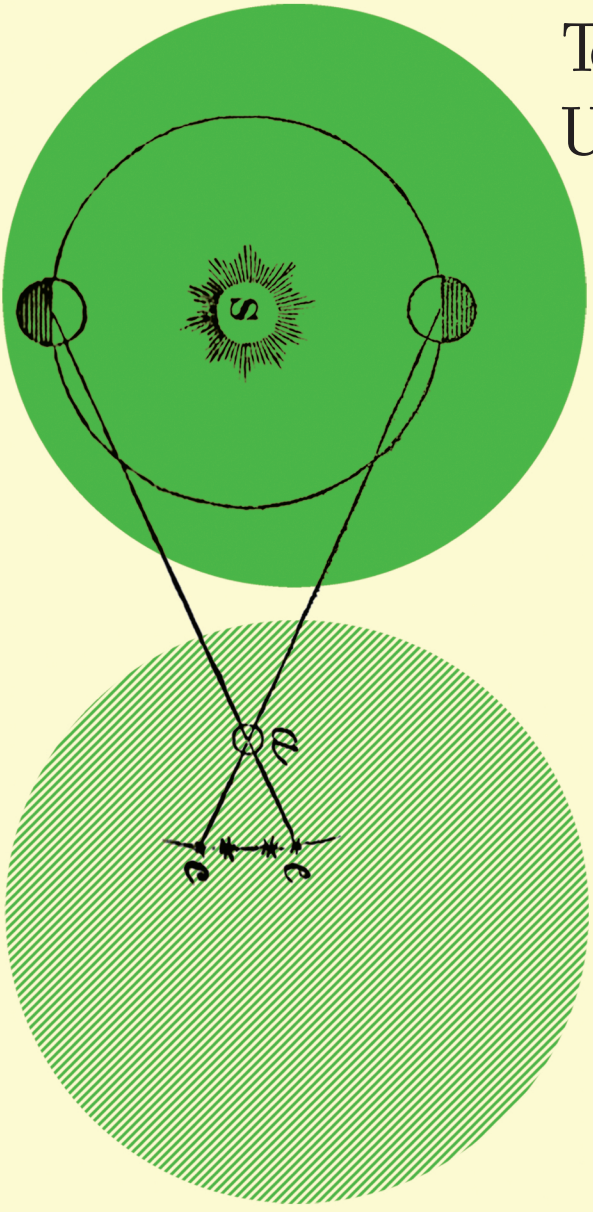
Zeszyty Naukowe Towarzystwa Doktorantów Uniwersytetu Jagiellońskiego

Numer 4 (1/2012)



Konferencja Naukowa Doktorantów
Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kraków, 17-18 maja 2012 r.

20 LAT TDUJ

Kraków 2012

NAUKI

ZESZYTY NAUKOWE TOWARZYSTWA DOKTORANTÓW
UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

Rada Naukowa

Prof. dr hab. Karol Musioł
Rektor Uniwersytetu Jagiellońskiego

Prof. dr hab. Andrzej Mania
Prorektor Uniwersytetu Jagiellońskiego ds. dydaktyki

Prof. dr hab. Maria Flis
Dziekan Wydziału Filozoficznego UJ

Prof. dr hab. Bogdan Szlachta
Dziekan Wydziału Studiów Międzynarodowych i Politycznych UJ

Prof. dr hab. Katarzyna Kieć-Kononowicz
Wydział Farmaceutyczny, UJ Collegium Medicum
kierownik studiów doktoranckich

Prof. dr hab. Jacek Składzień
Wydział Lekarski, UJ Collegium Medicum
kierownik studiów doktoranckich

Prof. dr hab. Marta Kudelska
Wydział Filozoficzny UJ, prodziekan ds. studenckich

Dr hab. Leszek Sosnowski
Wydział Filozoficzny UJ

Zeszyty Naukowe
Towarzystwa Doktorantów
Uniwersytetu Jagiellońskiego
Numer 4 (1/2012)

Nauki Ścisłe

Konferencja Naukowa Doktorantów
Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego

17-18 maja 2012 r.

Kraków 2012

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

Redaktor naczelna:
Paulina Tendera

Zastępca redaktor naczelnej:
Marcin Lubecki

Sekretarz redakcji:
Rafał Opulski

Redaktor prowadząca serii Nauk Ścisłych:
Anna Bogdali

Redaktorzy tomu:
Anna Bogdali, Bartłomiej Jałocha

Komitet naukowy konferencji:
prof. dr hab. Jacek Składzień,
prof. dr hab. Piotr Richter,
prof. dr hab. Anetta Undas,
dr hab. Krzysztof Bryniarski,
dr hab. Marta Cześnikiewicz-Guzik,
dr hab. Zygmunt Warzecha

Komitet organizacyjny konferencji:
Bartłomiej Jałocha, Paulina Koczurkiewicz,
Katarzyna Piotrowicz-Wójcik, Dominika Stettner,
Katarzyna Wójcik, Agnieszka Wróbel

Redakcja językowa i korekta:
Marcin Lubecki, Katarzyna Migdał,
Anna Bogdali

Skład:
Marcin Lubecki

Projekt okładki:
Szymon Drobniak

Współpraca wydawnicza:
Wydawnictwo LIBRON – Filip Lohner
ul. Ujejskiego 8/1, 30-102 Kraków

Publikacja finansowana ze środków Collegium Medicum UJ
oraz Towarzystwa Doktorantów UJ

© Copyright by Zeszyty Naukowe Towarzystwa Doktorantów UJ
All rights reserved
Wydanie I, Kraków 2012

ISSN 2082-3827

SPIS TREŚCI

MACIEJ ŻYLICZ 9
WYKŁAD INAUGURACYJNY: STRES A CHOROBY NOWOTWOROWE

EWA K. ZUBA-SURMA 11
WYKŁAD INAUGURACYJNY: W POSZUKIWANIU NIEŚMIERTELNOŚCI – KOMÓRKI MACIERZYSTE W MEDYCYNIE REGENERACYJNEJ

ABSTRAKTY 15

WYKŁADY INAUGURACYJNE

PROF. DR HAB. MACIEJ ŻYLICZ

STRES A CHOROBY NOWOTWOROWE

Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie

W ostatnim wieku wzrosła znacząco częstość zachorowania na nowotwory. Jest to wynik między innymi starzenia się społeczeństwa. Częstość zapadania na nowotwory rośnie z wiekiem. Czy jest to jedyny czynnik wpływający na wzrost zachorowalności? Badania wskazują, że prawie każdy z nas po przekroczeniu 50. roku życia posiada mikroguzy nowotworowe, tak zwane nowotwory *in situ* tarczycy, które nie muszą doprowadzić do powstania prawdziwych nowotworów. Bardzo często występują także u kobiet powyżej 40. roku życia nowotwory *in situ* piersi, a u mężczyzn prostaty. To, czy nowotwór *in situ* rozwinie się w naszym organizmie w prawdziwy nowotwór i spowoduje powstawanie przerzutów, zależy od mikrootoczenia tych komórek nowotworowych. W zdrowym organizmie takie komórki nowotworowe są rozpoznawane i niszczone przez makrofagi czy komórki NK. Wydzielane są także nasze endogenne czynniki (takie jak inhibitory angiogenezy czy inhibitory metaloproteinaz MMP), które hamują rozwój i przerzutowanie nowotworów. Czynniki zewnętrzne, takie jak stres, mogą jednak wpływać na mikrootoczenie nowotworów *in situ*. Na poziomie organizmu stres powoduje wydzielanie hormonów stresowych aktywujących korę nadnerczy zapoczątkowujących reakcję alarmową. Na poziomie komórkowym stres powoduje wzmożoną syntezę białek szoku termicznego, których zadaniem jest niwelowanie zgubnych efektów stresu, indukcje termotolerancji, chronienie białek, dysocjację agregatów białkowych, zwijanie się innych białek do aktywnej konformacji. Białka szoku termicznego mogą nawet pomóc zwinąć się białkom, które mają zmieniony jeden aminokwas. Mówimy wtedy, że białka szoku termicznego mogą „buforować" mutacje punktowe typu zmiany sensu. Gdy jednak organizmy nasze poddane są traumatycznemu stresowi, zwiększone stężenie hormonów stresowych powoduje zmianę mikrootoczenia nowotworów *in situ*: zmniejsza się nasza odpowiedź immunologiczna, w tym aktywność komórek NK, zwiększa się ruchliwość komórek nowotworowych, aktywowane są metaloproteinazy MMP, wzrasta angiogeneza oraz maleje aktywność supresorów nowotworów, w tym białka p53. W przypadku niewielkiego stresu p53 indukuje zahamowanie cyklu komórkowego i naprawę DNA, w przypadku większego stresu p53 odpowiedzialne jest za apoptozę komórki. Do swo-

jej aktywności antynowotworowej p53 wymaga udziału białek szoku termicznego. W warunkach stresu traumatycznego białka szoku termicznego nie oddziałują z p53, w ten sposób hamując jego aktywność. Ponadto w tych warunkach, białka szoku termicznego nie zwijają innych białek do swojej aktywnej konformacji, powodując dalsze upośledzenie wielu reakcji w komórce, oraz nie buforują mutacji punktowych nagromadzonych w czasie życia danej komórki.

