksymetamfetaminy (Ecstasy, MDMA), co może wskazywać, że BZP, podobnie jak MDMA, wykazuje działanie neuro- i hepatotoksyczne.

Celem prowadzonych badań było określenie wpływu BZP na proces apoptozy komórek dwóch ludzkich linii nowotworowych – wątrobowych (HepG2) oraz glejowych (LN-18). Na komórkach poddanych działaniu BZP przez 24 godziny z wykorzystaniem techniki cytometrii przepływowej FACS analizowano zmiany potencjału błony mitochondrialnej, generację wolnych rodników (ROS), jak również generację ATP oraz aktywność kaspazy-3 z wykorzystaniem metod fluorescencyjnych.

Na podstawie oceny aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oraz dostępnej literatury na temat oznaczeń benzylpiperazyny w materiale biologicznym osób przyjmujących tę substancję dokonano wyboru zakresu stężeń ksenobiotyku (10, 30, 100 oraz 300 ug/ml), stosowanego do dalszych eksperymentów. W przypadku linii komórkowej HepG2 odnotowano istotny statystycznie spadek potencjału błony mitochondrialnej oraz spadek generacji ATP przez komórki dla najwyższych stosowanych stężeń benzylpiperazyny. W przypadku komórek linii LN-18 stwierdzono istotne obniżenie zawartości ATP w komórkach, wzrost produkcji ROS oraz wzrost potencjału błony mitochondrialnej. Potwierdzeniem zachodzącego procesu apoptozy komórek pod wpływem BZP jest również stwierdzona aktywacja kaspazy-3.

Otrzymane wyniki wskazują, że benzylpiperazyna indukuje proces apoptozy w komórkach w stężeniach porównywalnych do wykrywanych u osób przyjmujących tę substancję.

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



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

## WPROWADZENIE DO GENETYKI RDZENIASTEGO RAKA TARCZYCY

Katedra Endokrynologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Częstość występowania raka rdzeniastego tarczycy (MTC) szacuje się na ok. 5–10% wszystkich diagnozowanych nowotworów tarczycy. W około 80% przypadków jest to nowotwór sporadyczny, natomiast 20% ma charakter dziedziczny i wiąże się z uwarunkowaniem obecnością mutacji w genie RET. Dziedziczny rak tarczycy może występować w postaci izolowanej, bez chorób towarzyszących, jako rodzinny rak tarczycy (FMTC), lub stanowić jeden z objawów klinicznych zespołu mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2 (MEN2).

Protoonkogen RET koduje receptorową kinazę tyrozynową zlokalizowaną na powierzchni komórek C tarczycy, która bierze bezpośredni udział w przekazywaniu sygnałów decydujących o wzroście i różnicowaniu się komórki. Obecnie znanych jest ponad 30 różnych mutacji tego genu. Wszystkie z opisanych mają charakter autosomalny dominujący i zlokalizowane są w eksonach: 10, 11, 13, 14, 15 i 16 tego genu. W większości przypadków dotyczą konserwatywnego regionu bogatego w reszty cysteinowe zewnątrzblonowej domeny białka lub centrum katalitycznego kinazy tyrozynowej. Najczęstszym obserwowanym efektem zachodzących mutacji jest stała, niezależna od związania ligandu aktywacja receptora, która prowadzi do niekontrolowanych podziałów komórki i w końcowym efekcie do kancerogenezy.

Celem pracy jest sprawdzenie częstości występowania wybranych na podstawie obserwacji laboratoryjnych polimorfizmów: S649L, G691S, L769L, S836S, S904S genu RET u osób ze sporadyczną postacią MTC, MEN2, FMTC i osób zdrowych. Zaplanowane badanie pozwoli sprawdzić znaczenie wymienionych wyżej polimorfizmów w patogenezie rdzeniastego raka tarczycy u osób w populacji południowej Polski oraz zweryfikować, czy mają one wpływ na wiek zachorowania, występowanie przerzutów, tempo wzrostu czy występowanie nawrotów choroby.

Prezentowana praca stanowi omówienie strategii planowanego badania. Jest także podsumowaniem dotychczasowej wiedzy o genetycznym podłożu raka rdzeniastego tarczycy.

SZYMON PIETRUSZKA, ALINA KOS, NATALIA KAWALEC, ROBERT SZCZEPARA

## ANALIZA SKUTECZNOŚCI URZĄDZENIA DO TRANSPORTU NEREK ZAPEWNIĄCEGO CIĄGŁY PRZEPŁYW PERFUZYJNY LIFEPORT (ORGAN RECOVERY SYSTEM) ORAZ OKREŚLENIE JEGO WPLYWU NA PARAMETRY NERKI PRZESZCZEPIONEJ WE WCZESNYM OKRESIE PO ZABIEGU

I Katedra Chirurgii Ogólnej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Transplantacja nerki jest najlepszą metodą leczenia w przypadku chorych z przewlekłą niewydolnością nerek. Okres od pobrania narządu od dawcy zmarłego do momentu reperfuzji jest kluczowy dla zminimalizowania ryzyka uszkodzenia reperfuzyjnoniedokrwiennego oraz ryzyka wystąpienia opóźnionej funkcji przeszczepu. Dostępne metody transportu obejmują standardowy transport w lodzie lub system przepływu perfuzyjnego (LifePort).

**Cel badania:** Celem badania jest porównanie skuteczności dwóch systemów do transportu nerek pobranych od dawcy zmarłego (transport w lodzie i system przepływu perfuzyjnego) oraz określenie ich wpływu na opóźnioną funkcję przeszczepu u biorcy.

**Materiał i metody:** Do badania włączono 40 pacjentów operowanych w roku 2012 w I Katedrze Chirurgii Ogólnej UJ CM, u których przeszczepiono nerkę od dawcy zmarłego. Pacjentów zakwalifikowano do grup w zależności od systemu transportującego. Z badania wyłączono biorców, w przypadku których druga nerka dawcy została zdyskwalifikowana. Analizie statystycznej poddano parametry: ilość hemodializ po przeszczepie przed podjęciem funkcji graftu, ilość dni hospitalizacji, poziom kreatyniny, czas ciepłego i zimnego niedokrwienia.

**Wyniki:** W przypadku zastosowania systemu perfuzyjnego LifePort, pomimo dłuższych czasów zarówno zimnego, jak i ciepłego niedokrwienia, chorzy wymagali mniejszej ilości hemodializ oraz zaobserwowano mniejszą liczbę wystąpienia opóźnionej funkcji nerki przeszczepionej w porównaniu do transportu konwencjonalnego (odpowiednio  $p=0,0007$  oraz  $p=0,005$ ). Nie zaobserwowano statystycznej różnicy w długości czasu hospitalizacji w zależności od sposobu transportu nerki od dawcy.

**Wnioski:** Zastosowanie systemu LifePort jest skuteczniejszą metodą transportu nerek od dawcy zmarłego niż konwencjonalne metody. Zapewnienie ciągłej perfuzji nerki pobranej od dawcy zmarłego skraca czas konieczny do podjęcia pracy przez nerkę przeszczepioną.

MARTA PILARCZYK, ANNA RYGULA, AGNIESZKA KACZOR,  
ŁUKASZ MATEUSZUK, EDYTA MAŚLAK, ANDRZEJ FEDOROWICZ,  
STEFAN CHŁOPICKI, MAŁGORZATA BARAŃSKA

## BADANIE STANU ŚCIANY NACZYNIĄ KRWIONOŚNEGO MYSZY CUKRZYCOWYCH TECHNIKĄ SPEKTROSKOPII RAMANOWSKIEJ I MIKROSKOPII SIŁ ATOMOWYCH

Zakład Fizyki Chemicznej, Zespół Obrazowania Ramanowskiego, Wydział Chemii; Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński

Cukrzyca jest bardzo szeroko rozpowszechnioną chorobą cywilizacyjną. Liczba chorych na cukrzycę w 1995 roku wynosiła 136 mln, podczas gdy wzrost zachorowań szacuje się na 300 mln przypadków w 2025 roku<sup>1</sup>. Konieczne jest zatem jak najdokładniejsze poznanie przyczyn oraz przebiegu choroby, a także sposobu zapobiegania oraz leczenia cukrzycy.

Celem pracy było wykorzystanie wysokorozdzielczej spektroskopii ramanowskiej do analizy składu biochemicznego tkanki<sup>2</sup> wraz z dystrybucją poszczególnych komponentów. Badano, jak zmienia się sygnał biochemiczny podczas pomiarów próbek aort en face myszy zdrowych (model C57) oraz cukrzycowych (model db/db). Obrazowanie ramanowskie pozwala na wizualizację jąder komórkowych (785 cm<sup>-1</sup>), hemu (1588, 1130 oraz 750 cm<sup>-1</sup>) oraz raft lipidowych (2885, 1303 i 1072 cm<sup>-1</sup>). Sygnał biochemiczny otrzymywany techniką spektroskopii ramanowskiej oraz informacja o topografii otrzymywana techniką mikroskopii sił atomowych (AFM) są różne dla tkanek pochodzących od myszy zdrowych oraz cukrzycowych. Wykorzystując AFM, zaobserwowano, że na wewnętrznej stronie aorty en face zmienia się ilość raft lipidowych odpowiedzialnych za przekazywanie sygnału, która wzrasta dla stanu patologicznego w porównaniu z kontrolą.

### Literatura:

1. King H., Aubert R. E., Heman W. H., „Diabetes Care” 21, 1998, 1414–1431.
2. Majzner K., Kaczor A., Kachmakova-Trojanowska N., Fedorowicz A., Chłopicki S., Barańska M., „Analyst”, 2012, DOI:10.1039/C2AN36222H.

KATARZYNA PIOTROWICZ-WÓJCIK, GRZEGORZ PORĘBSKI, WOJCIECH DYGA,  
KRYSTYNA OBTUŁOWICZ, EWA CZARNOBILSKA

## CYTOMETRYCZNY TEST AKTYWACJI BAZOFILÓW W DIAGNOSTYCE NADWRAŻLIWOŚCI NA NIESTEROIDOWE LEKI PRZECIWPALNE

Zakład Alergologii Klinicznej i Środowiskowej, Katedra Toksykologii i Chorób Środowiskowych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** W diagnostyce nadwrażliwości na niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) coraz częściej wykorzystuje się nową metodę diagnostyki *in vitro* – test aktywacji bazofilów. Szczególne zastosowanie ma on w grupie chorych z reakcjami nadwrażliwości typu natychmiastowego, takimi jak reakcja anafilaktyczna, ostra pokrzywka czy obrzęk naczynioruchowy, i w tej grupie chorych raportuje się jego wysoką czułość i swoistość.

**Cel:** Ocena skuteczności testu aktywacji bazofilów (BAT) w grupie pacjentów z nadwrażliwością typu natychmiastowego na jeden lub kilka leków z grupy NLPZ.

**Materiały i metody:** Badanie zostało wykonane u 31 osób z potwierdzoną wywiadem lub testem prowokacji doustnej nadwrażliwością typu natychmiastowego na NLPZ oraz u 30 osób tolerujących te leki. Testowano 4 alergeny lekowe w trzech stężeniach: kwas acetylosalicylowy, ibuprofen, diklofenak, metamizol. Do testów aktywacji bazofilów użyto zestawów Flow2CAST firmy Buhlmann. Badanie cytometryczne zostało przeprowadzone na cytometrze przepływowym FACS Canto. Wyniki analizowano przy pomocy oprogramowania Diva software. Jako markera aktywacji bazofilów użyto przeciwciała anty-CD63. Do analizy statystycznej wykorzystano program PRISM 5.0 oraz STATISTICA 10.0.

**Wyniki:** Indeks stymulacji – ilość aktywowanych bazofilów w próbce do ich ilości w kontroli negatywnej – powyżej 2 oraz ilość aktywowanych bazofilów wyższa niż 5% świadczyły o dodatnim wyniku testu. Czuość testu BAT wyniosła 58,1%, swoistość 83,3%, predykcja dodatnia 78,3%, predykcja ujemna 65,8%. Optymalny punkt odcięcia dla indeksu stymulacji wyznaczony przy pomocy krzywej ROC wyniósł 1,8. Najwyższy średni odsetek aktywowanych bazofilów uzyskano dla najniższego stężenia kwasu acetylosalicylowego, diklofenaku, pyralginy i najwyższego stężenia ibuprofenu.

**Wnioski:** Test BAT wydaje się skutecznym narzędziem diagnostycznym w nadwrażliwości na NLPZ w wybranej grupie pacjentów.

JOANNA PIOTROWSKA

## SPEKTROFOTOMETRYCZNE METODY OZNACZANIA ANTYBIOTYKÓW PEPTYDOWYCH PO REAKCJACH MODYFIKACJI NA PRZYKŁADZIE WANKOMYCYN

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

Antybiotyki peptydowe nie wykazują absorpcji promieniowania w zakresie 300–800 nm (bliski UV-Vis), przez co są trudne do analizy spektrofotometrycznej. Aby dokonać oznaczeń tych związków, wymagana jest modyfikacja cząsteczki, prowadząca do otrzymania pochodnych o odmiennych właściwościach fizykochemicznych. Zmianę struktury można uzyskać przez przyłączenie do macierzystej cząsteczki chlorku dimetyloamino-azobenzenosulfonowego (DBS), aldehydu o-ftalowego lub o-nitrobenzoesowego.

Celem badań było opracowanie warunków reakcji wybranych antybiotyków peptydowych z wyżej wymienionymi reagentami w aspekcie wykorzystania do celów analitycznych metodą spektrofotometrii UV-Vis.

Antybiotyki peptydowe to ważna klinicznie grupa związków, niezastąpiona w leczeniu zakażeń o różnorodnej etiologii i umiejscowieniu, nade wszystko cenna ze względu na działanie bójcze względem szczepów bakterii opornych na inne grupy antybiotyków. Niestety są one obciążone poważnymi działaniami ubocznymi (nefro-, oto-neurotoksyczność), co wymusza staranny dobór dawki, a co się z tym wiąże – kontrolę jakości surowca/gotowego preparatu leczniczego.

Przydatność metody wykazano poprzez oznaczenie zawartości wankomycyny w substancji farmakopealnej i preparacie Vancomycin-MIP, uzyskując zadowalające wyniki. Opracowany sposób ilościowego oznaczania antybiotyku przez wzgląd na prostotę, krótki czas analizy i niski koszt wykonania może być korzystną alternatywą w stosunku do opisywanych w literaturze metod HPLC, CE, radioimmunologicznych, enzymatycznych oraz mikrobiologicznych.

### Literatura:

1. A. Witek, H. Hopkala, G. Matysik, „Chromatographia”, 41, 50 (1999).
2. J. Krzek, J. Piotrowska, „Acta Pol. Pharm.”, 68, 853 (2011).
3. M. Vila et al., „Quim. Nova”, 395, 30 (2007).

MAREK PIOTROWSKI, KRZYSZTOF SZCZEPANOWICZ, DANUTA JANTAS,  
MONIKA LEŚKIEWICZ, WŁADYSŁAW LASON, PIOTR WARSZYŃSKI

## KAPSUŁKI Z POWŁOKAMI POLIELEKTROLITOWYMI JAKO NANO-SYSTEMY DOSTARCZANIA LEKÓW NEUROPROTEKCYJNYCH

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk;  
Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk

Nanokapsułki syntezowano poprzez nanoszenie polielektrolitów na krople nanoemulsji, tzw. rdzenie, metodą *layer-by-layer* (warstwa po warstwie). Rdzenie otrzymywano poprzez dodawanie, podczas łagodnego mieszania, fazy olejowej – mirystynianu izopropylu (IPM) z rozpuszczonym anionowym surfaktantem dokuzynianem sodowym (AOT) – do wodnego roztworu kationowego polielektrolitu. Powstałe na granicy faz woda – olej kompleksy surfaktant-polielektrolit, stabilizujące nanoemulsje, stanowiły podstawę do nakładania kolejnych warstw przeciwnie naładowanych polielektrolitów kationowych (PDADMAC, PAH, PLL) oraz anionowych (PGA). Tak przygotowane nanokapsułki scharakteryzowano pod względem wielkości cząstek oraz potencjału zeta. Biokompatybilność kapsulek określono za pomocą testów biochemicznych MTT i LDH, wykorzystując w tym celu ludzką linię komórkową neuroblastomy (SH-SY5Y). Uzyskane wyniki wskazują, że nanokapsułki, których powłoki zbudowane były z polielektrolitów PLL i PGA, nie są toksyczne dla komórek SH-SY5Y, dlatego zostały wybrane jako nośniki dla modelowego leku neuroprotekcynowego (MDL 28170). Efekty neuroprotekcynowe rozpuszczonej w rdzeniu nanokapsułki substancji aktywnej zbadano w modelu uszkodzeń komórek SH-SY5Y inkubowanych z nadtlakiem wodoru. Testy MTT wykazały, że działanie ochronne na komórki inkubowane z  $H_2O_2$  enkapsulowanego MDL 28170, podobnie jak podanego bezpośrednio do medium hodowlanego z komórkami, jest istotne statystycznie. Co więcej, neuroprotekcynowe działanie MDL 28170 zamkniętego w kapsułkach zaobserwowano przy ~40 razy mniejszej dawce. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowane nano-systemy dostarczania leków neuroochronnych mogą służyć jako obiecujący nowy sposób skutecznej terapii chorób neurodegeneracyjnych.

MONIKA POBIEGA, AGNIESZKA CHMIELARCZYK, PIOTR B. HECZKO

## TYPOWANIE REPLIKONÓW PLAZMIDOWYCH U PAŁECZEK ESCHERICHIA COLI

Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wprowadzenie:** Plazmidy to pozachromosomalne fragmenty DNA, zdolne do autonomicznej replikacji. Są obecne niemal u wszystkich bakterii i mogą zawierać geny oporności na antybiotyki czy wirulencji. Schemat klasyfikacji plazmidów oparty jest na stabilności i kompatybilności plazmidów podczas koniugacji. Kompatybilność plazmidów manifestuje zdolność plazmidu do współistnienia w tej samej komórce z innym typem plazmidu, który posiada podobny schemat replikacji. Niekompatybilność oznacza, że dwa plazmidy używające podobnej maszyny replikacyjnej nie mogą jednocześnie namnażać się w danej komórce. Typowanie replikonów plazmidowych (ang. Plasmid Replicon Typing) bazuje na reakcjach łańcuchowej polimerazy (PCR). Pozwala to na badanie filogenetycznego podobieństwa pomiędzy plazmidami. Plazmidy z rodziny Enterobacteriaceae klasyfikowane są do najczęściej występujących grup. Wiadomo, że typ replikonu koreluje z obecnością beta-laktamaz o rozszerzonym spektrum (ESBL) – około 50% replikonów z fenotypem ESBL to IncF, IncII, IncA/C.

**Metody:** Izolaty *Escherichia coli* pochodzące z zakażeń szpitalnych zostały przebadane pod kątem obecności 18 typów replikonów przy pomocy PCR. Plazmidy zaklasyfikowano do najbardziej popularnych grup (HI2, HI1, X, L/M, N, FIA, FIB, FIC, W, Y, P, A/C, T, K, B/O).

**Wyniki:** Fenotypem ESBL-dodatnim cechowało się 25 izolatów (27,7%). Wśród izolatów wykryto 12 różnych typów plazmidów. Więcej niż jeden typ występował u 62 (68,8%) izolatów. Najczęściej występowały typy IncFIB (n=60, 66,6%), IncF (n=55, 61,1%) i IncFIA (n=28, 31,1%). Nie znaleziono typów plazmidów IncX, N, W, A/C, T, K/B. U pięciu izolatów nie zidentyfikowano żadnego typu plazmidowego.

**Wnioski:** Metoda może być stosowana do monitorowania obiegu plazmidów ze szczepów z różnych środowisk lub do śledzenia horyzontalnej transmisji genów oporności wśród bakterii z rodziny Enterobacteriaceae.

BARTŁOMIEJ POCHWAT, BERNADETA SZEWCZYK, GABRIEL NOWAK

## WPLYW JONÓW MAGNEZU NA EKSPRESJĘ PODJEDNOSTEK GLUN2A I GLUN2B RECEPTORA NMDA W HIPOKAMPIE I KORZE PRZEDCZOŁOWEJ SZCZURÓW PODDANYCH PROCEDURZE CHRONICZNEGO ŁAGODNEGO STRESU

Pracownia Badań Radioreceptorowych, Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Neurobiologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

Depresja jest jednym z najcięższych i najdotkliwszych schorzeń trapiących współczesne społeczeństwa. Mimo różnorodnej dostępnej terapii wiele odnotowanych przypadków tej choroby nie poddaje się skutecznemu leczeniu. W związku z tym podejmowane są próby badawcze, których podstawowym celem jest dokładniejsze poznanie mechanizmu neurobiologicznego stojącego za rozwojem depresji, co w konsekwencji może wskazać na nowe możliwości w zakresie farmakologicznych procedur wdrażanych u chorych na depresję. Od wielu lat mnogość różnego typu badań wskazuje na zmiany w funkcjonowaniu układu glutaminianergicznego u chorych na depresję.