Reasumując, mały poziom stresu, wywołany na przykład uprawianiem sportu czy sauną, indukuje syntezę białek szoku termicznego, co wpływa pozytywnie na nasz organizm, w tym na układ immunologiczny oraz na systemy wewnątrzkomórkowe hamujące powstawanie nowotworów. Stres traumatyczny (np. stres pooperacyjny) lub długotrwały (np. spowodowany depresją) zmienia mikrootoczenie nowotworów *in situ*, powodując rozwój nowotworu i powstawanie przerzutów.

DR HAB. EWA K. ZUBA-SURMA

W POSZUKIWANIU NIEŚMIERTELNOŚCI – KOMÓRKI MACIERZYSTE W MEDYCYNIE REGENERACYJNEJ

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Komórki macierzyste (KM) stanowią unikatową pulę komórek organizmu definiowaną najczęściej poprzez ich zdolność do samodnawiania oraz różnicowania się w komórki ukierunkowane do określonych linii rozwojowych. Szereg badań podstawowych oraz klinicznych prowadzonych na świecie potwierdza potencjalną skuteczność zastosowania KM w leczeniu uszkodzonych tkanek i narządów, chociaż wciąż trwają poszukiwania skutecznych i bezpiecznych frakcji KM do potencjalnych zastosowań medycznych. Obecnie nowoczesna medycyna regeneracyjna ukierunkowana jest na wykorzystanie różnych subpopulacji wzbogaconych w KM i preparaty progenitorowe, w tym (1) auto- i allogeniczne komórek pozyskiwanych ze szpiku kostnego (SzK), mobilizowanej krwi obwodowej (MKO) oraz krwi pępowinowej (KP), (2) populacji progenitorowych pozyskiwanych z tkanek dojrzałych (np. komórek progenitorowych serca, skóry). Obok przykładów klinicznych zastosowań preparatów KM i progenitorowych w badaniach podstawowych testowane są obecnie możliwości potencjalnego wykorzystania (3) KM pochodzenia embrionalnego oraz (4) tzw. indukowanych KM pluripotencjalnych (z ang. induced pluripotent stem cells, iPS), które właściwościami biologicznymi odpowiadają KM embrionalnym.

Otwarte pozostaje pytanie, która populacja KM stanowi rzeczywiście skuteczną i bezpieczną alternatywę lub/i uzupełnienie dla konwencjonalnych metod leczenia uszkodzeń tkankowych i narządowych. Szereg czynników decyduje o skuteczności i bezpieczeństwie stosowania terapii eksperymentalnych z zastosowaniem KM. W aspekcie klinicznym pod uwagę należy wziąć nie tylko potencjał różnicowania KM, bezpośrednio przekładający się na potencjalną zdolność do odtwarzania uszkodzonych tkanek po przeszczepie, ale także m.in. skrętom danej populacji KM oraz ekspresję czynników zwiększających odporność na warunki stresowe, które to elementy odgrywają niebagatelną rolę w aktywacji endogennych mechanizmów naprawczych na drodze parakrynnej, a także

mogą oznaczać zwiększoną przeżywalność w warunkach stresowych. Pod uwagę należy brać również zdolności proliferacyjne wybranych KM oraz praktyczne możliwości ich przygotowania do celów przeszczepowych w warunkach, jakich wymagają obecne standardy przygotowania preparatów medycznych podawanym pacjentom w klinice. Wreszcie „primum non nocere" nabiera szczególnego znaczenia w kontekście najnowszych podejść eksperymentalnych, ukierunkowanych na potencjalne zastosowania komórek iPS o wysokim potencjale teratogennym w medycynie regeneracyjnej. Wszystkie wymienione aspekty skutkują tym, że wciąż otwarta jest dyskusja nad właściwą strategią doboru preparatów wzbogaconych w KM do zastosowań klinicznych.

Abstrakty

TOMASZ ADAMUS, MAŁGORZATA SEKUŁA, MACIEJ SUŁKOWSKI,
DANUTA JAROCHA, PAULINA KRASICKA, MARCIN MAJKA

EFEKTYWNOŚĆ TRANSFERU GENÓW JAKO NARZĘDZIA TERAPII GENOWEJ

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

Wykorzystanie wektorów plazmidowych pozwala na ingerencję w procesy sygnalizacji wewnątrzkomórkowej poprzez kontrolowaną ekspresję transgenu *in vitro*. Podstawowy problem związany z procesem transfekcji DNA stanowi niska wydajność transferu genowego do różnych typów komórek, jak również niewystarczająca aktywność transkrypcyjna wykorzystywanych systemów promotorowych.

Celem eksperymentu było określenie wpływu lipidowych czynników transfekcyjnych na wydajność wprowadzania wektorów ekspresyjnych do komórek prawidłowych oraz ustalonych linii komórkowych. Otrzymane wyniki pozwoliły na ustalenie efektywności i toksyczności wykorzystanych reagentów, jak również na porównanie aktywności transkrypcyjnej popularnych promotorów. Jako materiał doświadczalny wykorzystane zostały komórki prawidłowe hMSC (ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste), HUVEC (ludzkie komórki śródbłonka żyły pępowinowej), HK (ludzkie keratynocyty wyizolowane z włosa), rTTF (szczurze fibroblasty wyizolowane z ogona) oraz ustalone linie komórkowe HeLa (ludzkie komórki raka szyjki macicy) i 293FT (ludzkie embrionalne komórki nerkowe). Badane czynniki transfekcyjne stanowiły Lipofectamine 2000 (Invitrogen), X-tremeGENE 9 oraz X-tremeGENE HP (Roche). Wydajność wprowadzania materiału DNA do komórek została określona na podstawie odsetka komórek wykazujących ekspresję genu reporterowego (eGFP). Aktywność transkrypcyjna promotorów CMV (wirusa cytomegalii) i UbC (ubikwityny C) została porównana dzięki pomiarom średniej wartości fluorescencji w komórkach linii HeLa, stabilnie transdukowanych genem reporterowym (eGFP).

Otrzymane wyniki wykazały, iż komórki prawidłowe stanowią materiał trudny do transfekcji w porównaniu z ustalonymi liniami. Istnieją różnice pomiędzy wydajnością wprowadzania transgenu zależnie od użytego czynnika lipidowego. Zgodnie z oczekiwaniami, promotor CMV pozwala na wyższą ekspresję transgenu niż promotor UbC. Potencjalnie nieograniczone możliwości związane z modyfikowaniem sygnalizacji na poziomie wewnątrzkomórkowym w dużej mierze uzależnione są od efektywności wprowadzania DNA do komórek. Zależnie od typu komórek metody transfekcji powinny być indywidualnie optymalizowane.

KAROLINA BABIUCH, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA,
GRAŻYNA WYSZYŃSKA-PAWELEC

OCENA STANU BŁONY ŚLUZOWEJ JAMY USTNEJ OSÓB LECZONYCH W PRZESZŁOŚCI Z POWODU RAKA JAMY USTNEJ LUB WARG Z WYKORZYSTANIEM SYSTEMU VELSCOPE® – DONIESIENIA WSTĘPNE

Katedra Periodontologii i Klinicznej Patologii Jamy Ustnej, Instytut Stomatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

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

Wstęp: Badanie błony śluzowej jamy ustnej osób leczonych z powodu raka jamy ustnej lub warg przeprowadza się rutynowo w świetle białym. Dostępne są wspomagające systemy wizualizacyjne, m.in. VELscope®, w którym do wykrywania zmian patologicznych wykorzystuje się światło fluorescencyjne.

Cel: Ocena stanu błony śluzowej jamy ustnej osób leczonych z powodu raka jamy ustnej lub warg z wykorzystaniem systemu VELscope® oraz sprawdzenie jego przydatności diagnostycznej.

Pacjenci i metoda: Przebadano 50 pacjentów Poradni Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Szpitala im. L. Rydygiera w Krakowie leczonych z powodu raka jamy ustnej lub warg. Badanie błony śluzowej jamy ustnej przeprowadzono metodą tradycyjną oraz przy pomocy systemu VELscope®. Zmiany, które nie uległy wygojeniu w ciągu 14 dni, poddano weryfikacji histopatologicznej.

Wyniki: Zmiany patologiczne stwierdzono u 10 osób. Zarówno w świetle białym, jak i fluorescencyjnym było widocznych 11 zmian. Pojedyncze zmiany były widoczne tylko w świetle białym lub fluorescencyjnym. Po terapii przeciwgrzybicznej 2 zmiany uległy wygojeniu. Wycinki pobrano z 11 zmian. Badanie histopatologiczne wykazało: akantozę/parakeratozę/zapalenie w 8 przypadkach, dysplazję stopnia małego/średniego/dużego w 3 przypadkach. Z powodu niepokojącego obrazu 2 zmian w świetle fluorescencyjnym pobrano powtórne wycinki. Badanie histopatologiczne wykazało: carcinoma planoepitheliale praeinvasivum i carcinoma planoepitheliale bene differentiatum G1. Czułość systemu VELscope® w wykrywaniu zmian dysplastycznych i raków oceniono na 100%, a swoistość na 12,5%.

Wnioski: Stan błony śluzowej jamy ustnej osób leczonych z powodu raka jamy ustnej lub warg wymaga monitorowania ze względu na możliwość wystąpienia stanów patologicznych. System VELscope® może być przydatny do ich wykrywania. Ze względu na małą swoistość badania systemem VELscope®, do postawienia ostatecznego rozpoznania konieczna jest weryfikacja histopatologiczna.

OLGA BACZYK-ŁOPUCH, BARTŁOMIEJ W. LOSTER

OCENA ADHEZJI BAKTERII Z RODZAJU STREPTOCOCCUS DO ZAMKÓW ORTODONTYCZNYCH – BADANIA PORÓWNAWCZE

Katedra Ortodoncji, Instytut Stomatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wprowadzenie: Najczęstszym powikłaniem terapii ortodontycznej z zastosowaniem stałych aparatów cienkołukowych jest demineralizacja szkliwa, będąca początkowym etapem rozwoju choroby próchnicowej. Z zapoczątkowaniem procesu próchnicowego związane są bakterie Streptococcus mutans i Streptococcus sorbinus, dominujące w płytce bakteryjnej (biofilmie), stanowiącej miękki złóg przylegający do tkanek zęba oraz elementów aparatu ortodontycznego. Adhezja mikroorganizmów do materiału, z którego wykonane są zamki ortodontyczne, jest pierwszym etapem procesu tworzenia się biofilmu na ich powierzchni. W leczeniu ortodontycznym z zastosowaniem stałych aparatów cienkołukowych wykorzystywane są zamki metalowe oraz estetyczne.

Cel pracy: Ocena ilościowa adhezji bakterii Streptococcus mutans i Streptococcus sorbinus do zamków ortodontycznych metalowych (wykonanych ze stali nierdzewnej) i estetycznych (wykonanych z materiału kompozytowego) oraz porównanie stopnia adhezji w odniesieniu do typu materiału zamków i czasu inkubacji w zawiesinie bakteryjnej.

Materiał i metody: Badaniem objęto zamki metalowe Cannon Ultra II oraz zamki kompozytowe Cannon Ultra II Aesthetic (Orthodontic Design & Production, Inc.). W celu zbadania adhezji zastosowano wzorcowe szczepy bakterii gatunku Streptococcus mutans oraz Streptococcus sorbinus. Zamki inkubowano w zawiesinach zawierających szczepy bakteryjne w czasie 90 i 240 minut. Po czasie inkubacji każdy zamek przeniesiono do roztworu trypsyny i EDTA celem odłączenia zaadherowanych bakterii. Uzyskany płyn rozcieńczono w PBS metodą seryjnych rozcieńczeń, przeniesiono na podłoże wzrostowe i inkubowano w temperaturze 37ºC. Po upływie czasu inkubacji oceniona została liczba kolonii Streptococcus mutans i Streptococcus sorbinus, podana w jednostkach CFU/ml.

Wyniki: Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają na ocenę wpływu zastosowanego rodzaju materiału zamków, a także czasu inkubacji zamków w zawiesinie bakteryjnej, na stopień adhezji bakteryjnej do zamków ortodontycznych metalowych i kompozytowych.

EWELINA BACZYŃSKA

OCENA CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA GUZÓW NEURO-ENDOKRYNNYCH 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 30/1000000 osób/rok. GEPNET charakteryzują się powolnym rozwojem, wszystkie są potencjalnie złośliwe. Mogą długo przebiegać bezobjawowo lub dawać objawy niecharakterystyczne, co prowadzi do pomyłek diagnostycznych.

Cel pracy: Ocena zapadalności na GEPNET w Krakowie i powiecie krakowskim w ramach tworzonego rejestru oraz wyłonienie najczęstszych objawów celem stworzenia algorytmu diagnostycznego.

Metody: Badaniem objęto pacjentów z rozpoznanymi w okresie 01.2006–12.2011 na podstawie badania histopatologicznego GEPNET, >18 lat w chwili rozpoznania. W celu oceny zapadalności wyłoniono chorych z Krakowa i powiatu krakowskiego. Drugą grupę stanowią pacjenci Kliniki Endokrynologii, u których przeprowadzono badanie kwestionariuszowe celem oceny najczęstszych objawów choroby.

Wyniki: Przebadano 183 chorych, 102 kobiety i 81 mężczyzn. Średni wiek rozpoznania choroby to 53 lata ±17. W grupie przeważają guzy neuroendokrynne G1 wg WHO 2010 (52%). Pozostałe przypadki stanowią guzy G2 (32%), raki neuroendokrynne (14%) oraz mieszane raki gruczołowo-neuroendokrynne (2%).

Lokalizacja zmian: jelito grube (25%, w tym 11% odbytnica), trzustka (22%), jelito cienkie (20%), żołądek (17%), wyrostek robaczkowy (16%). Najczęstsze objawy: przewlekłe bóle brzucha (30%), „ostry brzuch" (17%), biegunki (13%), osłabienie/zasłabnięcia (11%), spadek masy ciała (10%), anemia (9%), nudności/wymioty (8%), zaparcia (7%), krew w stolcu (6%). Przebieg bezobjawowy obserwowano w 14% przypadków. Zapadalność w latach 2006–2010: 21, 14, 13, 19, 20 przypadków/1000000 osób.

Wnioski: Zapadalność w badanej grupie jest niższa niż opisywana w doniesieniach. Analiza danych z zastosowaniem metody *capture-recapture* w opracowaniu. Najczęstszy objaw choroby to ból brzucha, jednakże w 14% przypadków wystąpił przebieg bezobjawowy.

MARTA BAŁAJEWICZ-NOWAK, AGATA FURGAŁA

OCENA ZMIAN HEMODYNAMICZNYCH UKŁADU SERCOWO-NACZYNIOWEGO U KOBIET W CIĄŻY

Katedra Ginekologii i Położnictwa oraz Katedra Patofizjologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Autonomiczny układ nerwowy (UA) jest odpowiedzialny za utrzymanie homeostazy organizmu i pełni podstawową rolę w adaptacji układu sercowo-naczyniowego do zmian hemodynamicznych. W ciąży obserwujemy zmianę czułości fizjologicznych mechanizmów regulacji ciśnienia tętniczego i częstości akcji serca, co może skutkować jej patologicznym przebiegiem.

Cel badania: Ocena przydatności nieinwazyjnego badania zmian hemodynamicznych układu sercowo-naczyniowego do klinicznej diagnostyki patologii ciąży.

Materiał i metody: Do badania włączono: 36 kobiet w ciąży (29 lat ±4,8 roku) oraz 10 kobiet niecięzarnych (29,5 roku ±5,2 roku), które będą stanowiły grupę kontrolną. U wszystkich pacjentek badanie wykonano w I (6–12 +6 tyg.), II (18–24 tyg.) oraz III trymestrze (30–35 tyg.) ciąży. U wszystkich badanych rejestrowano ciśnienie tętnicze (CTK) w sposób ciągły (automatycznie korygowane), sygnał EKG i pomiar kardiografii za pomocą aparatu Task Force Monitor 3040i. Ocenie i analizie poddano następujące parametry: zmiany częstości akcji serca (HR), ciśnienia tętniczego (CTK), rzutu serca (CO), objętości wyrzutowej lewej komory serca (CI), oporu obwodowego (TPR) oraz aktywności baroreceptorów (BRS).