W naszym badaniu określiliśmy wpływ jonów magnezu na ekspresję podjednostek GluN2A i GluN2B receptora NMDA w korze przedczołowej i hipokampie szczurów poddanych procedurze chronicznego łagodnego stresu. Badanie to wychodzi naprzeciw licznym eksperymentom wskazującym na istotne zmiany w ekspresji dwóch wyżej wymienionych protein oraz na korelację zachodzącą pomiędzy tymi zmianami a depresją, ewentualnie zachowaniami depresyjnymi w modelach i testach zwierzęcych. Nasza praca pokazuje wzrost ekspresji podjednostki GluN2A w hipokampie pod wpływem procedury chronicznego łagodnego stresu. Efekt ten nie występuje, gdy zwierzęta otrzymują dawkę magnezu. Ponadto podanie jonów magnezu u zwierząt stresowanych jest przyczyną wzrostu ekspresji podjednostki GluN2B w korze przedczołowej.



AGNIESZKA POLCZAK

## ENDOTOKSEMIA JAKO CZYNNIK RYZYKA I PARAMETR PROGNOSTYCZNY W UDARZE NIEDOKRWIENNYM MÓZGU

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

Endotoksyna (lipopolisacharyd, LPS) to glikolipid zlokalizowany w zewnętrznej warstwie błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych, uwalniany do krwiobiegu podczas klinicznie jawnych infekcji, w schorzeniach przewlekłych, a także wykrywany w surowicy osób zdrowych. Endotoksyna jest silnym aktywatorem reakcji zapalnej. Wyniki licznych badań wskazują, że u pacjentów z udarem niedokrwinnym mózgu podwyższone stężenie we krwi markerów stanu zapalnego wiąże się z niekorzystnym rokowaniem i zwiększonym ryzykiem wystąpienia kolejnych epizodów naczyniowych.

Celem niniejszego badania jest określenie, czy endotoksemia jest czynnikiem ryzyka i czynnikiem prognostycznym udaru niedokrwinnego mózgu. Projekt badawczy przewiduje udział 80 pacjentów z pierwszym w życiu udarem niedokrwinnym mózgu oraz 80 osób grupy kontrolnej. Badanie obejmuje pomiar stężenia w surowicy LPS, LBP, sCD14, naturalnych przeciwciał wiążących endotoksynę, CRP oraz pomiar aktywności czynnika NFκB w komórkach krwi za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA, w 1., 3. i 7. dobie udaru. Stopień deficytu neurologicznego określany jest przy pomocy Skali Udarowej Narodowego Instytutu Zdrowia, wielkość ogniska niedokrwinnego oceniana jest przy pomocy badania rezonansu magnetycznego z opcją dyfuzji, wykonane go pomiędzy 3. a 5. dobą udaru.

Wyniki badania powinny przynieść istotne informacje na temat wpływu układowego procesu zapalnego na przebieg udaru mózgu. Jeżeli potwierdziłaby się hipoteza zakładająca, że endotoksemia predysponuje do wystąpienia udaru mózgu oraz wpływa niekorzystnie na rokowanie, mogłoby to mieć konsekwencje praktyczne. Wyniki badania dałyby podstawy do intensywnego poszukiwania i leczenia ukrytych ognisk zakażenia, u osób znajdujących się w grupie dużego ryzyka udaru mózgu.

BARTOSZ POMIERNY, BOGUSŁAWA BUDZISZEWSKA

**DZIAŁANIE CYTOTOKSYCZNE, PROAPOPTOTYCZNE  
ETERÓW GLIKOLU ETYLENOWEGO W BADANIACH  
*IN VITRO* NA KOMÓRKACH LUDZKIEJ  
NEUROBLASTOMY SH-SY5Y**

Zakład Biochemii Toksykologicznej, Katedra Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Neuroendokrynologii Eksperymentalnej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

Celem badań jest określenie neurotoksycznego działania trzech wybranych eterów glikolu etylenowego (EGE): 2-fenoksyetanolu, 2-butoksyetanolu oraz 2-etoksyetanolu.

EGE to związki niezwykle często stosowane w praktyce. Znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, są składnikami większości środków chemii gospodarczej oraz wielu kosmetyków.

Metabolizm tych związków nie był jednak dotychczas badany w mózgu, toteż nie jest potwierdzone występowanie kwasów alkoksyoctowych w jego strukturach. W działaniu obwodowym metabolity EGE wykazują niejednokrotnie silniejsze działanie toksyczne od związków macierzystych. Uzasadnione zatem wydaje się oznaczenie stężenia metabolitów tych związków w poszczególnych strukturach mózgu. Co więcej, nasze dotychczasowe badania wykazały, że kwasy fenoksyoctowy oraz butoksyoctowy silnie i w sposób zależny od stężenia uszkadzają ludzkie neurony w modelu *in vitro*, a podobne nasilenie uszkodzeń (określanych poziomem uwalnianej do medium dehydrogenazy mleczanowej – LDH, oraz redukcją MTT) obserwowano po zastosowaniu dużo niższych stężeń tych kwasów niż po dodaniu związków macierzystych.

Badania, będące tematem rozprawy doktorskiej, prowadzone przez nasz zespół wykazały, że 2-butoksyetanol oraz 2-fenoksyetanol znacznie silniej uszkadzają komórki ludzkiej neuroblastomy – SH-SY5Y niż 2-etoksyetanol oraz 2-metoksyetanol, związki o silnym działaniu hematotoksycznym oraz gonadotoksycznym. Działanie toksyczne EGE nie było dotychczas badane w kierunku ich potencjalnego wpływu na ośrodkowy układ nerwowy. Wiadomo jedynie, że związki te, ale nie ich metabolity, przechodzą przez barierę krew-mózg. Badania będące przedmiotem rozprawy doktorskiej pozwoliły wstępnie określić działanie neurotoksyczne *in vivo* oraz *in vitro* poszczególnych związków.

Wykazano także działanie dla PHE, BE oraz ich metabolitów. Oznaczenie markerów apoptozy, aktywność kaspazy-3 oraz oznaczenie potencjału membranowego mitochondriów pozwala stwierdzić, że mniejsze dawki związków wykazują indukcję procesu apoptozy w komórkach SH-SY5Y.

BEATA POWROŹNIK, PAWEŁ ZAJDEL, MACIEJ PAWŁOWSKI,  
KRZYSZTOF MARCINIEC, ELŻBIETA PĘKAŁA

## MODELE *IN SILICO* I *IN VITRO* W OCENIE BEZPIECZEŃSTWA STOSOWANIA NOWYCH POCHODNYCH ARIPIPAZOLU

Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Katedra Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Chemii Organicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny

Wprowadzanie nowych substancji o potencjalnym działaniu terapeutycznym do fazy klinicznej wymaga obowiązkowego przeprowadzenia badań bezpieczeństwa ich stosowania. Wykorzystanie modeli komputerowych i mikrobiologicznych testów *in vitro* do szacowania potencjalnych właściwości mutagennych substancji stanowi bardzo cenną alternatywną metodę w stosunku do badań na zwierzętach.

Przedmiotem pracy była ocena potencjalnych właściwości antymutagennych dla 9 nowo zsyntetyzowanych pochodnych aripiprazolu, dla których wcześniej zdefiniowano aktywność przeciwłękową i przeciwdepresyjną<sup>1</sup>.

Przewidywanie potencjału mutagennego pochodnych aripiprazolu wykonano w pierwszym etapie, korzystając ze specjalistycznego oprogramowania komputerowego OSIRIS, które służy do szybkiego wstępnego oszacowania mutagenności, kancerogenności, teratogenności, właściwości drażniących, a także właściwości fizykochemicznych i prawdopodobieństwa posiadania własności lekowych na podstawie struktury chemicznej. Spośród związków poddanych analizie OSIRIS wskazał tylko dwa połączenia PZ-387 i PZ-549, które posiadają umiarkowane właściwości mutagenne.

W drugim etapie dla badanych związków wykonano mikrobiologiczny test *Vibrio harveyi*<sup>2</sup>, wykorzystując szczep dziki i trzy jego zmutowane odmiany. Badania przeprowadzono wobec wzorcowego mutagenu – N-tlenku-N-nitrochinyliny. Wyniki uzyskane w metodzie *in vitro* nie potwierdziły przewidzianych właściwości mutagennych dla dwóch wcześniej wymienionych związków.

Aripiprazol i wszystkie jego pochodne w teście *V. harveyi* były pozbawione właściwości mutagennych, charakteryzowała je natomiast korzystna aktywność chemoprewencyjna (antymutagenna), dlatego związki te można bez obaw zarekomendować do dalszych badań farmakologicznych.

### Literatura:

1. Zajdel P. i in., „Eur. J. Med. Chem.” (2013), 42–50.
2. Czyż A. i in., „Mutat. Res.” (2002), 67–74.

MAGDALENA PRZYBYLSKA-FELUŚ, MAŁGORZATA ZWOLIŃSKA-WCISŁO,  
AGATA FURGAŁA, MARCEL MAZUR, ALICJA WIDERA, PIOTR THOR,  
TOMASZ MACH

## OCENA ZABURZEŃ W AUTONOMICZNYM UKŁADZIE NERWOWYM ORAZ CZYNNOSCI MIOELEKTRYCZNE ŻOŁĄDKA U CHORYCH NA CELIAKIĘ

Klinika Gastroenterologii i Hepatologii; Klinika Chorób Zakaźnych; Katedra Patofizjologii,  
Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Znaczenie zmian w autonomicznym układzie nerwowym (AUN) u chorych z celiakią (C) nie zostało w pełni poznane.

Cel badań: Ocena zaburzeń czynności AUN na czynność mioelektryczną żołądka u chorych z C.

Materiał i metody: Badaniem objęto 25 chorych z C (8 mężczyzn, 17 kobiet, wiek  $42,4 \pm 15,8$  lat) oraz 30 osób zdrowych, grupa kontrolna (9 mężczyzn i 21 kobiet, wiek  $42,1 \pm 9,2$  lat). Czynność mioelektryczną żołądka (EGG) badano za pomocą 4-kanalowego systemu elektrogastrografii – Polygraf NET – na czczo, po posiłku i po wypiciu wody. Czynność AUN oceniano za pomocą zmienności czynności serca (HRV) (Task Force Monitor) w spoczynku, podczas głębokiego oddychania (DB), w reakcji na stres.

Wyniki: EGG. U chorych z C wykazano na czczo zaburzenia czynności mioelektrycznej żołądka: obniżone wskaźniki procentowe normogastrii ( $52,1 \pm 25$  v.  $86 \pm 12,3$ ;  $p=0,02$ ) oraz sprzężenia fal wolnych (SWC) ( $63,1 \pm 18$  v.  $67 \pm 18$ ;  $p=0,01$ ), wzrost mocy dominującej (log DP) ( $12,3 \pm 1$  v.  $11,1 \pm 1,1$ ;  $p=0,0001$ ). Standardowy posiłek i test wodny nie powodowały poprawy wartości wskaźników EGG AUN. W spoczynku wskaźniki HRV: moce widma o niskiej częstotliwości (log LF) ( $5,73 \pm 1,8$  v.  $6,9 \pm 0,8$ ;  $p=0,006$ ) i wysokiej częstotliwości (log HF) ( $5,64 \pm 2,1$  v.  $7,0 \pm 1,2$ ;  $p=0,001$ ) były niższe u chorych z C. W reakcji na DB obserwowano u chorych z C wzrost wskaźników HRV: normalizowanego LF ( $51,8 \pm 13$  v.  $78,9 \pm 18$ ;  $p=0,0001$ ) i stosunku LF/HF ( $1,48 \pm 0,9$  v.  $15,8 \pm 16,5$ ;  $p=0,0003$ ). Wpływ DB był zbliżony u chorych z C i w grupie kontrolnej.

Wnioski: Obserwowana u chorych z celiakią zmniejszona odpowiedź autonomicznego układu nerwowego może przyczyniać się do zaburzeń czynności mioelektrycznej żołądka u tych chorych.

PAULINA RACHWALSKA, ANNA GADEK-MICHALSKA, ANDRZEJ BUGAJSKI

## ROLA NERWU BŁĘDNego W REGULACJI ODPOWIEDZI OSI PODWZGÓRZE-PRZYSADKA-NADNERCZA NA OSTRY STRES UNIERUCHOMIENIA

Zakład Fizjologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk; Katedra Patofizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Stresujące zdarzenia wpływają na wiele procesów fizjologicznych, w tym na czynnościową odpowiedź ośrodkowego układu nerwowego i układu endokrynnego.

Celem przeprowadzonych eksperymentów było zbadanie, czy nerw błędny jest zaangażowany w aktywację osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN) w odpowiedzi na ostry stres unieruchomienia w warunkach podstawowych oraz po uprzedniej ekspozycji szczurów na psychosocjalny stres przepełnienia.

Samce szczurów rasy Wistar zostały poddane wagotomii podprzeponowej 10 dni przed eksperymentem. Zwierzęta (nieoperowane, rzekomo operowane i wago-  
tomizowane) poddano stresowi przepełnienia przez 3 dni (24 szczury w klatce na 7 osobników), a następnie unieruchamiano w metalowych perforowanych tubach przez 10 minut. Bezpośrednio po zakończeniu unieruchomienia lub 1 godzinę później szczury dekapitowano i pobierano krew z szyjnych pni tętniczych do pomiaru poziomu hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) i kortykosteronu w osoczu.

Ostry stres unieruchomienia spowodował silny wzrost poziomu ACTH i kortykosteronu w osoczu bezpośrednio po unieruchomieniu. Zmiany te nie były obserwowane godzinę po zakończeniu stresu. U szczurów wago-  
tomizowanych i rzekomych unieruchomienie wywołało niższy wzrost poziomu ACTH i kortykosteronu niż u zwierząt nieoperowanych. Trzydniowy stres przepełnienia istotnie zmniejszył wydzielanie ACTH i kortykosteronu w odpowiedzi na ostry stres unieruchomienia u szczurów nieoperowanych i rzekomych. Natomiast u szczurów poddanych wagotomii nie obserwowano wywołanej stresem przepełnienia obniżonej sekrecji badanych hormonów.

Wyniki wskazują, że uprzedni stres przepełnienia przez 3 dni osłabia stymulujące działanie ostrego stresu unieruchomienia na aktywność osi PPN, co sugeruje adaptacyjny mechanizm umiarkowanego chronicznego stresu w przypadku odpowiedzi osi PPN na ostry stres. Wykazano również, że wagotomia znosi efekt stresu przepełnienia, wskazując, że nerw błędny może brać udział w desensytyzacji osi PPN w warunkach tego stresu.

ALEKSANDRA RAK, VITTORIO CANALE, KATARZYNA RAŻNY,  
PAWEŁ ZAJDEL, JACEK SAPA

## NOWE ZWIĄZKI W GRUPIE ARYLOSULFONAMIDOWYCH POCHODNYCH AMIN ALICYKLICZNYCH O WŁAŚCIWOŚCIACH $\alpha 1$ -ADRENOLITYCZNYCH JAKO POTENCJALNE LEKI W ŁAGODNYM PRZEROŚCIE GRUCZOŁU KROKOWEGO

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

Antagoniści receptorów  $\alpha 1$ -adrenergicznych są najczęściej stosowanymi lekami u chorych z łagodnym rozrostem prostaty (BPH). Obecnie wykorzystywane  $\alpha 1$ -adrenolityki charakteryzuje wysoka skuteczność terapeutyczna, jednak w wielu przypadkach prowadzą do nadmiernego spadku ciśnienia tętniczego krwi. Mając to na uwadze, strategia prowadzonych badań ma na celu uzyskanie bardziej uroselektywnych związków.

W pierwszej kolejności dla wybranej grupy związków wykonano oznaczenie powinowactwa do receptorów  $\alpha 1$  oraz  $\alpha 2$ -adrenergicznych, aktywności hipotensyjnej oraz wpływu na presyjne działanie amin katecholowych. Wszystkie dotychczas badane związki wykazały istotne powinowactwo do receptorów  $\alpha 1$ -adrenergicznych ( $K_i=46 - 132$  nM). Potwierdzeniem ich właściwości antagonistycznych w stosunku do receptora  $\alpha 1$ -adrenergicznego było zniesienie presyjnego działania metoksaminy. Podane w zakresie dawek 2–5 mg/kg nie zmniejszały istotnie ciśnienia skurczowego i rozkurczowego u normotensyjnego szczura. Otrzymane wyniki mogą wskazywać, iż badane struktury charakteryzują się uroselektywnością, co może być rezultatem ich preferencyjnego działania w obrębie konkretnych podtypów receptora  $\alpha 1$ -adrenergicznego ( $\alpha 1A/\alpha 1D$ ). Celem potwierdzenia tej hipotezy wykonane będą badania biofunkcyjne na izolowanych narządach. Potwierdzeniem skuteczności terapeutycznej tych związków będzie ocena parametrów urodynamicznych u szczurów z indukowanym testosteronem przerostem prostaty.

Badania finansowane w ramach projektu NCN 2011/03/B/NZ7/00724.

AGNIESZKA RUGOR, MACIEJ SZALENIEC,  
ANDRZEJ BOJARSKI, MAŁGORZATA WITKO

## ZASTOSOWANIE BAKTERYJNEJ DEHYDROGENAZY C-25 STEROIDOWEJ DO SYNTEZY 25-HYDROKSYSKOLES TEROLU

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków; Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

25-hydroksycholesterol (25CH) jest ważnym regulatorem biosyntezy, aktywacji oraz transportu cholesterolu w organizmie. Badania ostatnich lat wykazały istotną rolę 25CH również w regulacji systemu odpornościowego. 25CH hamuje syntezę immunoglobuliny A i dlatego proponowany jest jako lek przeciwko schorzeniom wywoływanym nadprodukcją IgA, np. nefropatia IgA. 25CH jest również czynnikiem hamującym infekcje wirusowe, w tym infekcje wywołane wirusem HIV. Przeszkodą w zintensyfikowaniu badań nad immunologiczną funkcją 25CH jest wysoka cena substancji, wynikająca ze skomplikowanej i wieloetapowej procedury syntezy. Wyizolowany z denitryfikującej bakterii *Sterolibacterium denitrificans* enzym molibdenowy – dehydrogenaza C25 steroidowa (S25DH) – katalizuje reakcję regioselektywnego utlenienia węgla w pozycji 25 cząsteczek steroidowych. S25DH jest zaangażowana w beztlenową degradację cholesterolu, tworząc 25-hydroksyloowane produkty: cholest-4-en-3-onu i cholesta-1,4-dien-3-onu. Znana jest metoda beztlenowego oczyszczania labilnej na tlen S25DH, która pozwoliła na biochemiczną charakterystykę katalizatora oraz potwierdzenie jednoetapowej reakcji hydroksylacji cholesterolu w miejscu C-25. Jednak dopiero metoda efektywnego pozyskiwania enzymu w warunkach tlenowych pozwoli na praktyczne zastosowanie enzymu do produkcji 25CH. Prezentujemy porównanie metod oczyszczania S25DH w warunkach tlenowych i beztlenowych oraz wyniki testów aktywności dla pochodnych cholesterolu: bursztynianu i siarczanu cholesterolu.



RADOSŁAW RYCHLAK, PAWEŁ ROSTOFF, MAGDALENA WILCZYŃSKA,  
JADWIGA NESSLER

## OCENA ZWIĄZKU MIĘDZY ŚREDNIĄ OBJĘTOŚCIĄ PŁYTKI KRWI (MPV) A ZAAWANSOWANIEM MIAŻDŻYCY TĘTNIC WIEŃCOWYCH I CHARAKTERYSTYKĄ TĘTNICY DOZAWAŁOWEJ U CHORYCH Z OSTRYM ZAWAŁEM SERCA Z UNIESIENIEM ODCINKA ST (STEMI)

Instytut Kardiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Oddział Kliniczny Choroby Wieńcowej KSS im. Jana Pawła II, Kraków

Średnia objętość płytki krwi (MPV), będąca prostym i łatwo dostępnym wskaźnikiem aktywności płytek, jest istotnie wyższa u pacjentów z chorobą wieńcową niż u osób bez objawów choroby niedokrwiennej serca. Dotychczas przeprowadzone badania dotyczące związku MPV z zaawansowaniem miażdżycy tt. wieńcowych dały sprzeczne wyniki. Jeszcze mniej wiadomo na temat zależności między MPV a charakterystyką tętnicy dozawałowej u chorych z ostrym zawałem serca z uniesieniem odcinka ST (STEMI).