Wyniki: Zaobserwowano wzrost średnich wartości HR w III trymestrze ciąży w porównaniu z I (73 v. 92 bpm; p<0, 001), wzrost śr. CTK (80 v. 85 mmHg, p<0,01), wzrost CO (5,7 v. 5,84 v. 6,4l/min, p<0,05) oraz spadek wskaźnika CI (46 v. 38 ml/m^2, p=0,0142). Nie stwierdzono znamiennych różnic TPR w poszczególnych fazach ciąży. BRS u pacjentek była niższa niż w grupie kontrolnej (24,8 v. 33,8 ms/mmHg), oraz zmniejszyła się w III trymestrze do 15,6 ms/mmHg, p=0,04. Wyniki te sugerują, że głównym hemodynamicznym mechanizmem adaptacyjnym do hiperwolemii w ciąży jest wzrost częstości akcji serca i ciśnienia tętniczego przy jednoczesnym spadku objętości skurczowej serca i BRS oraz niezmienionym TPR.

KINGA BARLIK, AGNIESZKA BOJKO, ANNA ADAMCZYK, ANDRZEJ KLEIN, AGNIESZKA CIERNIAK

KURKUMINA JAKO POTENCJALNY LEK W TERAPII SKOJARZONEJ Z ETOPOZYDEM. BADANIA NA LUDZKIEJ LINII BIAŁACZKI SZPIKOWEJ K562

Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Kurkuma jest znanym barwnikiem spożywczym (E100) i jedną z najpopularniejszych przypraw indyjskich. Od tysięcy lat w medycynie naturalnej przypisywane są jej dobroczynne możliwości lecznicze. Kurkuma była stosowana do leczenia przypadłości wątrobowych, zaparć czy krwawień. Znane są jej szerokie właściwości oczyszczające. Naukowcy, poszukując substancji mogących zapobiegać rozwojowi raka, zainteresowali się tą przyprawą. Aktywnym składnikiem kurkumy jest kurkumina. Istnieją szerokie badania pokazujące przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne i przeciwzapalne działanie kurkuminy. Nasz zespół prowadzi badania nad zastosowaniem tego polifenolu w terapii skojarzonej z lekiem cytostatycznym – etopozydem. Terapia skojarzona daje nadzieję na zwiększenie cytotoksyczności leku w stosunku do komórek nowotworowych, równocześnie chroniąc komórki zdrowe. Kurkumina wykazuje plejotropowe działanie, dzięki czemu nabycie odporności na ten związek przez komórki nowotworowe jest znacznie utrudnione.

Przeprowadzono doświadczenia mające na celu ocenę uszkodzeń DNA w komórkach nowotworowych linii K562 traktowanych kurkuminą i/lub etopozydem. Komórki eksponowano na działanie kurkuminy przez 1 godzinę i 24 godziny. Zastosowane niskie stężenia odpowiadają tym, które osiągalne są fizjologicznie w ludzkim organizmie (1 μM, 5 μM). Dodatkowo zbadano żywotność komórek poddanych działaniu kurkuminy po 24, 48 i 72 godzinach testem MTT. Godzinę po podaniu kurkuminy zmierzono też zmieniający się poziom reaktywnych form tlenu (RFT) w komórkach.

Zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie proliferacji komórek przy wyższych stężeniach kurkuminy (10–50 μM). Wraz ze wzrastającym stężeniem kurkuminy wzrastał poziom uszkodzeń DNA w komórkach K562 oraz ilość reaktywnych form tlenu. Kurkumina sama w sobie nie powoduje zahamowania działania cytostatyku, a zwiększa cytotoksyczny efekt działania leku (10 μM i 50 μM stężenie).

KATARZYNA BASISTA, BARBARA FILIPEK

UCZULENIE NA PROPOLIS U POLSKICH PSZCZELARZY

Mgr Katarzyna Basista, Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Prof. dr hab. Barbara Filipek, Kierownik Katedry Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wprowadzenie: Według literatury przedmiotu, propolis jest nietoksyczną i bezpieczną substancją, jednak może wywoływać alergię. Pszczelarze są grupą zawodową najbardziej narażoną na wystąpienie alergii kontaktowej, a propolis jest uznawany za zawodowy kontaktowy alergen.

Cel badania: Określenie odsetka pszczelarzy uczulonych na propolis oraz odsetka uczulonych wśród członków rodzin, a także określenie zależności między uczuleniami na propolis a innymi czynnikami współistniejącymi.

Materiały i metody: Kwestionariusz *Alergia na propolis wśród pszczelarzy* wysłano do pszczelarzy za pośrednictwem Związku Pszczelarskiego, a w szczególności Wojewódzkiego Związku Pszczelarzy w Krakowie. Badanie przeprowadzono na osobach dorosłych obojga płci. Do obliczeń statystycznych użyto programu Statistica.

Wyniki: Wysłano 2540 ankiet, w tym 1360 w województwie małopolskim. Otrzymano 558 ankiet (21,97%), w tym 345 z województwa małopolskiego (25,4%). U 17 pszczelarzy (3,05%) z 558 ankietowanych wystąpiła kontaktowa alergia na propolis. 404 z 558 pszczelarzy stosowało propolis w celach prozdrowotnych. U 11 z nich stwierdzono działania niepożądane, jak świąd, wysypka, opuchlizna, pękanie skóry po stosowaniu propolisu. Jedynie 5 pszczelarzy donosi o równoczesnym uczuleniu na propolis podczas pracy w pasiece oraz w trakcie stosowania propolisu w celach prozdrowotnych. Spośród 2205 członków rodzin, którzy stosowali propolis, tylko u 14 osób (0,63%) odnotowano wystąpienie alergii na propolis.

Wnioski: Alergia na propolis wśród polskich pszczelarzy nie wydaje się powszechnym zjawiskiem.

ANNA BENTKE, JĘDRZEJ MAŁECKI, BARBARA OSTROWSKA,
KATARZYNA KRZYKOWSKA-PETITJEAN I PIOTR LAIDLER

INDUKCJA APOPTOZY W KOMÓRKACH CZERNIAKA W WYNIKU DZIAŁANIA INHIBITOROW: HSP90 (17AAG) I FARNEZYLOTRANSFERAZY (R115777)

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

Komórki nowotworowe wykazują wyższą ekspresję białek szoku cieplnego w porównaniu do komórek prawidłowych. Szaperonina Hsp90 to białko szoku cieplnego, które pełni rolę w utrzymaniu aktywnej konformacji białek klientowych. Wiele białek, których opiekunem jest Hsp90, ma potencjał onkogenny i zaangażowanych jest w procesy związane z rozwojem nowotworu. Można więc przypuszczać, że zahamowanie funkcji szaperoniny przyczyni się do zaburzenia działania szeregu białek odpowiedzialnych za proliferację, przerzutowanie i ograniczanie apoptozy nowotworów. Ten fakt sprawia, że Hsp90 uznawane jest za atrakcyjny cel w terapii nowotworów.

Aktywność Hsp90 jest hamowana przez 17AAG, która pomyślnie przeszła I/II fazę testów klinicznych. Jednak zastosowana samodzielnie, nie wykazuje spodziewanego silnego efektu antynowotworowego. W literaturze istnieje ogólna tendencja, by szukać inhibitorów współdziałających z 17AAG, dających silny efekt antynowotworowy.

Celem badań było zbadanie synergistycznego, antynowotworowego wpływu 17AAG w połączeniu z R115777. Badania prowadzono na komórkach nowotworowych czerniaka pochodzących z różnych faz progresji nowotworu. Żywotność i liczebność komórek określono, wykorzystując metodę barwienia fioletem krystalicznym. Proces apoptozy monitorowano przez pomiar aktywności kaspazy-3 z wykorzystaniem fluorogennego substratu i potwierdzono, stosując test TUNEL oraz badając poziom aktywnej kaspazy-9 techniką Western Blot.

W przypadku komórek pochodzących z późniejszych faz rozwoju czerniaka zaobserwowano ograniczenie proliferacji i wzrost indukcji apoptozy w wyniku działania 17AAG. Testy wykazały, że proapoptotyczny potencjał 17AAG może być dodatkowo wzmocniony przez R115777, prowadząc do zwiększenia aktywności kaspazy-3 i wzmożonej indukcji apoptozy.

Przeprowadzone badania wykazały proapoptotyczną aktywność 17AAG w komórkach czerniaka oraz synergistyczne działanie antynowotworowe kombinacji 17AAG+R115777. Inhibicja Hsp90, w połączeniu z blokowaniem innych szlaków odpowiedzialnych za progresję nowotworową, wydaje się obiecującą strategią w walce przeciwko komórkom rakowym.

EWA BŁASZCZYK, BEATA PIÓRECKA, PAWEŁ JAGIELSKI,
MAŁGORZATA SCHLEGEL-ZAWADZKA

POSTRZEGANIE WŁASNEJ MASY CIAŁA W OCENIE MŁODZIEŻY PONADGIMNAZJALNEJ Z LESKA

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

Wprowadzenie: Postrzeganie przez młodych ludzi własnej sylwetki oraz powielanie panujących stereotypów dotyczących ciała może sprzyjać nieprawidłowym zachowaniom zdrowotnym, w tym żywieniowym.

Cel pracy: Ocena postrzegania własnej sylwetki w odniesieniu do rzeczywistej masy ciała młodzieży z Leska.

Materiał i metody: Badaniem objęto 120 uczniów w wieku 16–18 lat pochodzących z terenów wiejskich. Narzędziem badawczym była anonimowa ankieta, w której młodzież wpisała m.in. aktualne wyniki pomiarów antropometrycznych. W ocenie postrzegania własnej sylwetki wykorzystano test będący modyfikacją metody Storz i Greene, gdzie poprzez wybór (numer sylwetki) z przedstawionych rysunków 5 sylwetek o zróżnicowanej masie ciała (oddzielnie dla płci) młodzież wybierała sylwetkę najbardziej zbliżoną do własnej oraz sylwetkę idealną. Do analizy statystycznej zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Wyniki: Nadwagę i otyłość w interpretacji wskaźnika BMI obserwowano u 18,4% chłopców i 7,8% dziewcząt. Niedobór masy ciała wystąpił u 2,6% chłopców i 18,4% dziewcząt. Otyłość centralna na podstawie interpretacji wskaźnika WHtR częściej występowała wśród dziewcząt (18,4%) niż chłopców (11,1%). Sylwetka najbardziej zbliżona do własnej to wg 44,4% chłopców oraz 27,16% dziewcząt sylwetka z 10-procentową niedowagą, 16,1% dziewcząt wybrało sylwetkę z 10-procentową nadwagą. Idealną sylwetkę w opinii 81,6% chłopców przedstawiał rysunek z prawidłową masą ciała, podczas gdy 49,4% dziewcząt wskazało na sylwetkę z 10-procentową niedowagą.

Wnioski. Niedobory masy ciała oraz bardziej krytyczne postrzeganie sylwetki w grupie badanych dziewcząt może być przyczyną nieprawidłowych zachowań żywieniowych.

ANNA BOGDALI, GRAŻYNA ANTOSZCZYK, WOJCIECH DYGA,
KRYSTYNA OBTUŁOWICZ

WPŁYW SUPERANTYGENU STAPHYLOCOCCUS AUREUS, ROZTOCZY KURZU DOMOWEGO ORAZ SOLI NIKLU NA AKTYWACJĘ LIMFOCYTÓW T U CHORYCH Z ATOPOWYM ZAPALENIEM SKÓRY (AZS) – WSPÓŁODDZIAŁYWANIE ALERGENÓW

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

Wstęp: Reaktywność komórek jednojądrzastych krwi (PBMC) *in vivo* na różne substancje może zależeć od ich współoddziaływania i w rezultacie indukowanych przez nie różnych cytokin w tkance objętej odczynem chorobowym. Reakcja na ten sam alergen u chorych na AZS może być w związku z tym różna.

Cel: Badanie wpływu alergii niklowej na profil cytokinowy PBMC (IFNγ, IL2, IL13) u chorych z AZS reagujących na antygen D1 roztocza kurzu domowego Dermatophagoides pteronyssinus i enterotoksyny A i B gronkowca złocistego *in vitro*.

Metody: Profile cytokinowe 30 chorych z AZS z alergią kontaktową na nikiel i nieuczulonych na nikiel oraz 30 zdrowych ochotników badano techniką ELI-Spot.

Wyniki:
IL2 może odgrywać istotną rolę w alergii niklowej w AZS: korelacja: IL2 (stymulacja $NiSO_4$ – nasilenie testu Ni(+) rs=0,8281, p<0,05).
Nikiel wydaje się promować odpowiedź typu Th1 na D1: sekrecja IL2 po stymulacji D1 jest najwyższa w grupie AZS-Ni(+) p<0,05; dodatnia korelacja: IL2 (stymulacja $NiSO_4$ i D1) w grupie AZS-Ni(+) rs=0,8214, p<0,05.
Nikiel może przeciwdziałać rozwojowi odpowiedzi typu Th2 na D1: sekrecja IL13 po stymulacji D1 jest najwyższa w grupie AZS-Ni(-) p<0,05; ujemna korelacja: IL2 $NiSO_4$ i IL13 D1 (rs=-0,955, p<0,05) w grupie AZS-Ni(+).
Nikiel wydaje się promować odpowiedź typu Th1 na SEB: sekrecja IL2 po SEB jest wyższa w grupie AZS-Ni(+) niż AZS-Ni(-) (p<0,0461), ale nie wyższa niż w kontroli (p>0,05); dodatnia korelacja: IL2 SEB – NiS04 (rs=0,9429, p=0,0083) w grupie AZS-Ni(+).

Wnioski: Nikiel wydaje się wpływać na reaktywność PBMC na D1 i SEB. Depolaryzacja Th2-zależnej związanej z IgE odpowiedzi PBMC na D1 może zmniejszać skuteczność odczulającej immunoterapii na Dermatophagoides pteronyssinus.

AGNIESZKA BOJKO, ANNA ADAMCZYK, JANUSZ LIGĘZA,
AGNIESZKA CIERNIAK

KURKUMINA A ZAHAMOWANIE PROLIFERACJI KOMÓREK LUDZKIEGO NOWOTWORU MÓZGU (LN229) WYWOŁANE SELEKTYWNYMI INHIBITORAMI EGFR – TYRFOSTINAMI AG494 I AG1478

Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Indukcja genów zaangażowanych w regulację autokrynnego wzrostu komórek (takich jak czynniki wzrostu i ich receptory) jest jednym z kluczowych czynników w progresji nowotworowej. Równoczesna synteza transformującego czynnika wzrostu α (TGFα) i/lub epidermalnego czynnika wzrostu (EGF) oraz ich receptora (EGFR) – tzw. pętla autokrynna – udokumentowana została w wielu rodzajach linii nowotworowych, między innymi w ludzkim nowotworze mózgu (Glioblastoma multiforme; LN229). Dlatego też rodzina receptorów epidermalnego czynnika wzrostowego wydaje się atrakcyjnym celem terapii przeciwnowotworowej. Jednym z najbardziej obiecujących sposobów zahamowania transdukcji sygnału przez EGFR są niskocząsteczkowe inhibitory fosforylacji tyrozyny (tyrfostiny).

Dostarczany wraz z dietą polifenol kurkumina (curry, jabłka, herbata) charakteryzuje się właściwościami zarówno przeciwnowotworowymi, jak i cytoprotekcyjnymi. Stąd postanowiono sprawdzić skuteczność potencjalnej terapii celowanej – inhibitor EGFR/kurkumina.

W niniejszej pracy badano wpływ dwóch selektywnych inhibitorów EGFR – tyrfostinów AG494 i AG1478 oraz polifenolu kurkuminy na linię ludzkiego nowotworu mózgu (LN229). Analizie poddano następujące parametry: proliferację, żywotność, uszkodzenia DNA oraz odwracalność działania zarówno dla poszczególnych związków, jak i ich mieszanin.