Celem była ocena związku między MPV a zaawansowaniem miażdżycy tt. wieńcowych w koronarografii i charakterystyką tętnicy dozawałowej u chorych z STEMI.

Do badania włączono 348 kolejnych chorych z STEMI w wieku 33–89 lat (średnio  $63,9 \pm 11,5$  lat), w tym 123 (35,3%) kobiety. Na podstawie wyznaczonych przedziałów tercylowych MPV spośród badanych pacjentów wyodrębniono trzy grupy: I – ( $n=116$ , w śr. wieku  $64,7 \pm 11,7$  lat), II – ( $n=116$ , w śr. wieku  $63,2 \pm 10,9$  lat) i III – ( $n=116$ , w śr. wieku  $64,0 \pm 11,9$  lat). Ocenie poddano zaawansowanie miażdżycy tt. wieńcowych i charakterystykę t. dozawałowej w badanych grupach chorych.

U badanych chorych z STEMI nie stwierdzono istotnego związku MPV z występowaniem istotnych hemodynamicznie ( $\geq 70\%$ ) zwężeń w tt. wieńcowych: LAD, LCx i RCA, a także z charakterystyką tętnicy dozawałowej. Częstości występowania choroby wieńcowej 1-naczyniowej, 2-naczyniowej i 3-naczyniowej nie różniły się istotnie w badanych grupach chorych. Wykazano natomiast, że wartości MPV były znamienne większe u chorych z istotnym ( $\geq 50\%$ ) zwężeniem pnia lewej tętnicy wieńcowej (LMCA) w porównaniu do chorych z istotnymi zwężeniami w tt. wieńcowych innych niż LMCA, a także do osób bez istotnych zwężeń w tt. wieńcowych ( $12,20 \pm 1,33$  v.  $10,43 \pm 1,06$  v.  $9,71 \pm 1,27$  fL;  $p < 0,001$ ).

RAFAL SADOWSKI, PIOTR B. HECZKO, WOJCIECH MACYK

## FILMY FOTOKATALITYCZNE AKTYWNE W ŚWIETLE WIDZIANYM JAKO POTENCJALNE POWIERZCHNIE ANTYBAKTERYJNE

Zespół Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej, Zakład Chemii Nieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Parazytologii, Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Tworzywa sztuczne stały się podstawowym materiałem stosowanym w przemyśle medycznym, wypierając z niego swoje odpowiedniki wykonane ze szkła czy też metalu. Powodem tego jest ich niska cena, trwałość, lekkość oraz możliwość łączenia z innymi materiałami. Produkty medyczne wykonane z tworzyw sztucznych narażone są na tworzenie się na ich powierzchni biofilmu, uznawanego za jeden z czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych. Zakażenia szpitalne obejmują każde zakażenie, które wystąpiło w związku z udzieleniem świadczeń zdrowotnych, w przypadku gdy choroba nie pozostawała w momencie udzielania świadczeń zdrowotnych w okresie wylegania lub wystąpiła po udzieleniu świadczeń zdrowotnych, w czasie nie dłuższym niż najdłuższy okres jej wylegania. Nową strategią w walce z zakażeniami szpitalnymi może być zastosowanie fotokatalitycznych powłok ditlenku tytanu (TiO<sub>2</sub>) jako czynników antybakteryjnych. TiO<sub>2</sub> oprócz bardzo dobrej aktywności fotodynamicznej inaktywacji bakterii jest nietoksyczny, biokompatybilny oraz tani. Niemodyfikowany TiO<sub>2</sub> może być stosowany tylko w warunkach naświetlania światłem UV, w celu zwiększenia jego praktycznego zastosowania „uczula się go” (sensybilizuje) na zakres światła widzialnego. Jedną z metod sensybilizacji jest modyfikacja powierzchni związkami koordynacyjnymi.

Komercyjnie dostępne folie wykonane z tworzywa sztucznego zostały poddane działaniu niskotemperaturowej plazmy tlenowej, a następnie pokryte koloidalnym roztworem nanokrystalicznego tlenku tytanu (IV) techniką wirową (*spin coating*) i zanurzeniową (*dip coating*). Zsyntetyzowane powłoki poddano sensybilizacji, stosując impregnację związkami organicznymi, a następnie zbadano ich trwałość, aktywność fotokatalityczną oraz fotodynamiczną inaktywację względem *E. Coli*.

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

AGNIESZKA SAGAN, WOJCIECH MROWIECKI, TOMASZ MIKOŁAJCZYK,  
KAROL URBAŃSKI, GRZEGORZ FILIP, BOGUSŁAW KAPELAK,  
TOMASZ MROWIECKI, RYSZARD KORBUT, TOMASZ J. GUZIK

## MIEJSCOWY STAN ZAPALNY I STRES OKSYDACYJNY W TĘTNIAKU AORTY BRZUSZNEJ

Laboratorium Medycyny Translacyjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Oddział Chirurgii Ogólnej i Małoinwazyjnej, Szpital im. J. Grandego w Krakowie; Oddział Kliniczny Chirurgii Serca, Naczyń i Transplantologii, Szpital Specjalistyczny Jana Pawła II w Krakowie; Wojewódzki Oddział Chirurgii Naczyń i Angiologii, Szpital im. J. Grandego, Kraków; Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Patogeneza tętniaka aorty brzusznej (ang. abdominal aortic aneurysm – AAA) jest złożona i wciąż nie do końca poznana. Miejscowy stan zapalny i stres oksydacyjny zdają się odgrywać znaczącą rolę. Sugeruje się, że w różnych miejscach tętniaka procesy te przebiegają z różną intensywnością. Celem naszych badań jest ocena infiltracji komórek zapalnych w ścianie AAA, a także zweryfikowanie różnic w nacieku tych komórek i intensywności produkcji anionorodnika ponadtlenkowego w trzech odrębnych obszarach ściany AAA: tzw. „szyi tętniaka” (ang. neck area, NA), części o maksymalnym poszerzeniu (ang. maximal dilation, MD) i w przejściowej strefie pomiędzy nimi (ang. transitional area, TA). Fragment AAA pobrany był od 20 pacjentów poddanych resekcji tętniaka aorty brzusznej.

Metody: Komórki izolowane były metodą trawienia enzymatycznego i identyfikowane za pomocą cytometrii przepływowej. Produkcja anionorodnika mierzona była metodą chemiluminescencji zależnej od lucygeniny.

Wyniki: (Średnia, SEM). Infiltracja leukocytów w ścianie tętniaka jest wyższa w porównaniu z kontrolą ( $746,5 \pm 131$  v.  $12,7 \pm 3,5$  kom/mg,  $p < 0.001$ ) ale nie różni się pomiędzy regionami NA, MD i TA (odpowiednio:  $647,3 \pm 122,6$ ;  $736,6 \pm 166,3$ ;  $855,6 \pm 209,2$  kom/mg). Także naciek limfocytów T był wyższy w AAA w porównaniu do kontroli ( $270,8 \pm 53,8$  v.  $6,7 \pm 2,2$  kom/mg,  $p < 0.001$ ) i nie różnił się pomiędzy częściami NA, MD i TA tętniaka (odpowiednio  $210,7 \pm 46,6$ ;  $247 \pm 68,1$ ;  $280,8 \pm 79$  kom/mg). W części NA tętniaka zaobserwowano zwiększoną produkcję anionorodnika ponadtlenkowego w porównaniu do TA i MD ( $61,4 \pm 16,2$  v.  $37,4 \pm 13,7$  v.  $24,6 \pm 7,6$  RLU/s/mg,  $p < 0.05$ ).

Wnioski: W tętniaku aorty brzusznej we wszystkich badanych obszarach obserwujemy zwiększoną infiltrację leukocytów i limfocytów T. Natomiast obszar w pobliżu szyi tętniaka wykazuje największą produkcję anionorodnika ponadtlenkowego.

MAŁGORZATA SEKUŁA, KATARZYNA MIĘKUS, MARCIN MAJKA

## UDZIAŁ RECEPTORÓW CHEMOKINOWYCH CXCR4 I CXCR7 W REGULACJI WZROSTU KOMÓREK RAKA SZYJKI MACICY LINII HTB-35

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

Receptory chemokinowe CXCR4 i CXCR7 należą do rodziny siedmiotransbłonowych receptorów powierzchniowych, których aktywność jest zależna od białek G. Ich wysoka ekspresja jest charakterystyczna m.in. dla komórek nowotworowych, w tym komórek raka szyjki macicy. Wspólnie z ligandami (CXCL11 i CXCL12) pełnią istotną rolę m.in. w procesie proliferacji, migracji, tworzeniu ognisk wtórnych i wroście guzów nowotworowych.

Celem pracy było zbadanie roli receptorów CXCR4 i CXCR7 we wroście komórek raka szyjki macicy linii HTB-35.

Linie komórkowe z trwale obniżoną ekspresją receptora CXCR4 i/lub CXCR7 wyprowadzono przy wykorzystaniu wektorów lentiwirusowych. Obniżenie ich ekspresji potwierdzono na poziomie mRNA i białka. W celu oceny udziału badanych receptorów w procesie wzrostu przeprowadzono test proliferacji oraz test MTT. Ekspresję genów związanych z przerzutowaniem (MMP i TIMP) oceniono przy użyciu reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Wpływ obniżenia ekspresji CXCR4 i CXCR7 na wzrost guzów nowotworowych oceniono w warunkach *in vivo* w mysim modelu doświadczalnym.

W warunkach *in vitro* zaobserwowano brak wpływu obniżenia ekspresji receptora CXCR7 na wzrost komórek oraz stymulację proliferacji w warunkach stresu-głodzenia na skutek zahamowania aktywności receptora CXCR4. Jednoczesne obniżenie ekspresji CXCR4 i CXCR7 prowadziło do spadku tempa wzrostu, co może łączyć się ze znaczącym obniżeniem aktywności kinaz AKT i MAP po stymulacji CXCL11 i CXCL12. W warunkach *in vivo* wyłącznie obniżenie ekspresji CXCR4 skutkowało spadkiem masy guzów pierwotnych, nieznacznym ograniczeniem zdolności do przerzutowania do płuc oraz obniżeniem poziomu MMP-9.

Wykazano, że receptory CXCR4 i CXCR7 biorą udział w regulacji wzrostu komórek linii HTB-35. Wyniki wskazują, że te receptory mogą stanowić potencjalny cel w walce z chorobą nowotworową.

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

## POLIMORFIZMY GENU HLA-DRB1 A RYZYKO ZACHOROWANIA NA CHOROBE HASHIMOTO

Katedra i Klinika Endokrynologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

W ostatnich latach obserwuje się znaczny przyrost zachorowania na autoimmunologiczne zapalenie tarczycy typu Hashimoto (HT). Często dotkniętych jest kilka osób z tej samej rodziny, nieraz chorobie towarzyszą także inne schorzenia z autoimmunizacji. Wiadomo obecnie, że główną przyczynę choroby stanowią czynniki genetyczne.

Region HLA stanowi grupę genów kodujących główny układ zgodności tkanek, kluczowy element prawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Już wcześniej region ten został zasocjowany z chorobami z autoimmunizacji. Dotychczas szukano głównie powiązania między typami HLA a ryzykiem wystąpienia tych chorób. Dla HT wyniki uzyskane przez różne zespoły są jednak niejednoznaczne, co wynika zarówno z heterogenności grup w różnych badaniach (różnice etniczne, duża różnorodność regionu HLA), jak i braku ujednoczonych kryteriów rozpoznania HT. Stwierdzono przy tym, że region HLA jest sprzężony z HT w obrębie populacji, przy jednoczesnym braku asocjacji w rodzinach. Najczęściej wymienianymi typami predysponującymi do HT są HLA-DR3 i DR5, natomiast HLA-DR1 zdaje się odgrywać rolę ochronną. Według najnowszych hipotez bardziej prawdopodobne wydaje się jednak, że to nie określony typ HLA-DR, a specyficzna sekwencja eksonu 2 genu HLA-DRB1, kodującego peptydową kieszeń wiążącą i prezentującą antygen, warunkuje predyspozycje do wystąpienia choroby. Tymi kodonami są Tyr 26, Tyr 30, Gln 70, Lys 71, Arg 74, występujące w różnych typach HLA, co tłumaczyłoby brak jedności różnych zespołów naukowych.

Zaprezentowane zostaną własne wyniki dotyczące genu HLA-DRB1 w grupie pacjentów niespokrewnionych z chorobą Hashimoto i odpowiedniej grupie kontrolnej. Badanie zostało zaprojektowane tak, że możliwe jest określenie zarówno typu, jak i kluczowych aminokwasów występujących u danej osoby oraz stwierdzenie sprzężenia między nimi a występowaniem choroby Hashimoto w Małopolsce.

DOMINIK SKIBA, RYSZARD NOSALSKI, TOMASZ MIKOŁAJCZYK,  
AGNIESZKA SAGAN, RAFAŁ OLSZANECKI, JACEK JAWIEŃ,  
RYSZARD KOR BUT, TOMASZ J. GUZIK

## CHARAKTERYSTYKA KOMÓREK NACIEKAJĄCYCH TŁUSZCZ OKOŁOAORTALNY U MYSZY APOE-/- ŻYWIONYCH AGONISTĄ RECEPTORA MAS

Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** W celu poznania mechanizmów działania przeciwmiażdżycowego Ang 1-7 przeprowadziliśmy doświadczenie przy użyciu agonisty angiotensyny 1-7, którym jest substancja AVE0991 (Sanofi-Aventis). Eksperyment przeprowadzono na dwunastotygodniowych myszach ApoE<sup>-/-</sup> (Taconic) żywionych ad libitum paszą standardową (*chow diet*), służących jako model wczesnej miażdżycy. Zarówno myszom ApoE<sup>-/-</sup>, jak i myszom z grupy kontrolnej (C57BL/6) podawano placebo lub substancję AVE0991 zmieszaną z paszą. Poziom infiltracji limfocytów T do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej został zmierzony przy użyciu analizy cytometrycznej po miesiącu od momentu włączenia substancji AVE0991 do leczenia, a następnie po dwóch i trzech miesiącach.

**Rezultaty:** W pierwszym miesiącu całkowita liczba komórek T (CD3<sup>+</sup>) infiltrująca tkankę tłuszczową okołonaczyniową była wyższa w grupie myszy ApoE<sup>-/-</sup> (639 ±153 komórek/mg) niż w grupie kontrolnej (310 ±111 komórek/mg, p<0,05). Natomiast w grupie myszy ApoE<sup>-/-</sup> karmionych paszą z dodatkiem AVE0991 efekt ten został zniwelowany (223 ±62 komórek/mg, p<0,05 v. ApoE placebo). Podobne wyniki zaobserwowano również w subpopulacji limfocytów T – całkowita liczba komórek CD8<sup>+</sup> wyizolowanych z tłuszczu okołoaortalnego była wyższa w grupie myszy ApoE<sup>-/-</sup> (202 ±85 komórek/mg) niż w grupie leczonej AVE0991 (58 ±20 komórek/mg, p<0,05) i kontroli (59 ±16 komórek/mg, p<0,05). Podobny wzrost zaobserwowano wśród subpopulacji limfocytów T: CD4<sup>+</sup> i DN (CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup>). Liczba limfocytów T CD4<sup>+</sup> i limfocytów T CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>-</sup> w grupie leczonej AVE0991 była niższa (130 ±35, 28 ±14 komórek/mg odpowiednio) niż w grupie myszy ApoE<sup>-/-</sup> (333 ±77, 64 ±12 komórek/mg odpowiednio, p<0,05).

**Podsumowanie:** Infiltracja limfocytów T do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej wzrasta na wczesnym etapie rozwoju miażdżycy (już u myszy ApoE<sup>-/-</sup> szesnastotygodniowych). Agonizm receptora Mas dla Ang 1-7 przy pomocy AVE0991 efektywnie hamuje mechanizm rozwoju miażdżycy.

MICHAŁ SKOCZEK, PAWEŁ WEROŃSKI,  
EWA LUCHTER-WASYLEWSKA, PIOTR BATYS

## STRUKTURA BŁONY PROSTASOMU – SYMULACJE KOMPUTEROWE

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków; Zakład Chemii Fizjologicznej, Katedra Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Prostasomy to organelle o średnicy 50–500 nm obecne w ludzkim nasieniu. Zostały odkryte przez grupę naukowców kierowaną przez prof. G. Ronquista w roku 1978. Te jedno- lub wielowarstwowe pęcherzyki zawierają znaczną ilość fosfolipidów takich jak sfingomielin, fosfatydyloseryna oraz fosfatydyloetanolamina. Innym ważnym lipidem obecnym w membranie prostasomu jest cholesterol, który stanowi aż 2/3 wszystkich lipidów. Skład membrany prostasomu różni się znacząco od składu membran innych struktur występujących w ludzkim organizmie. Nie wiadomo dotychczas, w jaki sposób jest on rozmieszczony w membranie przy tak dużym stężeniu, ponieważ struktura i właściwości dwuwarstw bogatych w cholesterol są dalekie od pełnego wyjaśnienia.

W literaturze dostępne są stosunkowo liczne wyniki badań eksperymentalnych i teoretycznych przeprowadzonych na dwuwarstwach zawierających cholesterol jako jeden ze składników. Badania dotyczące membran zawierających cholesterol w tak dużym stosunku do fosfolipidów stanowią nieliczną grupę i dotyczą głównie określenia składu membrany. Symulacje komputerowe dwuwarstw zawierających mieszaninę fosfolipidów z cholesterolem mogą dostarczyć ważnych informacji na poziomie molekularnym o ich strukturze oraz właściwościach dynamicznych. Techniki te są wykorzystywane w wielu dziedzinach nauk biologicznych, bioinżynierii oraz jako jedno z podstawowych narzędzi do badania membran oraz dwuwarstw lipidowych.

Celem prezentowanej pracy jest ilościowy opis struktury dwuwarstwy lipidowej złożonej z cholesterolu oraz fosfolipidów w stosunku 2:1. Przedstawione wyniki otrzymaliśmy z symulacji komputerowych dynamiki molekularnej o czasie kilkudziesięciu nanosekund, pozwalającym na uzyskanie prawidłowej relaksacji układu. Prezentowane rozkłady gęstości prawdopodobieństwa poszczególnych molekuł w dwuwarstwie lipidowej oraz ich funkcje korelacyjne wskazują, że właściwości strukturalne i dynamiczne dwuwarstw lipidowych w istotny sposób zależą od zawartości cholesterolu.

PIOTR SKROBECKI, AGNIESZKA POLIT, MARTA DZIEDZICKA-WASYLEWSKA,  
MARIA NOWAKOWSKA

## WPŁYW WYBRANYCH LIGANDÓW RECEPTORÓW DOPAMINOWYCH NA BŁONY M

Pracownia Farmakologii Biochemicznej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków; Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Zakład Biochemii Fizycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Neuroleptyki są znane jako związki zaliczane do grupy ligandów receptorów błonowych sprzężonych z białkami G (GPCRs). Szczególnie uważa się, że większość z nich jest antagonistami receptorów dopaminowych. Jednak dokładny mechanizm działania tych leków, odpowiedzialny za ich efekty terapeutyczne, nie jest do końca wyjaśniony. Oprócz oddziaływania z receptorami (działanie specyficzne) neuroleptyki wykazują także działanie niespecyficzne – oddziaływanie z błonami komórek.

Wykonano wstępne badania oddziaływań wybranych ligandów receptorów dopaminowych z dwuwarstwami lipidowymi. Przetestowano związki: dopaminę, SCH-23390, oraz neuroleptyki – chlorpromazynę, haloperidol (typowe) i klozapinę (atypowe). Jako układ modelowy błon biologicznych wykorzystano liposomy jednowarstwowe wykonane z POPC. Wykonano pomiary izotermicznego miareczkowania kalorymetrycznego (ITC), które umożliwiły termodynamiczny opis oddziaływań. Uzyskane rezultaty wskazują, że najsilniej z dwuwarstwą lipidową oddziałują neuroleptyki. Nie zaobserwowano natomiast oddziaływania liposomów z naturalnym neuroprzekaźnikiem – dopaminą. Badano także wpływ ligandów receptorów dopaminowych na przepuszczalność dwuwarstwy lipidowej i jej ładunek powierzchniowy. Pomiary dynamicznego rozpraszania światła (DLS) nie wykazały znaczącego wpływu tych związków na przepuszczalność dwuwarstwy względem wody. Natomiast z pomiarów potencjału Zeta wynika, iż oddziaływaniu towarzyszy niewielka zmiana ładunku powierzchniowego liposomów.