Test MTT wykazał, iż zarówno tyrfostiny, jak i kurkumina w sposób istotny hamują proliferację komórek nowotworu mózgu. Ponadto wszystkie analizowane związki działają w sposób odwracalny. Mieszanina inhibitorów EGFR działa w sposób addytywny na komórki LN229, podczas gdy kurkumina w stężeniu 8μM ochronnie na komórki traktowane AG1478. Podwójne barwienie z użyciem Hoechstu 33342 oraz jodku propidyny pokazało, że tyrfostin AG494 w odróżnieniu od AG1478 indukuje apoptozę w komórkach LN229. Z kolei metoda kometowa wykazała, że zarówno tyrfostiny, jak i kurkumina w fizjologicznym zakresie stężeń nie powodują uszkodzeń DNA w badanej linii komórkowej.

PRZEMYSŁAW BOROWY, ANNA KUMOREK

WPŁYW MASY CIAŁA NA WYSTĄPIENIE ZŁAMANIA NISKOENERGETYCZNEGO U KOBIET PO 50. ROKU ŻYCIA W POPULACJI MAŁOPOLSKI

Krakowskie Centrum Medyczne, Zakład Chorób Kości i Stawów, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Cel pracy: Ocena częstości złamań niskoenergetycznych w grupach kobiet po 50. roku życia z BMI (Body Mass Index) 35 (Grupa D) w obserwacji 11--letniej.

W grupie 1024 kobiet po 50. roku życia, które spełniły kryteria włączenia i nie miały kryteriów wyłączenia (wybranych spośród ok. 97000 rekordów pacjentów Krakowskiego Centrum Medycznego), przeprowadzono retrospektywne badanie kohortowe, oceniające występowanie złamań osteoporotycznych w obserwacji 11-letniej rozpoczętej w 1997 roku. Podczas pierwszej wizyty w centrum pacjentki wypełniły kwestionariusz oceniający czynniki ryzyka złamania, wykonały badanie DXA kręgosłupa i/lub kości udowej oraz badanie fizykalne z pomiarem wzrostu i wagi ciała. Średnio po 11 latach w badanej grupie przeprowadzono telefoniczne badanie ankietowe wg kwestionariusza analogicznego jak w pierwszym badaniu. Szczególną uwagę zwracano na wystąpienie złamań.

Wyniki: W badanej kohorcie największą grupę kobiet stanowiły osoby z BMI w przedziałach 26–35 (542 osoby – 52,98%). Zaobserwowano 227 złamań niskoenergetycznych. Najmniejszą liczbę złamań stwierdzono u osób najbardziej otyłych z BMI>35 – 18,18%, ale była to najmniej liczna grupa (22 pacjentki). Różnica pomiędzy grupami okazała się znamienna statystycznie przy p=0,05. W pozostałych grupach obserwowano wyższą częstość złamań: dla Grupy A – 22,73%, B – 21,51%, C – 22,88%.

Dyskusja. Z opisanych dotychczas danych wynika, że czynnikiem ryzyka złamania jest niska masa ciała. Dostępne dane sugerują również, że nadwaga i otyłość mogą być czynnikiem protekcyjnym. Z naszej pracy wynika, że otyłość może chronić przed złamaniem osteoporotycznym.

ADAM BUCKI, MARCIN KOŁACZKOWSKI, MACIEJ PAWŁOWSKI

ANALIZA BUDOWY RECEPTORÓW DOPAMINOWYCH D1 I D2 ORAZ CECHY STRUKTURALNE ICH LIGANDÓW WARUNKUJĄCE AKTYWNOŚĆ W CHOROBACH OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Antagonizm wobec receptorów dopaminowych typu D2 jest najlepiej poznanym mechanizmem działania leków antypsychotycznych, warunkującym ich aktywność w zakresie znoszenia objawów wytwórczych schizofrenii. Z kolei agonizm wobec receptorów typu D1 postulowany jest jako jeden z potencjalnych mechanizmów przeciwdziałania zaburzeniom funkcji poznawczych w schizofrenii i innych chorobach ośrodkowego układu nerwowego, które nie są wystarczająco kontrolowane lekami dostępnymi obecnie (1, 2). Racjonalne projektowanie cząsteczek wykazujących jednocześnie oba kierunki aktywności jest trudne, gdyż mimo coraz lepszej charakterystyki ligandów (3) wiedza na temat miejsc wiążących omawianych receptorów jest ograniczona.

Przy pomocy metod modelowania cząsteczkowego zbudowano modele homologiczne receptorów dopaminowych D1 i D2, umożliwiające szczegółowe porównanie miejsc wiążących obu receptorów oraz zidentyfikowanie aminokwasów warunkujących wiązanie ligandów. Na tej podstawie scharakteryzowano wymagania strukturalne stawiane cząsteczkom aktywnym, decydujące o preferencyjności receptorowej i pożądanej aktywności wewnętrznej. Opisano oddziaływania w miejscach wiążących receptorów, na przykładach należących do różnych grup chemicznych leków działających w rejonie ośrodkowego układu nerwowego.

Bibliografia:

1. Newman-Tancredi A., Kleven M.S., *Comparative pharmacology of antipsychotics possessing combined dopamine D2 and serotonin 5-HT1A receptor properties*, „Psychopharmacology" 2011, 216(4), s. 451–473.
2. Goldman-Rakic P.S., Castner S.A., Svensson T.H., Siever L.J., Williams G.V., *Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction*, „Psychopharmacology" 2004, 174(1), s. 3–16.
3. Malo M., Brive L., Luthman K., Svensson P., *Selective pharmacophore models of dopamine D(1) and D(2) full agonists based on extended pharmacophore features*, „ChemMedChem" 2010, 1, 5(2), s. 232–246.

DOROTA BURAKOWSKA, PAULINA KOCZURKIEWICZ, ZBIGNIEW JANECZKO, IRMA PODOLAK

IZOLACJA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA SAPONOZYDU TRITERPENOWEGO CBH1 OTRZYMANEGO Z KORZENI KOMOSY STRZAŁKOWATEJ (CHENOPODIUM BONUS – HENRICUS L. (PLAKAT)

Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Komosa strzałkowata, zwana również szparagiem ubogich czy dobrym Henrykiem, należy do rodzaju Chenopodium. Stanowiska roślin z tego rodzaju znaleźć można w całej Europie, a także w Azji i Ameryce. W Polsce występuje ok. 30 gatunków Chenopodium, w tym zarówno gatunki rodzime, jak i efemerofity. Wiele z nich posiada właściwości lecznicze i odżywcze, jednakże obecnie nie są one tak szeroko wykorzystywane w lecznictwie jak dawniej. Badania wykazały, że za ich właściwości lecznicze odpowiadają głównie metabolity drugiego rzędu, tj. flawonoidy, terpeny, saponiny, sterole, alkaloidy, witaminy.

Komosa strzałkowata pochodzi ze środkowej i południowej Europy. Roślina ta posiada właściwości zmiękczające, oczyszczające i przyspieszające gojenie ran. Stosuje się ją również ze względu na jej właściwości przeczyszczające. W medycynie ludowej stosowana była w artretyzmie. Komosa strzałkowata charakteryzuję się dużą wartością odżywczą, co jest spowodowane wysoką zawartością białka i żelaza. Badania jakościowe potwierdziły obecność następujących substancji czynnych: polifenoli – pochodne kwasu kawowego, flawonoidów, garbników, saponin triterpenowych, karotenoidów, ecdysteroidów oraz minerałów.

Celem pracy była izolacja saponozydu CBH1 z korzeni Chenopodium bonus – Henricus L. oraz określenie jego struktury i aktywności biologicznej. Surowiec, czyli podziemne części rośliny, został zebrany w Tatrzańskim Parku Narodowym. Następnie sporządzono stabilizowane wyciągi metanolowe, zagęszczono je i poddano wielokrotnej chromatografii kolumnowej. Uzyskane frakcje bogate w saponinę CBH1 zostały poddane chromatografii preparatywnej (pTLC). W celu ustalenia struktury CBH1 poddano analizom spektroskopowym (1D i 2D-NMR).

Wstępnie określono aktywność biologiczną wyizolowanego saponozydu CBH1. Badano wpływ CBH1 na ruchliwość i proliferację ludzkich komórek raka prostaty DU-145. W testach mikrobiologicznych CBH1 nie wykazał aktywności przeciwbakteryjnej ani przeciwgrzybiczej.