Spośród badanych związków największy wpływ na dwuwarstwę lipidową wywierają neuroleptyki. Mniejszy efekt zaobserwowano dla syntetycznego antagonisty receptora dopaminowego D1 – SCH-23390. Natomiast ligand naturalny – dopamina – wydaje się nie oddziaływać z dwuwarstwą lipidową. Rezultaty te pokazują, że niektóre ligandy receptorów dopaminowych, w szczególności leki



stosowane m.in. w terapii schizofrenii, nie są obojętne dla błon komórkowych. W tym kontekście uzyskane wstępne wyniki wskazują na konieczność dalszego badania wpływu neuroleptyków na błony biologiczne z zastosowaniem bardziej skomplikowanych układów modelowych lub błon naturalnych.

AGATA SKRZYPEK, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA,  
KATARZYNA MACIKOWSKA, AGNIESZKA WRÓBEL, JOANNA KOSAŁKA,  
MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ, DOMINIKA STETTNER

## SCHEMAT POSTĘPOWANIA DIAGNOSTYCZNEGO U PACJENTÓW Z HALITOZĄ

Katedra Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, Uniwersytecka Klinika Stomatologiczna; Oddział Kliniczny Otolaryngologii; Oddział Alergii i Immunologii, II Katedra Chorób Wewnętrznych; Oddział Kliniczny Dermatologii, Katedra i Klinika Dermatologii; Oddział Kliniczny Położnictwa i Perinatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Mianem halitozy ocenia się przykry zapach z ust. Szacuje się, że halitoza może dotyczyć nawet 25% populacji. W 90% za powstawanie nieprzyjemnego zapachu z jamy ustnej odpowiedzialne są patologiczne stany w jej obrębie. Aby skutecznie leczyć objawy halitozy, ważne jest postawienie prawidłowej diagnozy. W tym celu należy przeprowadzić badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz badania dodatkowe. Pod uwagę należy wziąć samoocenę zapachu z jamy ustnej pacjenta. Po skompletowaniu wyników analiz możliwe jest postawienie prawidłowej diagnozy i przeprowadzenie leczenia. W pracy przedstawiono proces postępowania w przypadku nieprzyjemnego zapachu z jamy ustnej.

KAMILA SOFIŃSKA, ZBIGNIEW ADAMCZYK

## MONOWARSTWY HSA NA POWIERZCHNI LATEKSÓW POLISTYRENOWYCH

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

Przeprowadzono proces adsorpcji albuminy rekombinowanej (rHSA) na powierzchni nośników koloidalnych w postaci ujemnie naładowanych, monodispersyjnych lateksów polistyrenowych. Procesy adsorpcji albuminy badano, wykorzystując pomiary elektrokinetyczne oraz obrazowanie za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM). Określono ruchliwość elektroforetyczną (potencjał zeta) lateksów polistyrenowych w zależności od pokrycia rHSA. Pomiary przeprowadzono w szerokim zakresie siły jonowej (0,001–0,15M NaCl) oraz pH=3,5. Badania poprzedzone były dokładną charakterystyką lateksów polistyrenowych w tych samych warunkach siły jonowej oraz pH. Zaobserwowano wzrost ruchliwości elektroforetycznej cząstek lateksów polistyrenowych wraz ze wzrostem ilości zaadsorbowanego białka we wszystkich badanych siłach jonowych. Niezaadsorbowaną albuminę, która pozostała w roztworze, osadzano na powierzchni miki, a jej stężenie wyznaczono, wykorzystując mikroskopię AFM.

Przeprowadzone badania pozwoliły na wyznaczenie maksymalnego pokrycia powierzchni cząstek lateksów polistyrenowych białkiem dla badanych sił jonowych. Zbadano też stabilność otrzymanych monowarstw rHSA przez cykliczne zmiany pH oraz zmiany siły jonowej. Badania wykazały, iż monowarstwy białka na powierzchni lateksów są stabilne w czasie (480 h) niezależnie od temperatury przechowywania roztworu (4°C, temp. pokojowa).

Stabilne monowarstwy rHSA na powierzchni nośników koloidalnych mogą być wykorzystane do badania wiązania innych ligandów, takich jak jony metali (miedzi, kobaltu) oraz przeciwciała z zaadsorbowaną już albuminą. Istnieje więc potencjalna możliwość wykorzystania monowarstw rHSA na powierzchni lateksów polistyrenowych w identyfikacji różnych stanów chorobowych.

ANETA STACHOWICZ, MACIEJ SUSKI, RAFAŁ OLSZANECKI, JÓZEF MADEJ,  
ANNA WIŚNIEWSKA, JACEK JAWIEŃ, MAGDALENA BIAŁAS,  
KRZYSZTOF OKOŃ, RYSZARD KORBUT

## ANALIZA MITOPROTEOMU WĄTROBY MYSZY APOE KNOCKOUT LECZONYCH ALDA-1 – AKTYWATOREM MITOCHONDRIALNEJ DEHYDROGENAZY ALDEHYDOWEJ (ALDH2)

Katedra Farmakologii, Katedra Patomorfologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński,  
Collegium Medicum

Badania ostatnich lat wskazują na ważny udział dysfunkcji mitochondriów w rozwoju miażdżycy i niealkoholowego stłuszczenia wątroby (NAFLD). Mitochondrialna dehydrogenaza aldehydowa typu 2. (ALDH2) odpowiada za przekształcanie wielu toksycznych aldehydów – końcowych produktów peroksydacji lipidów – w nieszkodliwe kwasy, co sugeruje rolę ochronną tego enzymu w mitochondriach.

Celem pracy była ocena wpływu farmakologicznej aktywacji ALDH2 przy pomocy małowcząsteczkowego aktywatora enzymu Alda-1 na rozwój miażdżycy oraz mitoproteom wątroby u myszy ApoE knockout (ApoE<sup>-/-</sup>) – zwierzęcego modelu miażdżycy i NAFLD.

Długotrwała aktywacja ALDH2 przez Alda-1 spowodowała zmniejszenie miażdżycy u myszy ApoE<sup>-/-</sup> o 25% (metody *en face* i *cross section*). Podawanie Alda-1 nie wpłynęło na profil lipidowy oraz poziom cytokin i chemokin prozapalnych w osoczu, natomiast zmniejszyło o 30% zawartość makrofagów i metaloprotei-  
naz w blaszce miażdżycowej (metody immunohistochemiczne). W wyniku przeprowadzenia dwuwymiarowej elektroforezy połączonej ze spektrometrią mas zidentyfikowano 20 różniących się istotnie statystycznie białek mitochondrialnych pod wpływem Alda-1 w porównaniu do kontroli, w tym białka związane z metabolizmem i stresem oksydacyjnym. Największą ekspresję wykazały białka biorące udział w beta-oksydacji kwasów tłuszczowych. Co ważne, zmiany morfologiczne w wątrobie u myszy ApoE<sup>-/-</sup> (model niealkoholowego stłuszczenia wątroby) po Alda-1 były mniejsze w porównaniu ze zmianami u myszy kontrolnych (barwienie eozyna/hematoksylina).

Podsumowując, Alda-1 zahamowała miażdżycę i osłabiła rozwój NAFLD u myszy ApoE<sup>-/-</sup>. Zmiany ekspresji mitoproteomu wątroby myszy ApoE<sup>-/-</sup> sugerują korzystny mitochondrialny wpływ Alda-1 na rozwój NAFLD, jednak funkcjonalne znaczenie uzyskanych danych wymaga dalszych badań.

EMILIA STANISZEWSKA, KAMILA MAŁEK, ANDRZEJ FEDEROWICZ,  
ŁUKASZ MATEUSZUK, STEFAN CHŁOPICKI, MAŁGORZATA BARAŃSKA

## SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA W PODCZERWIENI JAKO NARZĘDZIE POSZUKIWANIA MARKERÓW CHORÓB WYWOŁANYCH DYSFUNKCJĄ ŚRÓDBŁONKA

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET);  
Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Col-  
legium Medicum

Wraz z postępowaniem rozwoju cywilizacyjnego znacznie zwiększyła się liczba osób chorych na cukrzycę, nadciśnienie tętnicze czy miażdżycę. Choroby te mają podłoże w patogenezie śródbłonna naczyniowego i są określane mianem chorób cywilizacyjnych. Bardzo ważne jest ich wczesne wykrywanie, dzięki czemu możliwe jest zapobieganie znacznemu rozwojowi choroby. Obecnie są one diagnozowane przy użyciu kosztownych testów medycznych, których wykonanie jest czasochłonne.

Mikrospektroskopia absorpcyjna w podczerwieni (FTIR) znajduje od kilkunastu lat zastosowanie w analizie próbek biologicznych, takich jak komórki, tkanki, płyny ustrojowe. Profile spektralne próbek biologicznych niosą ze sobą ogólną informację o ich składzie biochemicznym, uzyskiwaną na podstawie pasm charakterystycznych dla białek, lipidów, kwasów nukleinowych czy węglowodanów. Możliwa jest analiza zarówno ilościowa, jak i jakościowa.

Celem prezentowanej pracy jest wskazanie różnic w profilach spektralnych osocza mysiego w modelach zwierzęcych cukrzycy (db/db), miażdżycy (ApoE), nadciśnienia tętniczego (wywołanego L-Name) w stosunku do kontroli (C57-B16J). Dla modelu cukrzycy widoczny jest znaczny wzrost pasm w zakresie 1100–1000  $\text{cm}^{-1}$ , natomiast dla miażdżycy obserwujemy wzrost pasm charakterystycznych dla trójglicerydów, estrów cholesterolu i cholesterolu (1168, 1462, 1740, 3050–2800  $\text{cm}^{-1}$ ). Z kolei dla modelu nadciśnienia obserwuje się przesunięcia pasm amidowych (1650–1500  $\text{cm}^{-1}$ ) oraz spadek intensywności wszystkich pasm w zakresie poniżej 1300  $\text{cm}^{-1}$ . Wskazuje to zatem na zmianę struktury drugorzędowej białek obecnych w osoczu. Dodatkowo zidentyfikowano zmiany spektralne charakterystyczne dla każdej z badanych chorób, które mogą posłużyć w przyszłości jako markery danej jednostki chorobowej do szybkich i niedrogich analiz krwi.

Podziękowania: Praca finansowana ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (grant koordynowany przez JCET-UJ, POIG.01.01.02-00-069/09).

JAKUB STAROŃ, DAWID WARSZYCKI, JUSTYNA KALINOWSKA-TŁUŚCIK,  
ANDRZEJ BOJARSKI

## WYKORZYSTANIE STRATEGII BIOIZOSTERYZMU DO PROJEKTOWANIA I ANALIZY SPOSOBU WIĄZANIA LIGANDÓW RECEPTORA 5-HT<sub>6</sub>

Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk; Zespół Biokrytalografii, Zakład Krytalochemii i Krytalofizyki, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Receptor 5-HT<sub>6</sub> jest zlokalizowany w ośrodkowym układzie nerwowym i odpowiada m.in. za kontrolę motoryczną, pamięci i uczenia się. Wyniki badań z ostatnich lat potwierdzają, że jest on obiecującym celem biologicznym m.in. dla nowych leków antypsychotycznych. Dokładna budowa receptora i samego miejsca wiążącego nie została do tej pory potwierdzona metodami eksperymentalnymi. Dodatkowo ligandy receptora 5-HT<sub>6</sub> stanowią grupę bardzo zróżnicowaną strukturalnie, co znacznie utrudnia przewidywanie i analizę sposobu wiązania się liganda do kieszeni wiążącej i nie pozwala stworzyć szczegółowego modelu farmakoforowego.

Bioizosteryzm jest strategią modyfikacji strukturalnej substancji chemicznych w ten sposób, aby mając zmieniony profil farmakodynamiczny i farmakokinetyczny, zachowały aktywność względem określonego celu biologicznego. Odpowiednio zmieniona substancja może wykazywać np. lepszą biodostępność, dłuższy czas retencji czy mniejszą ilość efektów ubocznych.

W ramach prezentowanego projektu strategia bioizosteryzmu jest wykorzystywana do analizy sposobu wiązania się ligandów do receptora 5-HT<sub>6</sub>. Poprzez modyfikację struktury znanych ligandów, oznaczenie aktywności otrzymanych pochodnych oraz wyznaczenie struktury krystalicznej uzyskiwane są nowe dane dotyczące potencjalnej konformacji bioaktywnej i związku oraz budowy kieszeni wiążącej w receptorze 5-HT<sub>6</sub>.

JOANNA STEFAN, KAMIL KAMIŃSKI, KRZYSZTOF SZCZUBIAŁKA,  
BARBARA LORKOWSKA-ZAWICKA, DANUTA URACZ,  
MARIA NOWAKOWSKA, RYSZARD KOR BUT

## NOWE BIOKOMPATYBILNE KATIONOWE POLISACHARYDY – BUDOWA I WPŁYW NA AGREGACJĘ PŁYTEK KRWI I ODKSZAŁCALNOŚĆ ERYTROCYTÓW

Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Polisacharydy takie jak chitozan, dekstran i hydroksypropyloceluloza są biokompatybilnymi polimerami pochodzenia naturalnego. Nowe pochodne tych związków to modyfikowany kationowo chitozan (HTCC), kationowa pochodna dekstranu (dekstran-GTMAC) i kationowa pochodna celulozy (HPC-APTMAC). Na podstawie wyników naszych eksperymentów możemy stwierdzić, że chitozan HTCC sprzężony z izotiocyjanianem fluoresceiny (FITC) jest łatwo absorbowlany po jednej godzinie od podania per os u myszy C57/BL/6j. Zaobserwowano wysoki poziom fluorescencji w osoczu krwi po 1 h od podania. HTCC jest dystrybuowany do badanych narządów takich jak płuca, serce i nerki. To zjawisko może być związane z bardzo dobrą rozpuszczalnością HTCC w pH fizjologicznym, dzięki czemu związek ten charakteryzuje się lepszą biodostępnością niż chitozan niemodyfikowany. Zarówno modyfikowany kationowo chitozan, jak i HPC-APTMAC znacząco stymulują i potęgują agregację ludzkich płytek krwi *in vitro*. Efekt ten jest silniejszy w przypadku HPC-APTMAC niż po inkubacji z HTCC. W agregacji płytek krwi wywołanej dodatkiem kolagenu w stężeniu 1 µg/ml osocza lub ADP w stężeniu 5 µM kationowe polisacharydy w zależności od dawki hamują agregację lub nie mają na nią wpływu. Ponadto HTCC w sposób dawkozależny znacząco obniża odkształcalność krwinek czerwonych w krwi ludzkiej po inkubacji *in vitro*. W porównaniu do modyfikowanego kationowo chitozanu niemodyfikowany chitoooligosacharyd również zmniejsza odkształcalność erytrocytów *in vitro*, ale nie jest to efekt równie silny, jak w przypadku HTCC. HPC-APTMAC dodana do krwi w różnych stężeniach również znacząco zmniejsza odkształcalność erytrocytów. Natomiast wpływ dekstranu-GTMAC na odkształcalność erytrocytów jest niewielki. Dodatkowo nie zaobserwowano wpływu HTCC na przeżywalność komórek mięśniówki gładkiej aorty szczura po inkubacji przez 24 h w warunkach *in vitro*.

DOMINIKA STETTNER, JOANNA KOSAŁKA, KATARZYNA MACIKOWSKA,  
AGATA SKRZYPEK, MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ, AGNIESZKA WRÓBEL

## METABOLIZM ANGIOTENSYN W ŁOŻYSKU

Oddział Kliniczny Kliniki Położnictwa i Perinatologii; Oddział Alergii i Immunologii, II Katedra Chorób Wewnętrznych; Uniwersytecka Klinika Stomatologiczna; Oddział Kliniczny Dermatologii, Katedra i Klinika Dermatologii; Oddział Kliniczny Otolaryngologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Układ renina-angiotensyna (RAS) bierze udział w fizjologicznej regulacji ciśnienia tętniczego krwi oraz gospodarki wodnoelektrolitowej ustroju. Rola łożyskowego RAS została w ostatnich latach dobrze udokumentowana na podstawie badań immunohistochemicznych potwierdzających obecność głównych składowych (renina, angiotensynogen, enzym konwertujący angiotensynę). Zaobserwowano zwiększoną aktywność RAS w ciążach powikłanych stanem przedrzucawkowym. Prawidłowo funkcjonujący RAS wydaje się niezbędny dla fizjologicznego rozwoju ciąży.

Cel pracy: Zbadanie w modelu *ex vivo* metabolizmu angiotensyny I (Ang I), jako prekursora kolejnych angiotensyn oraz porównanie produkcji metabolitów Ang I w łożysku w ciąży fizjologicznej oraz powikłanej stanem przedrzucawkowym.

Materiał i metody: W badaniu pilotażowym oceniano metabolizm Ang I we fragmentach łożysk pochodzących z ciąż fizjologicznych zakończonych cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych (n=5). Fragmenty tkanki pobranej tuż po wydobyciu łożyska inkubowano w buforze Krebsa w obecności podanej egzogennie Ang I. Nadsącze po inkubacji poddano analizie LCMS (chromatografia cieczowa z detekcją masową) celem oceny powstałych metabolitów Ang I.

Wyniki: Głównym metabolitem w zdrowym łożysku była Ang-(1-7), w następnej kolejności Ang-(1-5) oraz Ang II. Pozostałe metabolity (angiotensyny III, IV, 1-9) powstawały w niewielkich ilościach.

Podsumowanie: Uzyskane wyniki wskazują na intensywną produkcję korzystnie działającej Ang-(1-7) w stanach fizjologicznych i stanowią wstęp do dalszych badań z uwzględnieniem łożysk pochodzących z ciąż powikłanych stanem przedrzucawkowym. Opracowana metoda LCMS pozwoli określić zmiany metabolizmu Ang I i wzajemnych proporcji głównych metabolitów w wybranych patologich łożyska. Badanie może przyczynić się do poznania nowych patomechanizmów leżących u podstaw stanu przedrzucawkowego, a także zapoczątkować badania roli angiotensyn w rozwoju innych patologii związanych z zaburzeniami funkcji łożyska.



JAKUB STĘPNIEWSKI, PAWEŁ RUBIŚ,  
MAGDALENA KOSTKIEWICZ, PIOTR PODOLEC

## PORÓWNANIE PARAMETRÓW HEMODYNAMICZNYCH U PACJENTÓW Z NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA O ETIOLOGII NIEDOKRWIENNEJ I NIE-NIEDOKRWIENNEJ KWALIFIKOWANYCH DO PRZESZCZEPIENIA SERCA

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

**Wprowadzenie:** Ocena parametrów hemodynamicznych układu krążenia podczas prawostronnego cewnikowania serca (RHC) odgrywa kluczową rolę w kwalifikacji pacjentów do przeszczepienia serca (HTx).

**Cel:** Porównanie profilu hemodynamicznego pacjentów z niewydolnością serca (HF) o etiologii niedokrwiennej (ICM) i nie-niedokrwiennej (DCM) kwalifikowanych do HTx.

**Materiał i metody:** Przeanalizowano dane 79 kolejnych pacjentów kwalifikowanych do Htx poddawanych RHC. Parametry hemodynamiczne oceniono podczas RHC przeprowadzonego u wszystkich pacjentów. Test reaktywności naczyń płucnych z wziewnym tlenkiem azotu (iNOtest) wykonano u chorych z nadciśnieniem płucnym (PH).

**Wyniki:** DCM zdiagnozowano u 56 (77%) pacjentów. Pojemność minutowa serca była podobna w grupie DCM i ICM (odpowiednio  $3,3 \pm 0,7$  l/min v.  $3,2 \pm 0,6$  l/min;  $p=0,4$ ). Średnie ciśnienie w tętnicy płucnej oraz naczyniowy opór płucny były wyższe u chorych z ICM niż z DCM (odpowiednio  $35,3 \pm 13,7$  mmHg v.  $25,8 \pm 10,9$  mmHg;  $p=0,005$ ; oraz  $5,3 \pm 3$  j. Wooda v.  $2,7 \pm 1,3$  j. Wooda;  $p=0,05$ ). Ciśnienie zaklinowania kapilar płucnych było wyższe w grupie ICM niż DCM (odpowiednio  $21,6 \pm 9,3$  mmHg v.  $16,9 \pm 9,3$  mmHg;  $p=0,05$ ). Nadciśnienie płucne rozpoznano u 32 (40%) pacjentów, u 15 (26%) chorych z DCM i 17 (74%) z ICM. Reaktywne nadciśnienie płucne rozpoznano u 14 (93%) pacjentów z DCM i 11 (65%) z ICM ( $p=0,05$ ).