KATARZYNA BUTRYN

„WITAJCIE W RZADKIM ŚWIECIE”. CZYM JEST KATEGORIA CHORÓB RZADKICH DLA SOCJOLOGA

Instytut Europeistyki, Uniwersytet Jagielloński

Kategoria chorób rzadkich (*rare diseases*) stanowi relatywnie nową grupę chorób. W Stanach Zjednoczonych pojawiła się dopiero w latach 60., w Europie – 80. XX w. Jako kryterium uznania za chorobę rzadką przyjmuje się tzw. wskaźnik zachorowalności na poziomie 1 na 2000 mieszkańców (próg przyjęty w Unii Europejskiej). W chwili obecnej szacuje się, że istnieje ok. 7 do 8 tys. chorób rzadkich, na które w Unii Europejskiej cierpi od 27 do 36 mln obywateli.

Termin „choroby rzadkie” staje się interesującym i ważnym tematem dla socjologii medycyny, zdrowia i choroby z kilku powodów. Po pierwsze, pokazuje, że kategorie w obszarze zdrowia i choroby są społecznie konstruowane. W proces definiowania chorób mogą być zaangażowani różni aktorzy społeczni, którzy renegocjują pomiędzy sobą treści definicji. W analizowanym przypadku rzadkich chorób można wskazać czterech głównych aktorów: administrację państwową, przemysł farmaceutyczny, pacjentów/chorych oraz lekarzy. Po drugie, pojęcie chorób rzadkich wskazuje na istotny trend w ramach obowiązującego dyskursu medycznego. Zmiana polega na traktowaniu genetycznych przyczyn chorób w sposób coraz bardziej uprzywilejowany, kosztem pozostałych przyczyn (kulturowych, środowiskowych, psychologicznych itd.). Wreszcie przykład rzadkich chorób wskazuje na istotny związek pomiędzy rozwojem nowych technologii medycznych a przekształceniami w obrębie wiedzy medycznej, w konsekwencji – w sposobach myślenia o chorobach.

MONIKA CEMPA

CZĘSTOŚĆ PRZENOSZENIA KRĘTKÓW BORRELIA PRZEZ KLESZCZE NA TERENIE OJCOWSKIEGO PARKU NARODOWEGO

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

Wstęp: Temat boreliozy jest stosunkowo młody oraz kontrowersyjny w aspekcie stale wzrastających wskaźników danych epidemiologicznych, dyskusyjnych metod leczenia tej jednostki chorobowej czy niejasnego wpływu boreliozy na etiologię chorób pozornie całkowicie odrębnych. Małopolska jest trzecim województwem pod względem częstości występowania boreliozy wśród ludzi w Polsce. Jednym z najbardziej reprezentatywnych terenów służących do przeprowadzenia zaplanowanego badania jest obszar Ojcowskiego Parku Narodowego, gdzie hipotetycznie istnieje najwyższe ryzyko zakażenia chorobami odkleszczowymi z uwagi na względny brak ludzkiej ingerencji w ekosystem.

Cel pracy: Przedstawienie częstości przenoszenia krętków Borrelia przez kleszcze na terenie OPN, wykazanie skali zjawiska w porównaniu do poprzednich badań prowadzonych na tym obszarze, co pozwoli na uzyskanie informacji o jego tendencji wzrostowej lub spadkowej, oraz zbadanie zależności pomiędzy częstością występowania kleszczy przenoszących boreliozę a częstością występowania boreliozy wśród ankietowanych.

Materiał i metody: Wykorzystane narzędzia badawcze to test immunologiczny BoTick oraz arkusz ankiety, który pozwoli na zebranie informacji od mieszkańców i pracowników OPN na temat chorób odkleszczowych, będący doskonałym uzupełnieniem badania. Test BoTick w wygodny sposób będzie mógł zostać wykorzystany w warunkach naturalnego bytowania kleszczy, wykrywając krętki Borrelia bezpośrednio u kleszczy.

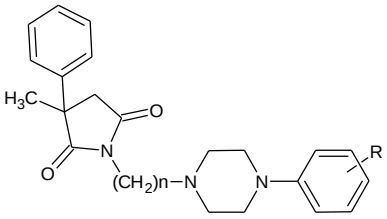
Wyniki i wnioski: Według przeprowadzanego sondażu diagnostycznego wśród 62 mieszkańców i pracowników tego terenu, na obecną chwilę nasuwają się pierwsze hipotezy sugerujące wzrost w ostatnich 4 latach liczebności kleszczy oraz wzrost liczby ukąszeń przez kleszcze (doświadczyło tego blisko 95% osób biorących udział w badaniu). Obecny etap badań to kontynuacja badań ankietowych z jednoczesną ich analizą oraz rozpoczęcie badań odczynnikowych (maj 2012).

IWONA CHLEBEK, JOLANTA OBNISKA

AKTYWNOŚĆ PRZECIWDRGAWKOWA NOWYCH POCHODNYCH 3-FENYLO-3-METYLO PIROLIDYNO-2,5-DIONU

Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Padaczka jest jednym z częściej występujących schorzeń OUN, dotyka około 1% populacji. Obecnie dostępne leki przeciwpadaczkowe pozwalają opanować objawy padaczki jedynie u 70–80% leczonych pacjentów. Ponadto ich stosowanie wywołuje liczne działania niepożądane, jak ataksję, hepatotoksyczność, anemię megaloblastyczną, senność czy teratogenność. W związku z tym w dalszym ciągu poszukuje się nowych leków o większej skuteczności przy równoczesnym ograniczeniu działań niepożądanych [1-3].
W wyniku prowadzonej syntezy otrzymano serię pochodnych N-[(4-fenylpiperazin-1-yl)alkilo]-3-metylo-3-fenylo pirolidyno-2,5-dionu, których struktury przedstawiono poniżej.



n = 1, 2, 3
R = H, 2-F, 4-F, 3,4-Cl, 2-Cl, 3-Cl, 4-Cl, 3-CF_3, 2-OCH_3, 3-OCH_3, 2-CH_3, 3-CH_3

Wszystkie uzyskane związki zostały przekazane do wstępnych badań farmakologicznych w kierunku ich aktywności przeciwdrgawkowej w ramach programu poszukiwania nowych leków przeciwpadaczkowych (Antiepileptic Drug Development (ADD) Program) w Narodowym Instytucie Zdrowia w Rockville, USA [4-5]. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że wśród badanych pochodnych szereg związków charakteryzuje się znaczną aktywnością przeciwdrgawkową, a wyznaczone wartości ED_{50} są porównywalne do znanych leków przeciwpadaczkowych.

Badania finansowane w ramach grantu MNiSW nr K/PBW/000491.

Bibliografia:

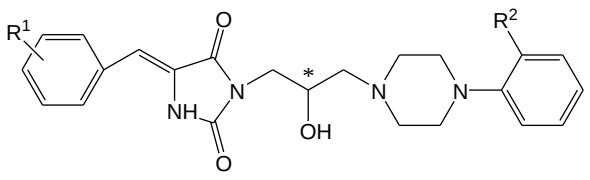
1. Loscher W., Schmidt D., „Epilepsy Research” 2002, 50, s. 3–16.
2. Brodie M.J., „Epilepsy Research” 2001, 45, s. 3–6.
3. Unverferth K., Engel J., Hofgen N., Rostock A., Gunther R., Lankau H.J., Menzer M., Rolfs A., Liebscher J., Muller B., Hofmann H.J., „Journal of Medicinal Chemistry” 1998, 41, s. 63–73.
4. Kupfenberg H.J., „Epilepsia” 2001, 42 (suppl. 4), s. 7–12.
5. Kupfenberg H.J., „Epilepsia” 1989, 30 (suppl.), s. 51–56.

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

WPŁYW PODSTAWNIKÓW METOKSYLOWYCH W GRUPIE ARYLIDENOWYCH POCHODNYCH FENYLOPIPERAZYNY NA POWINOWACTWO DO RECEPTORÓW ALFA1-ADRENERGICZNYCH

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

Na przełomie ostatnich lat receptory alfa$_1$-adrenergiczne(α_1-AR) stały się obiektem intensywnych badań ze względu na potencjalną rolę w procesie powstawania arytmii [1]. Wspomniane receptory należą do siedmiohelikalnych, transmembranowych receptorów sprzężonych z białkiem G. Badania nad receptorami α_1-AR pokazały, iż wiele związków wykazujących powinowactwo do tych receptorów zawiera fragment arylopiperazynowy. Podczas początkowych badań zsyntetyzowano kilka N3-fenylopiperazynowych pochodnych difenylohydantoiny [2, 3]. Związki te wykazały powinowactwo do tych receptorów (Ki) w stężeniach w zakresie nanomolarnym. W kolejnych badaniach powstały nowe N3--fenylopiperazynowe pochodne 5-arylidenohydantoiny. Powinowactwo do receptorów α_1-AR dla tej grupy połączeń było wysokie. Wybrano więc najbardziej aktywną strukturę (rysunek) jako strukturę do dalszych modyfikacji. Obecne badania polegały na projektowaniu i syntezie nowych pochodnych przez wprowadzenie w położeniu *orto* fenylopiperazyny podstawników alkoksylowych oraz jednej, dwóch lub trzech grup metoksylowych we fragmencie arylidenowym. Badano również wpływ grupy hydroksylowej w łańcuchu węglowym łączącym te dwa obszary na aktywność biologiczną.