**Wnioski:** Pacjenci z DCM stanowili większość wśród chorych z HF kwalifikowanych do HTx. Postkapilarne PH występuje częściej u chorych z ICM. Jednak reaktywne PH częściej dotyczy chorych z DCM.

ANNA STOCHEL-GAUDYN, HALINA MROWIEC, STANISŁAW WALAS,  
EMILIA GRYGO, PAWEŁ KOŚCIELNIAK, KRZYSZTOF FYDEREK

## STĘŻENIE WYBRANYCH PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH WE WŁOSACH DZIECI Z NOWO ROZPOZNANĄ ZAPALNĄ CHOROBAJĄ JELIT W PORÓWNANIU Z GRUPĄ KONTROLNĄ – DONIESIENIE WSTĘPNE

Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia Dzieci, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

**Wprowadzenie:** U dzieci z nieswoistą zapalną chorobą jelit (n.z.ch.j.) często dochodzi do niedoborów zarówno makro-, jak i mikroelementów. Włosy jako materiał biologiczny poddawany analizie mają wiele zalet, m.in. są one materiałem mniej inwazyjnym, jak również pokazują wartość uśrednioną pewnych oznaczanych substancji w określonym przedziale czasowym.

**Cel pracy:** Analiza stężenia wybranych pierwiastków śladowych oraz metali ciężkich we włosach dzieci z nowo rozpoznaną n.z.ch.j. oraz porównanie wyników z grupą kontrolną.

**Pacjenci i metody:** Badaniem objęto 24 dzieci z nowo rozpoznaną n.z.ch.j. Grupę kontrolną stanowiło 12 dzieci zdrowych. Od każdego z pacjentów pobrano próbkę włosów z okolicy potylicy, w której oznaczono stężenie 6 pierwiastków śladowych oraz metali ciężkich: mangan (Mn), żelazo (Fe), miedź (Cu), cynk (Zn), ołów (Pb) oraz selen (Se). Oznaczeń dokonano przy pomocy metod IC-PMS oraz HG-AFS.

**Wyniki:** Średnie stężenia takich pierwiastków jak Mn (0,73 ug/g), Fe (27,2 ug/g), Pb (2,84 ug/g) we włosach dzieci chorych były mniejsze niż we włosach dzieci z grupy kontrolnej (Mn-1,04 ug/g, Fe- 28,06 ug/g, Pb- 4,36 ug/g). Średnie stężenie selenu było porównywalne w obydwu badanych grupach (0,28 ug/g). Natomiast średnie stężenie Zn i Cu była większe w grupie dzieci chorych (odpowiednio Zn- 184,25 ug/g, Cu- 16,11 ug/g) niż w grupie dzieci zdrowych (Zn-177,32 ug/g, Cu-13,24 ug/g). Otrzymane różnice nie były istotne statystycznie.

**Wnioski:** Mniejsze stężenie pierwiastków śladowych takich jak Mn czy Fe we włosach dzieci z n.z.j.ch. w porównaniu z grupą kontrolną może odzwierciedlać przewlekłość procesu zapalnego przed rozpoznaniem choroby.

EDYTA STODÓLKIEWICZ, KRZYSZTOF ŻMUDKA, BARBARA SOKOŁOWSKA,  
MARCIN RZESZUTKO, MAREK TOMALA, ANTON CHRUSTOWICZ,  
BARTŁOMIEJ NAWROTEK, WOJCIECH SZCZEKLIK

## BIOSYNTeza TROMBOXANU W OSTRYM ZAWALE MIĘŚNIA SERCA ZWIĄZANA ZE STOPNIEM USZKODZENIA POZAWAŁOWEGO LEWEJ KOMORY

II Katedra Chorób Wewnętrznych i Centrum Interwencyjnego Leczenia Chorób Serca i Naczyń, Instytut Kardiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Cel:** Tromoksany (TXB2) i leukotrieny (LTE4), pochodne kwasu arachidonowego i 5-hydroksyeikozatetraenowego (5-HETE), jako mediatory prozapalne uczestniczą w powstawaniu, progresji oraz destabilizacji blaszek miażdżycowych. Analizowano związek pomiędzy TXB2 oraz LTE4 w ostrym zawale mięśnia serca (AMI) a uszkodzeniem pozawałowym lewej komory.

**Metody:** Badano 96 chorych z AMI (50% STEMI), średnia wieku  $67,5 \pm 11,5$  lat, 77% mężczyźni, 19% z cukrzycą, 69% z nadciśnieniem tętniczym, 67% to palacze. Stężenie cholesterolu LDL wynosiło  $2,95 \pm 1$  mmol/l, stężenie glukozy  $8,2 \pm 3,5$  mmol/l, stężenie kreatyniny  $93 \pm 24$  mmol/l.

**Wyniki:** U wszystkich pacjentów wykonano rewaskularyzację w trybie pilnym (PCI 94%, CABG 6%). Śmiertelność wewnątrzszpitalna wyniosła 2%. Mediana LTE4 przy przyjęciu wynosiła 80 pg/mg/kreatyniny (dolny i górny kwartyl 37 i 159), mediana TXB2 1952,8 pg/mg/kreatyniny (954, 3903), a 5-HETE 32 pg/mg/kreatyniny (10, 37). Frakcja wyrzutowa lewej komory przy wypisie (LVEF) wynosiła  $44,4 \pm 13\%$ .

Po 1. miesiącu mediana LTE4 wynosiła 69 (39, 122) pg/mg/kreatyniny ( $p=0,08$ ), TXB2 939 pg/mg/kreatyniny (685, 1307) ( $p<0,001$ ), 5-HETE 18,7(10, 37) pg/mg/kreatyniny ( $p=0,001$ ). Po 12. miesiącu nastąpił dalszy spadek LTE4 ( $p=0,03$ ), TXB2 ( $p=0,02$ ) oraz 5-HETE ( $p=0,007$ ). Znacznie wzrosła LVEF ( $52 \pm 13\%$ ,  $p<0,001$ ).

W analizie jednoczynnikowej LVEF istotnie korelowała z wyjściowym TXB2 ( $p=0,003$ ,  $r -0,3$ ) oraz troponiną ( $p=0,008$ ), objętością płytek krwi MPV ( $p=0,004$ ,  $r -0,3$ ), poziomem glukozy ( $p=0,001$ ,  $r -0,34$ ), chorobą wielonaczyniową (MVD,  $p=0,005$ ), liczbą leukocytów ( $p=0,04$ ,  $r -0,2$ ). LTE4 i 5-HETE nie wykazały istotnego związku z LVEF.

W analizie wieloczynnikowej TXB2 ( $p=0,004$ ,  $\beta -0,2$ ), MVD ( $p=0,003$ ,  $\beta -0,2$ ), MPV ( $p=0,006$ ,  $\beta -0,2$ ) były niezależnymi czynnikami dla LVEF ( $R^2 0,25$ ;  $p<0,001$ ).

**Wnioski:** Aktywność TXB2 i LTE4 jest istotnie podwyższona u pacjentów z AMI i utrzymuje się przez 12 miesięcy po zawale serca. Podwyższony poziom TXB2 w ostrym zawale serca koreluje z upośledzeniem funkcji skurczowej LK.

MACIEJ SUŁKOWSKI, DANUTA JAROCHA, PAWEŁ KONIECZNY,  
TOMASZ ADAMUS, MARCIN MAJKA

## INDUKOWANE KOMÓRKI PLURIPOTENCJALNE (IPS) – NAGRODA NOBLA 2012 W NASZYCH RĘKACH

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

Nagroda Nobla w 2012 roku w kategorii Medycyna/Fizjologia została przyznana Johnowi B. Gurdonowi oraz Shinya Yamanaka „za odkrycie, że dojrzałe komórki mogą zostać reprogramowane i stać się pluripotencjalne”. W 2006 roku Yamanaka uzyskał indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (induced Pluripotent Stem cells, iPS) z dojrzałych somatycznych fibroblastów. Komórki iPS są idealnym substytutem embrionalnych komórek macierzystych, ponieważ posiadają ich zalety – nieograniczony potencjał proliferacyjny oraz zdolność do różnicowania we wszystkie niemal typy komórek - oraz są wolne od ich ograniczeń – problemów z pozyskiwaniem oraz kontrowersji moralnych. Dlatego komórki iPS są obiecującą perspektywą do zastosowań klinicznych, ale także jako modele chorób *in vitro*.

Indukowane białkami pluripotencjalne komórki macierzyste (protein-iPS, p-iPS) były hodowane na warstwie odżywczej z mysich embrionalnych fibroblastów. Ekspresja markerów embrionalnych została określona na poziomie mRNA oraz białka – za pomocą metod RT-PCR oraz cytometrii przepływowej. Zdolność do tworzenia ciałek embrioidalnych (embryoid bodies, EB) została sprawdzona przez hodowlę w zawiesinie, a potencjał do różnicowania określono poprzez odpowiednie protokoły różnicowania. Pluripotencjalność została wykazana testem tworzenia teratom po wszczepieniu komórek do myszy NOD-SCID.

Wyniki pokazują, iż komórki p-iPS posiadają charakterystyczną morfologię oraz ekspresję markerów embrionalnych (m.in. OCT-3/4, SSEA-4). W zawiesinie tworzą ciała embrioidalne, bez warstwy odżywczej różnicują spontanicznie, a poddane odpowiednim protokołom różnicowania dają początek funkcjonalnym kardiomiocytom oraz neuronom. Po wszczepieniu do myszy NOD-SCID tworzą teratomy.

Odkrycie indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych otwarło nowe podejście terapeutyczne – zindywidualizowaną komórkową terapię regeneracyjną. Strategia ta w przyszłości może prowadzić do terapii wielu nieuleczalnych dziś chorób, a dziś stanowi model do wielu badań *in vitro* oraz *in vivo*.

JOANNA SURAJ, MARIA WALCZAK

## BADANIE FARMAKOKINETYKI NOWEGO ZWIĄZKU POCHODNEJ AMINOPROPAN-2-OLU TECHNIKĄ LC/ESI-MS/MS

Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum;  
Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET)

Leki  $\beta$ -adrenolityczne należą do podstawowej grupy związków stosowanych w terapii schorzeń układu krążenia. Budowa chemiczna tej grupy związków opiera się na fragmencie 2-alkiloaminoetanu, poddanego licznym modyfikacjom chemicznym, wśród których wyróżnia się pochodne 1-arylo-2-alkiloaminoetanolu oraz pochodne aryloksypropranolaminowe. Efektem poszukiwań nowego związku o aktywności  $\beta$ -adrenolitycznej jest pochodna karwedilolu, związek roboczo nazwany ANBL. Związek ten we wstępnych badaniach farmakodynamicznych wykazywał działanie hipotensyjne oraz profilaktyczne działanie przeciwarrytmiczne.

Celem pracy było dokonanie pilotażowej oceny procesu biotransformacji badanego związku w organizmie szczura z uwzględnieniem tworzonych w trakcie tego procesu potencjalnych metabolitów.

Do pomiaru stężenia badanego związku zastosowano zwalidowaną metodę z wykorzystaniem techniki LC/ESI-MS/MS (API 2000, AB SCIEX, USA). Obecność wszystkich metabolitów związku stanowiącego przedmiot badania potwierdzono w badaniach *in vivo*, w moczu i surowicy szczura, analizując przy użyciu techniki śledzenia reakcji wielokrotnych pary MRM dla teoretycznych metabolitów jako podstawy bardzo czułego skanowania wstępnego, pozwalającego na zbieranie odpowiednich danych MS/MS. Dokładny pomiar masy wykonano z zastosowaniem wysokorozdzielczego spektrometru mas LTQ XL Orbitrap Discovery (Thermo Scientific, Niemcy). Dla związku ANBL zidentyfikowano w surowicy i moczu szczura dwie pochodne hydroksylowe (m/z 402.49 Da) umownie nazwane M1 oraz M2, następnie pochodną metylową o m/z 428.53 Da, umownie nazwaną M3, metabolit M4 (produkt sprzęgania związku z kwasem octowym, m/z 400.52 Da), metabolit M5 (produkt addycji z kwasem siarkowym, m/z 466.55 Da) oraz metabolit M6 (sprzęganie z kwasem glukuronowym, m/z 562.63 Da).

JOANNA SZAFRANIEC, SZCZEPAN ZAPOTOCZNY

## NANOKAPSUŁY POLIMEROWE NA CIEKŁYCH RDZENIACH JAKO NOWOCZESNE NOŚNIKI LEKÓW O CHARAKTERZE LIPOFILOWYM

Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Amfifilowe polielektrolity stanowią interesującą grupę związków ze względu na szeroki zakres praktycznych zastosowań, wynikających z obecności hydrofilowych grup zapewniających rozpuszczalność w wodzie oraz grup hydrofobowych powodujących spontaniczną agregację z wytworzeniem hydrofobowych domen, wewnątrz których możliwa jest solubilizacja słabo rozpuszczalnych w wodzie związków chemicznych. Stwarza to możliwość zastosowania takich polimerów do konstrukcji nanoreaktorów lub nanokontenerów.

Celem badań jest synteza i charakteryzacja amfifilowych kopolimerów szczepionych, które umożliwiają enkapsulację lipofilowych związków aktywnych i ich kontrolowane uwalnianie. Nanokapsuły są wytwarzane techniką „warstwa po warstwie”, polegającą na naprzemiennej adsorpcji naprzemiennie naładowanych polielektrolitów, prowadzącą do powstawania powłok wielowarstwowych. Dzięki zastosowaniu techniki kontrolowanej polimeryzacji możliwa jest kontrola masy molowej oraz architektury syntezowanych polimerów. Istotne z punktu widzenia zastosowania badanych kopolimerów szczepionych jest uzyskanie stabilnego rdzenia kapsuły, stąd też ważny jest dobór optymalnej gęstości szczepienia oraz długości hydrofobowych łańcuchów bocznych. Stabilność kapsuł zależy od obu tych czynników, zatem możliwość ich kontroli jest kluczowym czynnikiem przemawiającym na korzyść biomedycznego zastosowania badanych układów.

KATARZYNA SZEWCZYK, WALENTYNA BALWIERZ, GRAŻYNA DRABIK

## CZY NADDATEK 2P JEST CHARAKTERYSTYCZNĄ ABERRACJĄ CHROMOSOMOWĄ U POLSKICH PACJENTÓW Z NEUROBLASTOMĄ

Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Patologii, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

Neuroblastoma (NB) stanowi 7–10% nowotworów wieku dziecięcego. Do najbardziej niekorzystnych czynników rokowniczych zalicza się wiek powyżej 1. roku życia, wysoki stopień zaawansowania choroby oraz amplifikację genu MYCN. Ponadto guzy NB o dużym ryzyku progresji charakteryzują się obecnością strukturalnych aberracji chromosomowych (SCA). Ciągłe dyskutowana jest rola naddatku 2p. Według doświadczeń grupy SIOPEX naddatek 2p stanowi o gorszym rokowaniu i o potrzebie zastosowania bardziej intensywnego protokołu leczenia.

Celem pracy była weryfikacja obecności SCA o znaczeniu rokowniczym i ocena statusu genu MYCN u dzieci z NB w Polsce. Analizą objęto 31 pacjentów, u których w okresie od czerwca 2010 do grudnia 2012 roku na podstawie oceny histopatologicznej wycinka guza rozpoznano NB. Badania cytogenetyczne wykonano na preparatach odciskowych tkanki guza techniką I-FISH. Do oznaczeń zastosowano sondy: N-MYC (Cytocell Ltd.), SRD(CHD5) (Cytocell Ltd.), ON MLL (11q23)/SE11 (Kreatech), LSI Top2a/CEP17 (Abbot). Efekt hybrydyzacji wizualizowano, wykorzystując mikroskop fluorescencyjny OLYMPUS BX5 i program CytoVision Master 3.0. Wyniki weryfikowano zgodnie z międzynarodowymi kryteriami.

Zmiany w strukturze chromosomów zidentyfikowano u 11/31 pacjentów, a u 3/31 ocena nie była możliwa z powodu zbyt małej liczby jąder komórkowych. Stwierdzono: amplifikację genu MYCN (n=3), naddatek 2p (n=6), delecję 1p36 (n=5), delecję 11q23 (n=1), naddatek 11q23 (n=1), naddatek 17q21-qter (n=7).

W materiale własnym zwraca uwagę wysoka częstość (35%) naddatku 2p u pacjentów z NB w porównaniu do danych literaturowych (6–14% – badania na terenie Europy, 15–60% – badania na terenie Azji). W celu ustalenia charakterystycznego genotypu w komórkach NB u pacjentów w Polsce i określenia jego rokowniczego wpływu konieczne jest przeprowadzenie badań w większej grupie dzieci i dłuższe obserwacje.



MICHAŁ SZUBIGA, MONIKA RUDZIŃSKA, ANDRZEJ SZCZUDLIK

## MUTACJE W GENIE GLUKOCEREBROZYDAZY (GBA) A RYZYKO DEMENCJI W CHOROBIE PARKINSONA

Pracownia Genetyki Molekularnej, Zakład Genetyki Medycznej, Katedra Pediatrii, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra i Klinika Neurologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Choroba Parkinsona (ChP) jest chorobą zwyrodnieniową układu nerwowego, której charakterystyczną cechą neuropatologiczną, oprócz zaniku substancji czarnej, jest obecność wtrętów śródkomórkowych zwanych ciałami Lewiego w komórkach jąder podstawy, pnia mózgu, kory mózgu, a także w ośrodkowych i obwodowych strukturach układu autonomicznego. Jednym z białkowych składników wtrętów jest zagregowana  $\alpha$ -synukleina. Liczne badania, w tym neuropatologiczne, ujawniły wysoki poziom białka  $\alpha$ -synukleiny wśród nosicieli mutacji genu glukocerebrozydazy (GBA) oraz u pacjentów z ChP i chorobą Gauchera.

Cel pracy: Określenie częstości nosicielstwa mutacji w genie GBA u chorych na ChP oraz ich wpływ na ryzyko otępienia.

Materiał i metody: Do badania włączono 101 chorych z Kliniki Neurologii UJ CM w Krakowie oraz 50 osób zdrowych. Pacjenci zostali włączeni do badania na podstawie kryteriów klinicznych: UK Parkinson's Disease Brain Bank Clinical Diagnostic Criteria. Analizę genetyczną wykonano w oparciu o PCR-RFLP oraz bezpośrednio sekwencjonowanie eksonów 2, 8, 9 genu GBA, z zastosowaniem metod uniemożliwiających amplifikację pseudogenu GBA (pGBA).

Wyniki i wnioski: Warianty genetyczne w obrębie genu GBA stwierdzono u 17 chorych i u żadnej z osób zdrowych. Średni wynik Mini-mental State Examination dla nosicieli mutacji 26,2 (SD=3,7) był podobny jak w grupie negatywnej pod względem badanych mutacji: 27,4 (SD=3) ( $p=0,28$ ). Odsetek osób z MMSE <24 był większy w grupie nosicieli mutacji (23%) niż w grupie negatywnej pod względem badanych mutacji (9,6%), jednak nie był on istotny statystycznie. Brak istotnych statystycznie różnic w występowaniu mutacji w obrębie genu odpowiedzialnego za lizosomalną chorobę spichrzeniową Gauchera u osób chorujących na ChP nie wskazuje na istotną rolę genu GBA w ryzyku otępienia u badanych chorych.

AGNIESZKA ŚLIWA

## WPŁYW KWASÓW TŁUSZCZOWYCH, WYSOKIEGO POZIOMU GLUKOZY ORAZ ANTYOKSYDANTU KWERCETYNY NA FUNKCJĘ MITOCHONDRIÓW ORAZ RÓŻNICOWANIE LUDZKICH PREADIPOCYTÓW

Zakład Biochemii Klinicznej, Katedra Biochemii Klinicznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Nadmierna dostępność substratów energetycznych, takich jak kwasy tłuszczowe czy glukoza, sprzyja rozwojowi zaburzeń metabolicznych. Kwerce-  
tyna natomiast znana jest ze swoich właściwości antyoksydacyjnych. Ze względu na ważną rolę tkanki tłuszczowej w utrzymaniu homeostazy energetycznej poszukiwania nowych metod leczenia otyłości coraz częściej zwrócone są w kierunku bioenergetyki komórki, funkcji mitochondriów oraz różnicowania komórek progenitorowych do dojrzałych adipocytów.

**Celem** pracy było zbadanie, jaki wpływ na funkcję mitochondriów oraz różnicowanie preadipocytów mają wybrane kwasy tłuszczowe, wysoki poziom glukozy oraz kwercetyna.

**Metody:** Do badań wykorzystano nieśmiertelnioną linię ludzkich preadipocytów (Chub-S7). Komórki inkubowane były przez 24 godziny z 30  $\mu\text{M}$  FFA (PA, OA, AA, EPA, TTA) lub glukozą (30 mM) lub kwercetyną (10–100  $\mu\text{M}$ ). Badano wpływ wybranych czynników na funkcje mitochondrialne związane z bioenergetyką komórki (pomiar zużycia tlenu; ilość wewnątrzkomórkowego ATP; zmiany potencjału błony mitochondrialnej) i apoptozą (aktywność kaspazy-9; poziom aneksyny V; generacja ROS) oraz wpływ tych czynników na proces różnicowania komórek Chub-S7. Gromadzenie kropli lipidowych obrazowane było za pomocą barwienia czerwieni olejową.

**Wyniki:** PA obniżał ilość wewnątrzkomórkowego ATP, zwiększając równocześnie produkcję ROS. Nasilał ponadto tworzenie kropli lipidowych przez komórki Chub-S7. TTA promował apoptozę preadipocytów. Kwasy  $\omega$ -6 (AA) i  $\omega$ -3 (EPA) nasilały różnicowanie preadipocytów. Wysoki poziom glukozy indukował produkcję ROS. Kwerce-  
tyna obniżała produkcję ROS, a także zależnie od stężenia hamowała różnicowanie komórek Chub-S7.

**Wnioski:** Badane składniki diety wykazywały istotny wpływ na funkcje mitochondriów oraz różnicowanie komórek Chub-S7. Wyniki te są szczególnie interesujące ze względu na fakt, że regulacja aktywności mitochondriów i różnicowania preadipocytów jest celem nowych terapii w walce z otyłością.

Współfinansowane przez EU FW7 LIPIDOMICNET 202272; K/ZBW/000577.

KLAUDYNA ŚPIEWAK, OLGA MAZURYK, KATARZYNA KURPIEWSKA,  
GRAŻYNA STOCHEL, MAŁGORZATA BRINDELL

## ODDZIAŁYWANIE KOMPLEKSU NAMI-A ((IMH) [TRANS-RUCL<sub>4</sub>(DMSO)(IM)]) Z APO- I HOLO-TRANSFERYNĄ

Zakład Chemii Nieorganicznej, Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki, Wydział Chemii,  
Uniwersytet Jagielloński

Kompleks (ImH)[trans-RuCl<sub>4</sub>(dmsO)(Im)] (NAMI-A) wykazuje niezwykle skuteczną w hamowaniu powstawania i rozprzestrzeniania się przerzutów i obecnie został zakwalifikowany do II fazy badań klinicznych. W przeciwieństwie do cisplatyny charakteryzuje się on bardzo niską toksycznością ogólną i znikomym wpływem na komórki nowotworów pierwotnych. Mechanizm jego działania jest niejasny i jest obecnie intensywnie badany. Badania kliniczne wykazały, że po podaniu dożylnym kompleks NAMI-A występuje głównie w formie związanej z białkami osocza, przede wszystkim z albuminą i transferyną. Sugerowano, że jego oddziaływanie z transferyną odgrywa dużą rolę w selektywnym transporcie kompleksu do wnętrza komórek nowotworowych w trakcie cyklu transferynowego, jednak hipoteza ta do tej pory nie została potwierdzona. Transferyna jest jednym z białek kontrolujących stężenie jonów żelaza we krwi. Umożliwia ona solubilizację i transport jonów żelaza w warunkach fizjologicznych (pH 7,4; 37°C), gdyż wolne jony żelaza praktycznie nie występują ze względu na tworzenie nierozpuszczalnych związków. Jej stężenie we krwi wynosi około 35 μM, jednak jedynie ok. 30% występuje w formie związanej z jonami żelaza (forma holo), pozostała część to forma apo, w której możliwe jest wiązanie innych jonów metali w miejscu aktywnym transferyny.

W celu lepszego poznania oddziaływania kompleksu NAMI-A z transferyną szczegółowo zbadano reaktywność tego kompleksu w stosunku do obu form białka. W badaniach uwzględniono reakcje akwatacji i redukcji kompleksu NAMI-A zachodzące w warunkach fizjologicznych (pH 7,4; 37°C, reduktory komórkowe: kwas askorbinowy, cysteina). Wpływ jonów żelaza na oddziaływanie kompleksu NAMI-A z transferyną będzie przedmiotem niniejszej prezentacji.

MATEUSZ TATARUCH, MACIEJ SZALENIEC, JOLANTA BRYJAK,  
JOANNA OPALIŃSKA-PISKORZ, MAŁGORZATA WITKO,  
EWA LUCHTER-WASYLEWSKA, JOHANN HEIDER

## IMMOBILIZOWANE DEHYDROGENAZY JAKO NARZĘDZIA DO BIOSYNTETY CHIRALNYCH SYNTONÓW LEKÓW

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków; Zakład Chemii Bioorganicznej, Politechnika Wrocławska; Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Laboratory of Microbial Biochemistry, Philipps-University of Marburg

Dehydrogenazy etylobenzenowa (EBDH) i fenyloetanolowa (PEDH) są enzymami występującymi u denitryfikującej bakterii *Aromatoleum aromaticum* (gen. *Azoarcus*), gdzie katalizują dwa kolejne etapy szlaku beztlenowej mineralizacji etylobenzenu. EBDH katalizuje reakcję anaerobowego, stereospecyficznego względem produktu utleniania etylobenzenu do (*S*)-1-fenyloetanolu. PEDH katalizuje  $\text{NAD}^+$ -zależną, stereospecyficzną względem substratu reakcję utleniania (*S*)-1-fenyloetanolu do acetofenonu i  $\text{NADH}$ -zależną reakcję odwrotną – redukcję acetofenonu do (*S*)-1-fenyloetanolu. Badania dowiodły, że enzymy te katalizują (*S*)-stereospecyficzną syntezę wielu drugorzędowych alkoholi alkiloaromatycznych, alkiloheterocyklicznych i alifatycznych [1–3]. Z tego powodu EBDH i PEDH mogą stanowić efektywne narzędzia do biosyntezy czystych optycznie związków, stanowiących substraty do produkcji leków. Aby wyjść naprzeciw oczekiwaniom przemysłu farmaceutycznego, konieczne jest opracowanie technologii pozwalającej na ekonomiczne uzyskiwania chiralnie czystych i niezanieczyszczonych przez białko produktów na skalę przemysłową. Technika umożliwiającą przedłużenie trwałości preparatu enzymatycznego, dającą możliwość jego łatwej izolacji z mieszaniny reakcyjnej oraz wydajnego, wielokrotnego stosowania, jest immobilizacja.

Immobilizację EBDH i PEDH prowadzono na drodze kowalencyjnego wiązania białka do Granoceli – nośników celulozowych posiadających różne ugrupowania funkcyjne. Badania aktywności enzymów prowadzono metodą testów UV-Vis, zaś konwersję substratu potwierdzono metodami HPLC. Tak immobilizowana PEDH charakteryzuje się wysoką stabilnością operacyjną oraz stabilnością w warunkach przechowywania, podczas gdy EBDH wykazuje niską odporność na proces immobilizacji.

### Literatura:

1. M. Szaleniec et al., „Biochem.”, 46, 7637–7646 (2007).
2. M. Szaleniec et al., „J. Mol. Catal. A.”, 286, 128–136 (2008).
3. M. Szaleniec et al., „J. Chromatogr. A.”, 1216, 6224–6235 (2009).

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

ALEKSANDER TRĄBKA-ZAWICKI, ALEKSANDER ŻELIĄŚ,  
BARTŁOMIEJ GUZIK, KRZYSZTOF ŻMUDKA

## ZASTOSOWANIE ŁAGODNEJ HIPOTERMII TERAPEUTYCZNEJ U PACJENTÓW PO NAGŁYM ZATRZYMANIU KRĄŻENIA CELEM POPRAWY ROKOWANIA U TYCH CHORYCH

Zakładu Hemodynamiki i Angiokardiografii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński,  
Collegium Medicum; Szpital im. Jana Pawła II, Kraków

Najczęstszą przyczyną pozaszpitalnego zatrzymania krążenia (OHCA) jest choroba wieńcowa. Włączenie do schematu leczenia hipotermii terapeutycznej (MTH) poprawia rokowanie neurologiczne pacjentów.

Celem badania było określenie wpływu MTH na czynniki morfotyczne, krzepnięcia, zapalne, parametry hemodynamiczne oraz ocenę neurologiczną chorych. Ponadto oceniano wpływ MTH na aktywności płytek krwi.

Materiał i metody: Do badania włączono 16 pacjentów w wieku 58 lat (M-87,5%), którzy zostali zresuscytowani po OHCA z podejrzeniem OZW. Oprócz typowego leczenia zastosowano u tych chorych MTH. Wszystkie parametry oznaczano w regularnych odstępach czasowych. Do oceny neurologicznej wykorzystano skalę Cerebral Performance Categories (CPC). Funkcję płytek krwi (PLT) oceniano agregometrią optyczną po stymulacji kwasem arachidonowym (AA).

Wyniki: Najczęstszą przyczyną nagłego zatrzymania krążenia było NSTEMI (43,7%). W badaniach laboratoryjnych stwierdzono, że MTH istotnie zmniejsza poziom D-dimerów (7171 v. 796  $\mu\text{g/L}$ ;  $p=,00451$ ), poziom PLT (195 v. 126  $\times 103/\mu\text{l}$ ;  $p=0,00012$ ), hemoglobiny (Hb) (14,1 v. 11,2  $\text{g/dl}$ ;  $p=0,00041$ ), czerwonych krwinek (RBC) (4,6 v. 3,5  $\times 106/\mu\text{l}$ ;  $p=0,00001$ ), hematokrytu (HCT) (41,8 v. 28,9%;  $p=0,00051$ ) i poziom białych krwinek (WBC) (14 v. 8,3  $\times 103/\mu\text{l}$ ;  $p=0,00028$ ), przy istotnym wzroście CRP (4 v. 126  $\text{mg/L}$ ;  $p=0,00000$ ). Średni poziom agregacji indukowanej AA w trakcie MTH i NT dla grupy ASA 300 mg wynosił 42% v. 27%,  $n=3$ . 93,7% pacjentów wypisano ze szpitala; 43,7% było przytomnych, zorientowanych, zdolnych do pracy (CPC1). Po 6 miesiącach oceniono 43,7% chorych na CPC1 (26,6%-CPC5; zgon).

Wnioski: Stosowanie MTH może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem krwawienia (przez zmniejszenie poziomu PLT i spadek Hb). MHT nie wydaje się wpływać na oporność PLT na ASA, ale grupa badana była mała. Potrzeba dodatkowych badań celem oceny agregacji PLT na ASA i Clopidogrelu, aby określić dokładnie wpływ MTH.

MARCIN WALIGÓRA, MATEUSZ BRÓZDA, GRZEGORZ KOPEĆ, PIOTR PODOLEC

## CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ZMIAN W BADANIU ECHOKARDIOGRAFICZNYM W LOSOWEJ PRÓBIE DOROSŁYCH POLAKÓW

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

**Wprowadzenie:** Echokardiografia jest badaniem z wyboru w diagnostyce chorób serca.

**Cele:** Ocena częstości występowania zmian w badaniu echokardiograficznym w losowej próbie dorosłych Polaków.

**Materiał i metody:** Badanie echokardiograficzne wykonano w losowej próbie 511 mężczyzn (47%) i kobiet (53%) w wieku 63,0 (57,0–69,0) lat. U wszystkich pacjentów przeprowadzono ujednolicony wywiad chorobowy, oceniono profil czynników ryzyka oraz wykonano przezklatkowe badanie echokardiograficzne w sposób standardowy. Wybrane parametry echokardiograficzne standaryzowano na powierzchnię ciała (BSA) zgodnie z zaleceniami.

**Wyniki:** Mężczyźni w porównaniu z kobietami mieli wyższe ciśnienie tętnicze, większe stężenie triglicerydów oraz mniejsze stężenie cholesterolu HDL we krwi. Nieprawidłowości w badaniu echokardiograficznym stwierdzono u następującego odsetka chorych: zwiększenie średnicy końcowo-rozkurczowej lewej komory (LK) – 37%, niedomykalność zastawki mitralnej – 32%, aortalnej – 24%, trójdzielnej – 17%, pogrubienie ściany tylnej LK – 24,1% i przegrody międzykomorowej – 18,6%, zwiększenie średnicy końcoworozkurczowej LK/BSA – 16%, zwiększenie średnicy lewego przedsionka – 15,7%, zmniejszenie frakcji wyrzutowej LK – 15,3%, odcinkowe zaburzenia kurczliwości lewej komory – 13,9%, poszerzenie aorty wstępującej – 8%, zwiększenie średnicy lewego przedsionka/BSA – 2,5%, powiększenie prawej komory (PK) – 2% i zwiększenie ciśnienia skurczowego w PK – 0,6%. U 4 pacjentów (0,8%) stwierdzono zwiększenie średniego gradientu przez zastawkę mitralną  $\geq 5$  mmHg, a u 2 pacjentów (0,4%) zwiększenie skurczowego gradientu przez zastawkę aortalną  $\geq 25$  mmHg. Poszerzenie aorty wstępującej, odcinkowe zaburzenia kurczliwości lewej komory, zmniejszenie frakcji wyrzutowej lewej komory oraz pogrubienie przegrody międzykomorowej występowały częściej u mężczyzn niż u kobiet.



Wnioski: Rozpowszechnienie poszczególnych nieprawidłowości w badaniu echokardiograficznym w próbie dorosłych Polaków wynosi od <1% do 37%. Część z nich występuje częściej u mężczyzn niż u kobiet. Znaczna liczba pacjentów może być nieprawidłowo zdiagnozowana w zależności od tego, czy rozpoznanie będzie się opierać na parametrach zmierzonych, czy indeksowanych względem BSA.

ANNA WASIELEWSKA, MONIKA RUDZIŃSKA, ANDRZEJ SZCZUDLIK

## ZESPOŁY BÓLOWE W CHOROBIE PARKINSONA

Klinika Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Choroba Parkinsona (PD) jest chorobą zwyrodnieniową układu nerwowego, charakteryzująca się zaburzeniami ruchowymi: bradykineza, sztywność, drżenie; zaburzeniami neuropsychiatrycznymi: zaburzenia snu, depresja, apatia czy otępienie. Etiologia bólu w PD jest słabo poznana. Dotychczas opisano wiele różnych rodzajów bólu (ból mięśniowo-szkieletowy, neuropatyczny, dystoniczny, ośrodkowy lub psychogeny) występujących w związku lub bez PD.

**Cele badania:** (1) Ocena częstości występowania i charakterystyki rodzajów przewlekłego bólu w PD; (2) ocena współlistnienia i związku zaburzeń czucia powierzchniowego i głębokiego oraz zmian w zakresie potencjałów somatosensorycznych w obszarze lokalizacji bólu; (3) ocena zależności występowania i nasilenia bólu od stadium i nasilenia PD oraz od leczenia lewodopą; (4) ocena zależności występowania i nasilenia bólu od obecności i nasilenia objawów depresyjnych i lękowych.

**Materiał i metody:** Badanie zostanie przeprowadzone wśród chorych z rozpoznaniem PD. Celem zebranego wywiadu będzie uzyskanie informacji na temat PD (czas trwania choroby, pozaruchowe objawy, leczenie farmakologiczne i chirurgiczne) oraz informacji dotyczących bólu pod kątem: lokalizacji, czasu trwania, nasilenia, jego charakteru w stanach on i off w PD.

Każdy z chorych zostanie zbadany neurologicznie. Zaburzenia ruchowe zostaną ocenione skalą UPDRS a zaburzenia bólowe skalami VAS i LANSS. Objawy depresyjne zostaną ocenione testem Hamiltona. Każdy pacjent zostanie zbadany metodą potencjałów somatosensorycznych wywołanych (SEP). Obecność ewentualnego uszkodzenia obwodowego układu nerwowego zostanie potwierdzona badaniem EMG.

**Spodziewane wyniki:** Różne rodzaje zespołów bólowych występują w znaczącym procencie chorych z PD. Spodziewany wynik to określenie klinicznej zależności obecnych objawów bólowych w odniesieniu do stanu on/off i zastosowanego leczenia w PD oraz stwierdzenie zależności zaburzeń czuciowych w obszarze lokalizacji bólu. W przypadku bólu neuropatycznego istnieje związek ze zmianami w SEP.

ANNA WASIK, MONIKA MARCINKOWSKA, ADAM BUCKI,  
GRZEGORZ KAZEK, MAREK BEDNARSKI, MACIEJ PAWŁOWSKI,  
MARCIN KOŁACZKOWSKI, ANNA WESOŁOWSKA

## MULTIRECEPTOROWY PROFIL NOWYCH POCHODNYCH INDOLOAMIN *IN VITRO*

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Firma Farmaceutyczna Adamed Sp. z o.o.

Niezadowolające efekty farmakoterapii schizofrenii, szczególnie w obszarze łagodzenia objawów negatywnych i kognitywnych, wiążą się z koniecznością poszukiwania związków o selektywnym i bezpieczniejszym/pozbawionym znaczących działań niepożądanych profilu działania. Wykazano, że związki o działaniu D2-dopaminolitycznym, w połączeniu z aktywnością wobec receptorów serotoninowych 5HT1A, 5HT2A, 5HT6 i/lub 5-HT7, cechuje redukcja objawów popiramidowych związanych z blokadą receptorów D2 oraz korzystny wpływ na afekt i procesy poznawcze. Wśród takich struktur znajdują się pochodne aryloalkilopiperazyny o udokumentowanej aktywności przeciwpsychotycznej, przeciwłękowej i przeciwdepresyjnej.

Badania radioreceptorowe objęły 4 nowe związki: ADN-1320, ADN-1321, ADN-1319, ADN-2013, analogi arypiprazolu, w którym ugrupowanie 2,3-dichlorofenyłowe zastąpiono różnie podstawioną grupą indolową.

Badane pochodne cechuje wysokie powinowactwo do receptorów D2 ( $K_i=3,2-32$  nM, dla ADN-1920 98% wyparcia radioliganda z receptora), 5HT1A ( $K_i=3,9-6,2$  nM, dla ADN-1319 oraz ADN-1320 100% wyparcia radioliganda), 5HT6 ( $K_i=0,3-2,1$ , dla ADN-1320 wyparcie radioliganda na poziomie 99%), wysokie do umiarkowanego do receptorów 5HT2A ( $K_i=3,2-180$  nM, dla ADN-1320 100% wyparcia) oraz umiarkowane do receptorów 5HT7 (procent wypierania liganda 19-79). Badane związki wykazują ponadto zróżnicowane powinowactwo do transportera dla 5HT (SERT) (procent wypierania radioliganda 3-88). Obserwowane różnice w powinowactwie związków są zależne od podstawnika przy azocie N1 indolu (grupy benzyłowej lub fenylosulfonamidowej wbudowanej w pierścień indolu) i/lub długości łańcucha alkoksyłowego łączącego piperazynę z grupą indolową.

Badane związki wykazują istotny dla potencjalnych efektów terapeutycznych profil receptorowy, który pozwala oczekiwać aktywności przeciwpsychotycznej, przeciwłękowej oraz prokognitywnej. Badania aktywności wewnętrznej i wstępne badania farmakologiczne pozwolą na zweryfikowanie niniejszych założeń.

MAGDALENA WAWRZYNKIEWICZ, MARTA WOLEK, AGNIESZKA WRÓBEL,  
JOANNA KOSAŁKA, DOMINIKA STETTNER, KATARZYNA MACIKOWSKA,  
AGATA SKRZYPEK, ANNA WOJAS-PELC

## WZORCE DERMOSKOPOWE AKRALNYCH ZMIAN MELANOCYTOWYCH PACJENTÓW KLINIKI DERMATOLOGII UJ CM – PORÓWNANIE Z WYNIKAMI BADAŃ W INNYCH KRAJACH

Oddział Kliniczny Dermatologii; Oddział Alergii i Immunologii, II Katedra Chorób Wewnętrznych; Uniwersytecka Klinika Stomatologiczna; Oddział Kliniczny Położnictwa i Perinatologii; Oddział Kliniczny Otolaryngologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Streszczenie:** Dermoskopia jest nieinwazyjną metodą umożliwiającą szybką diagnostykę różnicową zmian melanocytowych wymagających wycięcia chirurgicznego od zmian łagodnych poddawanych okresowej kontroli. W okolicach akralnych budowa anatomiczna skóry determinuje unikalny wygląd obrazów dermoskopowych zmian melanocytowych. Wzorce dermoskopowe okolic akralnych dzieli się na wzorce charakterystyczne dla zmian łagodnych: równoległy, typu kratka, włókienkowy, oraz złośliwych: równoległy pogrubiały i typu rozlanej pigmentacji.

**Cel pracy:** Analiza porównawcza wyników badań wzorców dermoskopowych występujących w okolicach akralnych u pacjentów badanych w Klinice Dermatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie z wynikami badaczy z innych krajów (Japonia, Włochy, Hiszpania, Turcja).

**Materiał i metody:** Analizie poddano 360 obrazów dermoskopowych zmian melanocytowych występujących na podszewkach stóp 257 pacjentów rasy kaukaskiej. Zbadano rodzaje wzorców, częstość występowania, zależność typu od lokalizacji na skórze podszew stóp. Uzyskane wyniki zestawiono z wynikami badaczy z innych krajów.

**Wyniki:** Częstość występowania wzorców dermoskopowych kształtowała się następująco: wzorec typu kratka – 120 (33,3%), wzorec włókienkowy – 109 (30%), wzorec równoległy – 80 (22,2%). Wzorec włókienkowy występował najczęściej w okolicy niosącej ciężar – 94 (86,2%), wzorec typu kratka w okolicy łuku – 81 (67,5%), wzorec równoległy w okolicach innych – 51 (63,7%). Dodatkowo wykryto 2 wzorce nieswoiste i 1 wzorec równoległy pogrubiały oraz 1 przypadek czerniaka akralnego, zlokalizowanego w okolicy łuku podszwy stopy.

**Wnioski:** Wyniki analizy porównawczej wskazują, że podobne wzorce występują w populacji japońskiej i europejskiej, jednakże częstość występowania poszczególnych wzorców różni się. W przeciwieństwie do innych badanych populacji nie wykazano znacznych różnic ilościowych pomiędzy głównymi typami wzorców. Istnieje zależność pomiędzy występowaniem wzorca a lokalizacją zmiany melanocytowej na podeszwie stopy, co jest zgodne z ustaleniami innych badaczy.

JOANNA WIATR, JÓZEF KRZYSIEK

## STĘŻENIE OSTEOPONTYNY W SUROWICY PACJENTEK CHORUJĄCYCH NA ENDOMETRIOZĘ

Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Endometrioza to estrogenozależna, przewlekła choroba, objawiająca się tworzeniem guzów w obrębie miednicy małej, uporczywymi bólami i niepłodnością. Zasadniczą cechą choroby jest występowanie tkanki endometrium poza obszarem jamy macicy zarówno w zakresie narządu rodnego, jak i narządów położonych wewnątrz- lub zewnątrztrzewnowo. Wiele cech endometriozy przypomina odczyn zapalny, np. profil cytokinowy, stymulacja adaptacyjnej angiogenezy, skłonność do silnego włóknienia i tworzenia rozległych, silnie uwapnionych zrostów. Etiologia schorzenia mimo szeregu powszechnie znanych teorii pozostaje nadal niewyjaśniona.

Osteopontyna to ufosforylowana glikoproteina wiążąca wapń o masie 70 –kDa pierwotnie wyizolowana z ludzkiej macierzy kostnej. Osteopontyna ulega ekspresji m.in. na osteoklastach, komórkach nabłonkowych czy też komórkach układu immunologicznego takich jak limfocyty T, komórki NK czy makrofagi. Jest ona wydzielana do płynów ustrojowych, m.in. do krwi, moczu, żółci.

Wykazano, że w przewlekłych lub ostrych stanach zapalnych dochodzi do zwiększenia stężenia osteopontyny. Stwierdzono również zwiększoną ekspresję osteopontyny w osoczu w przebiegu guzów litych, jak również nowotworów układu krwionośnego. Co ciekawe, w ostatnim czasie stwierdzono zwiększoną ekspresję osteopontyny na poziomie mRNA na komórkach impantów endometriotycznych pobieranych podczas zabiegów operacyjnych u kobiet cierpiących na endometriozę.

Ze względu na występowanie w trakcie tej choroby cech charakterystycznych dla procesu zapalnego, jak również pewne podobieństwa do chorób nowotworowych, takie jak wzmożona angiogeneza czy inwazyjny wzrost w obrębie okolicznych tkanek, interesujące wydaje się zbadanie stężenia osteopontyny w osoczu krwi u pacjentek z endometriozą. Wykazanie zależności między występowaniem choroby a podwyższonym poziomem osteopontyny w surowicy pacjentek stwarzałoby możliwość traktowania osteopontyny jako nowego markera endometriozy.

ALEKSANDRA WIECZOREK

## WPŁYW PSYCHOTERAPII WGLĄDOWEJ NA POSTRZEGANIE WIEZI WCZESNODZIECIĘCEJ U PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI OSOBOWOŚCI

Zakład Terapii Rodzin, Katedra Psychiatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Oddział Leczenia Zaburzeń Osobowości i Nerwic, Szpital im. J. Babińskiego w Krakowie

Głównym problemem badawczym prezentowanego badania jest ocena wpływu leczenia psychoterapią wglądową na sposób postrzegania przez pacjentów wczesnych relacji ze swoimi opiekunami oraz poszukiwanie ewentualnych zależności, m.in. związanych z doświadczeniem różnych traum. Obraz wczesnych relacji – „styl przywiązania”, rzutuje na wszystkie relacje tworzone w późniejszym życiu. Uważany jest za względnie trwały, niepodatny na zmiany wzorzec. Ostatnie światowe doniesienia wskazują jednak, że u pacjentów z zaburzeniami osobowości można uzyskać korzystną zmianę w wyniku leczenia psychoterapią wglądową. Weryfikacja tej hipotezy w populacji polskich pacjentów z zaburzeniami osobowości stała się inspiracją dla omawianego projektu. W praktyce klinicznej natomiast uzyskane wyniki badań mogłyby znaleźć zastosowanie w procesie kwalifikacji pacjenta do leczenia psychoterapią. Dodatkowo badanie ma odpowiedzieć na pytania związane ze skutecznością samej metody leczenia poprzez ocenę jej wpływu na występowanie różnych objawów psychopatologicznych i somatycznych oraz mechanizmów obronnych. Badanie przeprowadzone było przy użyciu kilku narzędzi kwestionariuszowych, w dwóch ośrodkach terapeutycznych, tj. w Ośrodku Terapii Dorosłych Dzieci Alkoholików Krakowskiego Centrum Terapii Uzależnień i w Oddziale Leczenia Zaburzeń Osobowości i Nerwic Szpitala Specjalistycznego im. J. Babińskiego w Krakowie.

MAŁGORZATA WILUSZ

## POZIOM KWASÓW TŁUSZCZOWYCH U PACJENTÓW PO PRZESZCZEPIE SERCA W KONTEKŚCIE STOSOWANEGO LECZENIA IMMUNOSUPRESYJNEGO

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

Pomimo postępu, jaki się dokonał w dziedzinie transplantologii, do jej podstawowych problemów wciąż zalicza się procesy immunologiczne przy przeszczepach genetycznie różnych od organizmu biorcy. Tolerancję przeszczepu w przypadku dawcy różniącego się genetycznie można uzyskać wyłącznie poprzez modyfikację czynności jego układu immunologicznego. W tym celu stosuje się m.in. leki immunosupresyjne, spośród których do najczęściej wykorzystywanych należą cyklosporyna i tacrolimus. Stosowanie każdego z tych środków niesie ze sobą ryzyko wystąpienia szeregu działań niepożądanych. Do najbardziej niebezpiecznych – ze względu na konsekwencje związane z chorobami układu sercowo-naczyniowego – zaliczają się zaburzenia gospodarki lipidowej.

Prezentacja będzie dotyczyła planu badań, jakie zostaną przeprowadzone na docelowej grupie pacjentów – osób po przeszczepie serca, przebywających na leczeniu immunosupresyjnym w Klinice Chirurgii Serca, Naczyń i Transplantologii w Krakowie, oraz sposobu ich wykonania. Na przykładzie pojedynczych, wstępnych wyników zostaną omówione parametry poddane analizie – poziom kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych w odniesieniu do rodzaju stosowanego leku immunosupresyjnego. Szczególnie kwasy tłuszczowe wielonienasycone stanowią interesujący przedmiot badań ze względu na posiadane przez nie szerokie właściwości prozdrowotne.



DOMINIKA WNEK, MALGORZATA MALCZEWSKA-MALEC,  
ANNA ZDZIENICKA, URSZULA RAŻNY, BEATA KIEĆ-WILK,  
JOANNA GÓRALSKA, ANNA GRUCA, MACIEJ MAŁECKI,  
ALDONA DEMBIŃSKA-KIEĆ

## WPLÝW DIETY REDUKCYJNEJ I SUPLEMENTACJI KWASAMI N-3 PUFA NA MARKERY STANU ZAPALNEGO WŚRÓD OTYŁYCH PACJENTÓW

Katedra i Zakład Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Klinika Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Otyłość jest chorobą, w przebiegu której rozwija się przewlekły stan zapalny o łagodnym nasileniu. Badania interwencyjne dostarczają dowodów, że redukcja masy ciała może przyczynić się do obniżenia markerów stanu zapalnego.

**Metody:** 77 pacjentów (63 osoby otyłe i 14 osób w grupie kontrolnej) w wieku 25–65 lat z Poradni Leczenia Zaburzeń Lipidowych i Otyłości oraz z Kliniki Chorób Metabolicznych przeszło doustny test tolerancji glukozy (DTTG) oraz doustny test tolerancji lipidów (DTTL). Następnie pacjenci zostali przydzieleni na okres 3 miesięcy do jednej z dwóch grup: dieta izokaloryczna lub dieta redukcyjna (1200–1500 kcal/dzień) z suplementacją n-3 PUFA (kapsułki EPAX TG 1050 TG, 3 x 600 mg) lub placebo (kapsułki z olejem kukurydzianym). Wśród pacjentów dwukrotnie (przed i po 3-miesięcznej interwencji żywieniowej) mierzono poziom hsCRP, IL-6 oraz sPECAM.

**Wyniki:** U otyłych pacjentów realizujących dietę redukcyjną zaobserwowano obniżenie wskaźnika masy ciała BMI (34,6 do 32,0 kg/m<sup>2</sup> w grupie placebo i 34,1 do 32,3 kg/m<sup>2</sup> w grupie n-3 PUFA). Zaobserwowano znaczący spadek hsCRP (2,1 do 1,6 mg/l w grupie placebo i 3,4 do 2,1 mg/l w grupie n-3 PUFA). Zaobserwowano także umiarkowany spadek IL-6, które było bardziej zaznaczone u pacjentów na diecie redukcyjnej, z suplementacją n-3 PUFA. Analizując pozostałe parametry, zaobserwowano znaczący spadek sPECAM w grupie osób na diecie redukcyjnej, przyjmującej n-3 PUFA, w porównaniu do grupy przyjmującej placebo.

**Wnioski:** Redukcja masy ciała oraz suplementacja n-3 PUFA może obniżyć poziom parametrów stanu zapalnego towarzyszącego otyłości. Takie postępowanie może zmniejszać ryzyko ewentualnych konsekwencji metabolicznych przewlekłego stanu zapalnego, łącznie z ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych

ANNA WOJNA

## OBRAZOWANIE PŁUC METODĄ MAGNETYCZNEGO REZONANSU Z UŻYCIEM HIPERSPOLARYZOWANYCH GAZÓW SZLACHETNYCH $^3\text{He}$ I $^{129}\text{Xe}$

Zakład Optyki Atomowej, Instytut Fizyki im. M. Smoluchowskiego, Uniwersytet Jagielloński

Metoda magnetycznego rezonansu pozwala na nieinwazyjne obrazowanie ciała ludzkiego. Chcąc obrazować narządy charakteryzujące się ubogą zawartością protonów (np. płuca), należy wypełnić je dedykowanym medium. Wprowadzenie do organizmu drogą wziewną spolaryzowanych gazów szlachetnych takich jak hel ( $^3\text{He}$ ) lub ksenon ( $^{129}\text{Xe}$ ) rozwiązuje ten problem. Gazy są ośrodkiem rzadkim, dlatego należy je optycznie spolaryzować, by sygnał rezonansu jądrowego był dostatecznie wysoki. Proces polaryzacji odbywa się w polaryzatorze i polega na przekazie momentu pędu z kołowo spolaryzowanego światła laserowego do jądra atomowego w obecności jednorodnego pola magnetycznego.

Pierwsze w Polsce zdjęcie płuc ludzkich zostało wykonane z użyciem spolaryzowanego  $^3\text{He}$  w polaryzatorze naszej konstrukcji umieszczonym w tomografie MR Sonata Siemens 1.5 T, w szpitalu im. Jana Pawła II w Krakowie. Jest to pierwsze tego typu urządzenie kompatybilne z komercyjnym skanerem MR. Obecnie finalizowane są prace związane z budową polaryzatora  $^{129}\text{Xe}$ . Obrazowanie płuc hiperspolaryzowanymi gazami szlachetnymi  $^3\text{He}$  i  $^{129}\text{Xe}$  pozwala nie tylko na wykonanie wysokiej rozdzielczości statycznych zdjęć wnętrza płuc w dowolnie wybranej warstwie, ale także pozwala na obserwowanie rozchodzenia się gazu w czasie, a przez to łatwe rozpoznanie miejsc niedrożnych. Dodatkowo poprzez interakcję atomów spolaryzowanych z sąsiednimi atomami i molekułami możliwe jest zbadanie takich parametrów, jak grubość ścianek i rozmiar pęcherzyków płuc, perfuzja, czas dyfuzji w naczyniach włosowatych oraz czas transportu krwi w rejonie wymiany gazowej.

Referencje:

1. „Optica Applicata” 2012, Vol. 42, No.1, 223–239.
2. arXiv:1302.4863, złożone do publikacji w „Journal of Applied Physics”.

MARTA WOLEK

## PRZEBIEG KLINICZNY TRĄDZIKU POSPOLITEGO A POLIMORFIZM W REJONIE PROMOTORA GENU DLA TNF-ALFA

Katedra Dermatologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wprowadzenie:** Trądzik pospolity jest przewlekłym schorzeniem aparatu włosowo-łojowego z towarzyszącym łojotokiem. Trądzik dotyczy 80–100% osób w wieku 11–30 lat, a jego leczenie nadal sprawia duże problemy. Uzasadnione wydaje się prowadzenie badań nad jego podłożem, szczególnie w grupie chorych z ciężkimi postaciami, prowadzącymi do bliznowacenia. W patogenezie trądziku podkreśla się znaczący udział predyspozycji genetycznych. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alfa) jest jedną z cytokin prozapalnych biorących udział w patogenezie trądziku. Różnice w poziomie cytokin we krwi obwodowej mogą być wynikiem polimorfizmu genów odpowiedzialnych za ich produkcję. Z dotychczasowych doniesień Szabo i wsp. wynika, że polimorfizm w rejonie promotora genu dla TNF alfa pozycji -308 G/A oraz -857 C/T może być związany z predyspozycją do trądziku.

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

**Materiał i metody:** Badaniem objęta jest grupa pacjentów z rozpoznaniem trądzikiem pospolitym w wieku 18–30 lat. Grupę kontrolną do badań genetycznych stanowią osoby bez zmian trądzikowych. Z każdym pacjentem przeprowadzany jest dokładny wywiad dotyczący przebiegu choroby, rodzaju leczenia i wywiad rodzinny dotyczący chorób łojotokowych. Od chorych pobierana jest krew obwodowa w celu wykonania badań.

**Wyniki i wnioski:** Określenie związku badanych polimorfizmów genu z występowaniem trądziku oraz jego stopniem nasilenia wydaje się szczególnie przydatne, gdyż może ułatwić podjęcie decyzji o wcześniejszym włączeniu bardziej agresywnego leczenia w jego ciężkich postaciach.

KATARZYNA ANNA WÓJCIK, MARTA MICHALIK, PAULINA KOCZURKIEWICZ,  
BOGDAN JAKIELA, HANNA PLUTECKA, ZBIGNIEW MADEJA, MAREK SANAK

## AKTYWACJA SZLAKU WNT – NOWE SPOJRZENIE NA STYMULOWANY TGF- $\beta$ PROCES PRZEKSZTAŁCANIA SIĘ FIBROBLASTÓW W MIOFIBROBLASTY W PRZEBIEGU ASTMY OSKRZELOWEJ

Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Astma oskrzelowa jest jedną z najczęstszych przewlekłych chorób zapalnych płuc. Objawia się między innymi odwracalnym zwężeniem oskrzeli, jednakże często prowadzi również do nieodwracalnych zmian w ścianie oskrzeli. W procesie przebudowy drzewa oskrzelowego zaangażowanych jest wiele różnych czynników, w tym cytokiny, czynniki wzrostu oraz białka macierzy zewnątrzkomórkowej. Jedną z najważniejszych cząsteczek sygnalizacyjnych stymulujących proces przekształcania się fibroblastów w miofibroblasty (ang. FMT) jest TGF- $\beta$ .

Nasze wcześniejsze badania wykazały, że ludzkie fibroblasty oskrzelowe (ang. HBFs) pochodzące od pacjentów ze zdiagnozowaną astmą oskrzelową znacznie łatwiej różnicują w miofibroblasty niż HBFs wyizolowane od osób, u których nie stwierdzono objawów choroby.

Liczne doniesienia wskazują również na udział ścieżki WNT w procesach transformacji fibroblastów w miofibroblasty. Wykazaliśmy, że aktywacja szlaku WNT poprzez specyficzne zahamowanie aktywności kinazy GSK-3 $\beta$  znacząco wpływa na stymulowany TGF- $\beta$  proces FMT, osłabiając go w fibroblastach pochodzących od astmatyków. Zastosowanie inhibitora kinazy GSK-3 $\beta$  hamuje również translokację fosforylowanych białek Smad do jądra komórkowego. Co więcej, aktywacja szlaku WNT wpływa istotnie na zmniejszenie stymulowanego TGF- $\beta$ , wydzielania czynnika wzrostowego tkanki łącznej przez fibroblasty oskrzelowe pochodzące od osób ze zdiagnozowaną astmą oskrzelową.

Uzyskane przez nas wyniki wskazują na udział aktywacji szlaku WNT w regulacji zjawiska FMT w trakcie przebudowy drzewa oskrzelowego w przebiegu astmy oskrzelowej. Wzajemne oddziaływanie szlaku WNT z kanonicznym szlakiem aktywacji białek Smad przez TGF- $\beta$  może okazać się potencjalnym celem interwencji terapeutycznej.

Smad przez TGF- $\beta$  może okazać się potencjalnym celem interwencji terapeutycznej. Model oparty o pierwotne hodowle fibroblastów oskrzelowych *in vitro* może stanowić cenny system eksperymentalny w badaniach mechanizmów leżących u podstaw przebudowy ściany oskrzeli, a w przyszłości przyczynić się do rozwoju nowych strategii terapeutycznych przeciw astmie.

AGNIESZKA WRÓBEL, JACEK SKŁADZIEN, DOMINIKA STETTNER,  
KATARZYNA WAWRZYNKIEWICZ, KATARZYNA MACIKOWSKA,  
JOANNA KOSAŁKA, AGATA SKRZYPEK

## PSEUDOGUZY ZAPALNE OCZODOŁU A IGG4 RELATED DISEASE

Katedra i Klinika Otolaryngologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie; Oddział Kliniczny Dermatologii, Katedra i Klinika Dermatologii; Oddział Kliniczny Położnictwa i Perinatologii; Oddział Alergii i Immunologii, II Katedra Chorób Wewnętrznych; Uniwersytecka Klinika Stomatologiczna, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

**Wstęp:** Przeprowadzona przeze mnie analiza dokumentacji pacjentów operowanych z powodu guzów oczodołu w Klinice Laryngologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w latach 1997–2011 wykazała, że najczęściej rozpoznawanymi w tym czasie guzami oczodołu były pseudoguzы zapalne, stanowiące 25% przypadków. Stanowią one wyzwanie dla klinicystów, gdyż ich diagnostyka nastręcza dużych trudności, a terapia jest bardzo inwazyjna dla pacjenta. Dlatego wdrożenie nowych metod diagnostycznych i leczniczych jest tu niezwykle istotne.

Niewykluczone, że występowanie pseudoguzów zapalnych skorelowane jest z opisaną po raz pierwszy w 2010 roku przez Japońskich naukowców grupą chorób powiązanych z IgG4 (ang. IgG4 related disease; IgG4-RD).

**Cel pracy:** Optymalizacja diagnostyki i leczenia pseudoguzów zapalnych oczodołu. Rozpoznanie IgG4-RD u pacjentów operowanych z powodu guzów oczodołu w Klinice Laryngologii w Krakowie oraz ocena skuteczności leczenia konwencjonalną sterydoterapią.

**Materiał i metody:** Po potwierdzeniu rozpoznania pseudoguzы zapalnego, do tej pory na grupie 5 pacjentów, wycinek pobrany z oczodołu został poddany ponownej ocenie histopatologicznej (przy współpracy z Katedrą Patomorfologii) w celu potwierdzenia lub wykluczenia IgG4-RD. Dodatkowo każdemu z pacjentów włączonych do badania pobrano 5 ml krwi obwodowej, w której zbadano miano IgG4 w surowicy.

**Wyniki:** Potwierdziliśmy rozpoznanie IgG4-RD u 2 pacjentów operowanych w naszej klinice.

Wnioski: Pacjenci z pseudoguzami zapalnymi oczodołów są poddawani nie-  
rzadko rozległym zabiegom operacyjnym, często niedającym pełnego wylecze-  
nia. Rozpoznanie IgG4-RD mogłoby się przyczynić do modyfikacji leczenia.  
W literaturze opisano dość dużą poprawę po zastosowaniu sterydoterapii u pa-  
cjentów z potwierdzonym IgG4-RD oraz 4 przypadki pacjentów, u których po-  
twierdzono znamienne poprawę po leczeniu rituximabem.

DAGMARA WRÓBEL, ANNA PARTYKA, ANNA WASIK,  
MAGDALENA JASTRZĘBSKA-WIĘSEK, MACIEJ PAWŁOWSKI,  
PAWEŁ ZAJDEL, ANNA WESOŁOWSKA

## PROFIL AKTYWNOŚCI PRZECIWPASYCHOTYCZNEJ, PRZECIWDOPRESYJNEJ ORAZ PRZECIWLĘKOWEJ ZWIĄZKU PZ-549, ANALOGU STRUKTURALNEGO ARIPIPRAZOLU, W MODELACH ZWIERZĘCYCH

Zakład Farmacji Klinicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wyniki wielu badań potwierdziły współwystępowanie zaburzeń lękowo-depresyjnych z zaburzeniami psychicznymi. W klinice zaobserwowano istotne korzyści wynikające ze stosowania nietypowych leków przeciwpsychotycznych, charakteryzujących się wieloreceptorowym mechanizmem działania w zakresie osłabiania objawów towarzyszących zaburzeniom schizofrenicznym. Aripiprazol, lek przeciwpsychotyczny III generacji, został zarejestrowany w terapii choroby afektywnej dwubiegunowej. Również w terapii depresji lekoopornej łączy się leki przeciwpsychotyczne z lekami przeciwdepresyjnymi w celu potencjalizacji ich aktywności.

Związek PZ-549, będący 2,3-dichlorofenylopiiperazynową pochodną sulfonamidową chinoliny oraz analogiem aripiprazolu, zbadano w kierunku potencjalnego działania przeciwpsychotycznego w teście aktywności lokomotorycznej wzbudzonej podaniem 0,2 mg/kg MK-801 oraz 2,5 mg/kg d-amfetaminy u myszy. Aktywność przeciwdepresyjną zbadano, wykorzystując mysi test wymuszonego pływania. Potencjalne działanie przeciwłękowe związku PZ-549 określono w 3 testach: czterech płytek u myszy oraz konfliktu wg Vogla i podniesionego labiryntu krzyżowego u szczurów.

PZ-549 nasilał działanie hiperlokomotoryczne MK-801 i d-amfetaminy, wskazując na brak potencjalnej aktywności przeciwpsychotycznej u myszy. W zastosowanym modelu depresji badany związek statystycznie istotnie skracał czas bezruchu po podaniu dawek 5 i 10 mg/kg oraz w dawce 20 mg/kg wykazał działanie przeciwłękowe w teście czterech płytek u myszy, zwiększając statystycznie liczbę karanych przejść, a także aktywność przeciwkonfliktową w teście Vogla u szczurów, zwiększając istotnie liczbę karanych prób picia wody przez szczury deprywowane. Aktywność ta nie została potwierdzona w teście podniesionego labiryntu krzyżowego.



Poszukiwanie wśród nowych cząsteczek o wieloreceptorowym mechanizmie działania aktywnych struktur daje szansę znalezienia wiodących związków, pozwalających na opracowanie nowych leków psychotropowych o szerszym spektrum działania i pozbawionych działań niepożądanych leków obecnie stosowanych w terapii zaburzeń schizoafektywnych.

Badania finansowane z funduszy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego przeznaczonych na podtrzymanie potencjału badawczego (K/ZDS/001293).

TOMASZ P. WRÓBEL, KATARZYNA M. MARZEC, ANNA RYGUŁA,  
EDYTA MAŚLAK, ANDRZEJ FEDOROWICZ, AGNIESZKA JASZTAŁ,  
STEFAN CHŁOPICKI, MAŁGORZATA BARAŃSKA

## WIELOPARAMETROWE OBRAZOWANIE BLASZKI MIAŻDŻYCOWEJ PRZY UŻYCIU SPEKTROSKOPII OSCYLACYJNYCH (RAMAN/IR) ORAZ MIKROSKOPII SIŁ ATOMOWYCH (AFM)

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński; Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET);  
Katedra Farmakologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Łączenie wielu technik eksperymentalnych jest pożądane ze względu na możliwość pełniejszego opisu badanego układu poprzez skorelowanie ze sobą komplementarnych informacji. W pracy zostaną pokazane wyniki obrazowania przekrojów poprzecznych pnia ramiennie-głowego tętnicy (*brachiocephalic artery*) pobranych od myszy ApoE/LDLR<sup>-/-</sup> z rozwiniętą miażdżycą przy zastosowaniu trzech technik: spektroskopii ramanowskiej, absorpcyjnej w podczerwieni oraz mikroskopii sił atomowych (AFM).

Wykazano, że ogólna analiza statystyczna całego naczynia może być przeprowadzona za pomocą obrazowania IR, natomiast obrazowanie ramanowskie jest techniką, która powinna być używana dla wybranych przekrojów tkanki do pomiarów z wysoką rozdzielczością. W pracy badano parametry biochemiczne prowadzące do niestabilności blaszki miażdżycowej. Wyniki uzyskane z obrazowania IR i ramanowskiego zostały skorelowane z mapami topograficznymi uzyskanymi z AFM oraz z barwienia histopatologicznego. W badaniach tych szczególnie ważne jest przygotowanie tkanki, ponieważ obie techniki spektroskopowe, AFM oraz barwienie, wymagają specjalnego podejścia. Celem tej pracy jest przedstawienie i porównanie najważniejszych cech blaszki miażdżycowej z przekrojów tkanek, które zostały zobrazowane jednocześnie wszystkimi technikami. Drugim celem jest wskazanie markerów zmian biochemicznych blaszki oraz sposobu ich detekcji.

Praca finansowana ze środków funduszy Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (grant koordynowany przez JCET-UJ, POIG.01.01.02-00-069/09). AR dziękuje za wsparcie finansowe projektowi „Społeczeństwo – Technologie – Środowisko” realizowanemu na Uniwersytecie Jagiellońskim i współfinansowanemu przez Unię Europejską.

IWONA ZACZYK

## ZAPOTRZEBOWANIE NA ŚRODOWISKOWĄ OPIEKĘ PIELĘGNIARSKĄ WŚRÓD OSÓB STARSZYCH POWYŻEJ 75. ROKU ŻYCIA

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

**Wstęp:** Zmiany w strukturze demograficznej ludności wymuszają pilną potrzebę reorganizacji systemu opieki nad osobami starszymi. Gwałtowny wzrost odsetka osób w zaawansowanym wieku pociąga za sobą zwiększające się zapotrzebowanie na świadczenia o charakterze pielęgnacyjno-opiekuńczym.

**Cel pracy:** Określenie zapotrzebowania na środowiskową opiekę pielęgniarzką wśród osób starszych powyżej 75. roku życia.

**Materiał i metody:** Badaniem została objęta grupa 80 osób powyżej 75. roku życia, które w ciągu ostatnich sześciu miesięcy korzystały z opieki pielęgniarki rodzinnej w miejscu swojego zamieszkania. Jako narzędzie badawcze zastosowano kwestionariusz wywiadu. Sprawność funkcjonalną, w oparciu o którą oceniono zapotrzebowanie osób starszych na opiekę pielęgniarzką, określono za pomocą skali Barthel.

**Wyniki:** W badanej grupie osób korzystających z opieki pielęgniarki rodzinnej zdecydowaną większość stanowiły kobiety (70%). Średnia wieku badanych wyniosła 82 lata. 32,5% respondentów mieszkała samodzielnie. Ponad połowa respondentów wymagała pomocy w wykonywaniu czynności związanych z pielęgnacją (52,6%). Zapotrzebowanie na pomoc w tym zakresie częściej dotyczyło kobiet (22,4%) niż mężczyzn (12,5%). Najczęściej w wykonywaniu codziennych czynności respondentom pomagały dzieci (58,5%); zaledwie 3,8% z nich wskazało pielęgniarkę rodzinną jako źródło pomocy.

**Wnioski:** Przeprowadzone badanie pokazuje, że rodzina w głównym stopniu pomaga niesprawnym seniorom w wykonywaniu codziennych czynności, przy niewielkim udziale pielęgniarki rodzinnej. Brak wsparcia rodziny w codziennej opiece nad najstarszymi osobami wskazuje na niewydolność systemu środowiskowej pomocy adresowanej do osób starszych.

WALDEMAR ZAWADA

## SYSTEM MIĘŚNIOWY A UPADKI U PACJENTÓW Z NIEWYDOLNOŚCIĄ SERCA – ROZWAŻANIE TEORETYCZNE

Klinika Chorób Wewnętrznych i Geriatrii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

Upadki, jakich najczęściej doznają ludzie po 64. roku życia, są nie tylko wielkim problemem geriatrycznym, ale i społecznym, pociągającym za sobą istotne skutki medyczne i ekonomiczne. Do upadków przyczyniają się zaburzenia równowagi i chodu zarówno związane z wiekiem, jak i te wynikające z istniejących chorób. Odpowiedź motoryczna, zależna od prawidłowej transmisji nerwowej i sprawności układu mięśniowego, wyraża się w działaniu dużych grup mięśniowych całego organizmu, łącznie z innymi strukturami narządu ruchu, co w niniejszej pracy, opartej na światowym piśmiennictwie, będzie korelowane z niewydolnością serca oraz upadkami i ich ryzykiem.

MARCIN ZAWROTNIAK

## ROLA NEUTROFILOWYCH PUŁAPEK ZEWNĄTRZ-KOMÓRKOWYCH (NET) W ZESPOLE OSTREJ NIEWYDOLNOŚCI ODDECHOWEJ (ARDS) ORAZ MUKOWISCYDOZIE

Zakład Biochemii Analitycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Neutrofile są krótko żyjącymi komórkami układu odpornościowego, odpowiedzialnymi za zwalczanie patogenów wnikaających do organizmu. Jednym z mechanizmów zwalczania drobnoustrojów jest niedawno odkryta netoza, będąca unikalną formą śmierci komórki, prowadzącą do utworzenia Neutrofilowych Pułapek Zewnątrzkomórkowych (NET). NET posiadają zdolność wiązania i zabijania wielu patogenów, np. *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*. Funkcje antybakteryjne sieci NET determinuje ich budowa i składniki. Główny szkielet pułapek tworzą włókna zdekondensowanej chromatyny, wiążące patogeny dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym. W sieci wkomponowane są białka wchodzące w skład granuli neutrofilowych, m.in. elastaza, katepsyna G, proteinaza 3, mieloperoksydaza, laktoferyna oraz peptyd LL-37, zdolne do dezaktywacji czynników wirulencji patogenów oraz uszkodzenia ich struktury komórkowej. Oprócz funkcji obronnej sieci NET biorą udział w szeregu innych procesów w organizmie człowieka, tj. w formowaniu skrzepów wewnątrznaczyniowych, ale także mogą być przyczyną poważnych powikłań chorobowych, np. chorób o podłożu autoimmunologicznym lub przewlekłych zapaleń narządów.

Jednym z narządów narażonych na niepożądane działanie sieci NET są płuca. W przypadku infekcji lub mechanicznych uszkodzeń dolnych dróg oddechowych neutrofile migrują do pęcherzyków płucnych, w których na drodze netozy zwalczają patogeny. Niestety enzymy proteolityczne wchodzące w skład sieci NET oraz generowane reaktywne formy tlenu są zdolne do uszkodzenia epitelium wyściełającego pęcherzyki. Sytuacja ta prowadzi do zwiększenia przepuszczalności bariery włóscinkowo-pęcherzykowej, powstania przewlekłego stanu zapalnego i zespołu ostrej niewydolności oddechowej (ALI/ARDS) oraz wtórnych infekcji. U pacjentów chorych na mukowiscydozę także stwierdzono obecność składników sieci NET w wydzielinie z dróg oddechowych. Wydaje się, że sieci DNA odpowiadają za wzrost lepkości śluzu i utrudnione jego usuwanie, co w konsekwencji prowadzi do chronicznych infekcji.

MICHAŁ ZĄBCZYK, GRZEGORZ KARKOWSKI, JACEK MAJEWSKI, ANETTA UNDAŚ

## WPŁYW DOUSTNYCH ANTYKOAGULANTÓW NA WŁAŚCIWOŚCI FIBRYNY U PACJENTÓW Z MIGOTANIEM PRZEDSIONKÓW W TRAKCIE DWUMIESIĘCZNEJ OBSERWACJI

Zakład Kardiochirurgii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej, Instytut Kardiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum; Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Migotanie przedsionków (AF) związane jest z dużym ryzykiem wystąpienia incydentów zakrzepowo-zatorowych. Stosowanie antagonistów witaminy K (VKAs) istotnie redukuje to ryzyko. Nie wiadomo jednak, jak leczenie VKAs wpływa na właściwości skrzepu fibrynowego na początku i w trakcie pierwszych tygodni od rozpoczęcia antykoagulacji.

U 40 pacjentów z AF (61–83 lat) rozpoczynających leczenie VKAs zbadano właściwości skrzepu fibrynowego przed zastosowaniem oraz w 3., 5., 7., 28. i 56. dniu antykoagulacji. Oceniono przepuszczalność skrzepu fibrynowego (Ks) w obecności 10 pM czynnika tkankowego (TF) oraz oznaczono czas lizy skrzepu (CLT) wywołanej rekombinowanym tkankowym aktywatorem plazminogenu. Przepuszczalność skrzepu wzrastała, a CLT ulegał skróceniu ( $p < 0,05$  dla wszystkich punktów czasowych), począwszy od pierwszych dni antykoagulacji aż do osiągnięcia fazy plateau w siódmym dniu leczenia. Średnia wartość Ks zwiększała się w badanej grupie chorych w trakcie obserwacji o 85%, a CLT ulegał skróceniu o 24% ( $p < 0,001$  dla obydwu). Ks wykazywał liniową zależność od międzynarodowego współczynnika znormalizowanego (INR) ( $r = 0,47$ ;  $p < 0,0001$ ). Pacjenci, którzy osiągnęli stabilną antykoagulację (INR w zakresie 2–3;  $n = 16$ ) w co najmniej trzech kolejnych punktach czasowych, charakteryzowali się wyższą przepuszczalnością skrzepu w pierwszym tygodniu leczenia ( $p < 0,05$  dla wszystkich punktów czasowych) w porównaniu do pozostałych. U chorych przyjmujących statyny ( $n = 24$ ) zaobserwowano skrócony CLT przed rozpoczęciem terapii oraz w 3. i 5. dniu leczenia VKAs ( $p < 0,05$  dla wszystkich punktów czasowych).

Wyniki badania pokazują, że stosowanie VKAs korzystnie modyfikuje właściwości skrzepu fibrynowego u pacjentów z AF, a przyjmowanie statyn potęguje to działanie, szczególnie na początku antykoagulacji. Ponadto wysoka wartość Ks na początku leczenia może mieć wartość prognostyczną dla osiągnięcia terapeutycznego zakresu INR.

KAMILA ŻUR-WYROZUMSKA, TOMASZ DZIDZIC

## POLIMORFIZM GENU C677T MTHFR JAKO CZYNNIK RYZYKA ROZWOJU SPORADYCZNEJ POSTACI STWARDNIENIA BOCZNEGO ZANIKOWEGO

Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Stwardnienie boczne zanikowe (SLA) jest chorobą zwyrodnieniową ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego o nieznannej etiologii. Polimorfizm C677T genu reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofoliatu (MTHFR) jest związany z podwyższonym poziomem homocysteiny we krwi. U chorych na SLA stwierdzono podwyższony poziom homocysteiny we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym. Hiperhomocysteinemia może prowadzić do zwyrodnienia komórek nerwowych.

Celem badania była ocena znaczenia polimorfizmu C677T genu MTHFR jako czynnika ryzyka rozwoju sporadycznej postaci SLA w populacji polskiej.

Materiał i metody: W badaniu wzięło udział 251 osób z rozpoznaniem pewnego lub prawdopodobnego SLA (kryteria WFN El Escorial 1998) oraz 500 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Polimorfizmy C677T genu MTHFR zostały oznaczone przy pomocy reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. Real-Time Polymorphism Chain Reaction, RT-PCR). Zastosowano zestaw firmy Applied Biosystems as Pre-Designed/Validated Assays zaprojektowany i przygotowany do oznaczenia polimorfizmu C677T (rs1801133) genu MTHFR. Zawierał on TaqMan Universal PCR Master Mix, specyficzną parę sond (CLCN6, MTHFR-C\_1203883\_20) znakowanych fluorochromami VIC i FAM oraz startery.

Wyniki: Badany polimorfizm nie wykazywał odchylenia od równowagi Hardy-Weinberga. W badaniu nie stwierdzono związku polimorfizmu C677T genu MTHFR z ryzykiem rozwoju sporadycznej postaci SLA ( $p=0,46$ ), nie wykazano znaczenia poszczególnych alleli (allel C OR=0,70; 95% CI: 0,39–1,28,  $p=0,22$ ; allel T OR=0,95; CI: 0,71–1,28,  $p=0,75$ ) i genotypów (TT v. TC+CC OR=1,39; 95% CI: 0,78–2,50,  $p=0,26$ ; TT+TC v. CC OR=0,97; 95% CI: 0,70–1,35  $p=0,85$ ) dla ryzyka tej choroby. Nie wykazano związku poszczególnych alleli i genotypów badanego polimorfizmu genu MTHFR z postaciami klinicznymi choroby, płcią oraz przeżyciem osób chorych.

Wnioski: Polimorfizm C677T genu MTHFR nie jest czynnikiem ryzyka rozwoju sporadycznej postaci SLA w populacji polskiej.

MAREK ŻURAWSKI, MARCIN MAJKA

## OTRZYMYWANIE INDUKOWANYCH KOMÓREK PLURIPOTENCJALNYCH Z LUDZKICH FIBROBLASTÓW

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

Wprowadzenie genów odpowiedzialnych za właściwości pluripotencjalne komórek macierzystych (KLF4, SOX2, OCT4 oraz c-Myc) do komórek somatycznych powoduje ich odróżnicowanie w kierunku komórek posiadających fenotyp pluripotencjalny. Proces odróżnicowania nazywamy reprogramowaniem, a komórki uzyskane w ten sposób indukowanymi komórkami pluripotencjalnymi (iPSCs – Induced Pluripotent Stem Cells). Takie podejście umożliwia wytworzenie specyficznych dla pacjenta komórek posiadających potencjał do różnicowania w komórki dowolnej z tkanek organizmu. W przyszłości komórki te mogą zostać użyte w medycynie regeneracyjnej, m.in. przy do tej pory nieuleczalnych schorzeniach wymagających naprawy uszkodzonej tkanki lub organu. Zastosowanie komórek iPS może także umożliwić korekcję wad genetycznych negatywnie wpływających na funkcjonowanie tkanek i organów oraz testowanie *in vitro* specyficznej osobniczo reakcji na leki. Możliwość wytwarzania komórek iPS pozwala ponadto pominąć etyczne i techniczne trudności związane z zastosowaniem pluripotencjalnych komórek macierzystych pozyskiwanych z ludzkich embrionów. Celem przeprowadzanych eksperymentów było wytworzenie indukowanych komórek pluripotencjalnych z ludzkich komórek somatycznych. Prezentowane wyniki dotyczą ludzkich fibroblastów reprogramowanych przy pomocy wektorów retrowirusowych zawierających geny OCT4, KLF4 oraz SOX2 i cMyc. Wektory te zostały dodatkowo wyposażone w gen reportery eGFP który pozwala monitorować wydajność transdukcji reprogramowanych komórek. Wyniki pozwolą na dalsze badania nad komórkami iPS oraz uzyskiwanie tych komórek z materiału pobranego od pacjentów. Ponadto, planowane są dalsze rozwojowe badania nad reprogramowaniem komórek przy użyciu wektorów niewirusowych.