R^1: 3,4-diOCH_3
R^2: OC_2H_5

Nowe związki otrzymano w wyniku czteroetapowej syntezy: (1) kondensacja Knoevenagela, (2) reakcja Mitsunobu, (3) stapianie pod wpływem promieniowania mikrofalowego, (4) przeprowadzenie otrzymanych połączeń w chlorowodorki. Otrzymane połączenia zostały przebadane w kierunku powinowactwa do receptorów α_1-AR z użyciem [^{3}H]-prazosyny jako selektywnego radioliganda. Wszystkie związki wykazywały dobre powinowactwo do receptorów α_1-AR (Ki=11,9 – 187 nM), jednak dla połączeń z łańcuchem propylowym było ono znacznie lepsze (Ki=11,9 – 40,2 nM). Badania zależności struktura–aktywność uwidoczniły korzystny wpływ na aktywność podstawników alkoksylowych zarówno w obrębie arylidenowym, jak i fenylopiperazynowym. Badania były częściowo finansowane z grantu: K/ZDS/0001915.

Bibliografia:

1. Woodcock E.A., „Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology” 2007, 34, 884.
2. Dyląg T., Zygmunt M., Maciąg D., Handzlik J., Bednarski M., Filipek B., Kieć-Kononowicz K., „European Journal of Medicinal Chemistry” 2004, 39, 1013.
3. Handzlik J., Maciąg D., Kubacka M., Mogilski S., Filipek B., Kieć-Kononowicz K., „Bioorganic & Medicinal Chemistry”, 2008, 16, 5982.

IWONA DOROŻYŃSKA, MONIKA MAJEWSKA-SZCZEPANIK, ANNA STRZĘPA, MARIAN SZCZEPANIK

WPŁYW CZĘŚCIOWEJ ELIMINACJI NATURALNEJ FLORY JELITOWEJ NA PRODUKCJĘ ANTYGENOWO SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ IGE I IGG2A W MODELU ATOPOWEGO ZAPALENIA SKÓRY U MYSZY

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

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest schorzeniem skóry, u podstaw którego leży reakcja nadwrażliwości typu I. Modelem zwierzęcym imitującym AZS jest atopowe zapalenie skóry (AD) u myszy, które można wywołać poprzez naskórną (EC) immunizację białkiem jaja kurzego – owalbuminą (OVA). W przedstawionych badaniach podjęto próbę oceny wpływu częściowej eliminacji naturalnej flory jelitowej na przebieg AD u myszy. Atopowe zapalenie skóry wywoływano u myszy BALB/c poprzez EC aplikację OVA. Częściowej eliminacji naturalnej flory jelitowej dokonano poprzez doustne podanie antybiotyku w wodzie do picia przez 2 tygodnie przed EC immunizacją OVA. Podawanie antybiotyku kontynuowano przez pierwszy tydzień immunizacji OVA. Immunizacja OVA polegała na dwutygodniowym podaniu OVA w opatrunku z gazy (*patch method*) na uprzednio ogoloną skórę grzbietu. Następnie reakcję wywoływano po tygodniowej przerwie poprzez EC podanie OVA w opatrunku. W kontroli pozytywnej myszy otrzymywały wodę bez antybiotyku przez cały okres trwania eksperymentu. Dodatkowo do doświadczenia dołączono kontrolę myszy nieimmunizowanych, które były pojone wodą z antybiotykiem lub samą wodą. Eliminację flory bakteryjnej oceniano poprzez określenie ilości kolonii bakteryjnych (*colony forming unit*; CFU), wzrastających w warunkach tlenowych i beztlenowych wyizolowanych z treści jelitowej. Poziom przeciwciał anty-OVA IgE I IgG2A oznaczono w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną (ELISA).

Niniejsze badania wykazały, że trzytygodniowe pojenie myszy antybiotykiem w wodnym roztworze znacząco zmniejsza ilość CFU zarówno w obrębie bakterii beztlenowych, jak i tlenowych w odniesieniu do grupy kontrolnej. Ponadto stwierdzono, że częściowa eliminacja flory jelitowej zmniejsza poziom przeciwciał OVA-swoistych klasy IgE i IgG2A w surowicy. Otrzymane wyniki oznaczenia poziomu przeciwciał OVA-swoistych klasy IgG2A są znamienne statystyczne.

ANNA DYMEK, ANA ARMADA, ANA MARTINS, JADWIGA HANDZLIK, MIGUEL VIVEIROS, GABRIELLA SPENGLER, JOSEPH MOLNAR, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ, LEONARD AMARAL

WPŁYW NOWYCH POCHODNYCH HYDANTOINY NA BIAŁKOWE POMPY WYRZUTU LEKÓW

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

Grupa Mykobakteriologii, Zespół Mikrobiologii Medycznej, Institut Higieny i Medycyny Tropikalnej, Universidade Nova de Lisboa, Lizbona, Portugalia

Instytut Farmakognozji, Wydział Farmacji, Uniwersytet w Szeged, Szeged, Węgry

COST Action BM0701 (ATENS) Komisji Europejskiej, Bruksela, Belgia

Instytut Mikrobiologii Medycznej i Immunobiologii, Uniwersytet w Szeged, Szeged, Węgry

Pompy wyrzutu leków są odpowiedzialne za usuwanie toksycznych substancji z komórki. Mechanizm ten stanowi jedną z przyczyn oporności na antybiotyki i niepowodzenia leczenia nowotworów [1]. Celem badań była ocena serii pochodnych hydantoiny pod kątem ich aktywności w stosunku do szczepu Staphylococcus aureus ATTC 25923 i klinicznego szczepu Staphylococcus aureus MRSA HPV-107 z nadekspresją pomp wyrzutu leków oraz mysich komórek chłoniaka z nadekspresją ludzkiej pompy wyrzutu leków ABCB1. Badane związki należały do czterech grup. Były to: arylidenohydantoiny (N-niepodstawione), arylidenohydantoiny (pochodne fenylopiperazynowe), dimetylohydantoiny (pochodne fenylopiperazynowe) oraz inne pochodne hydantoiny. Aktywność związków oceniano metodą fluorescencyjną z zastosowaniem bromku etydyny (BE). Związki aktywne w stosunku do szczepu S. aureus przebadano również pod kątem ich zdolności do zmniejszenia oporności tego szczepu na oksacylinę. W przypadku komórek bakteryjnych większość hydantoin hamowała pompy wyrzutu leków szczepu S. aureus ATCC 25923. Związki te były natomiast znacznie mniej aktywne w stosunku do szczepu S. aureus HPV-107. W tym przypadku tylko jeden związek (fenylopiperazynowa pochodna dimetylohydantoiny zawierająca dwa atomy fluoru (PI8a)) powodował obniżenie minimalnego stężenia hamującego oksacyliny [2]. W przypadku komórek nowotworowych największą aktywność wykazały pochodne arylidenohydantoiny, zwłaszcza pochodne fenylopiperazynowe. Wśród pochodnych dimetylohydantoiny dwa najaktywniejsze związki to związek PI2a, zawierający grupę metoksylową w położeniu orto pierścienia benzenowego, oraz związek PI7a, zawierający 3 atomy fluoru w pierścieniu benzenowym i podstawniku benzylowym [3].

Badania wykonano w ramach programu COST-STSM-ECOST-STSM-BM0701-061011-011409, były one częściowo finansowane z programu K/ZDS/001915.

Bibliografia:

1. L. Amaral et al., *Review. Comparison of multidrug resistant efflux pumps of cancer and bacterial cells with respect to the same inhibitory agents*, „In Vivo" 2007, No. 21(2), s. 237–244.
2. A. Dymek et al., *The activity of 16 new hydantoin compounds on the intrinsic and overexpressed efflux pump system of Staphylococcus aureus*, „In Vivo" 2012, No. 26(2), s. 223–229.
3. A. Martins et al., *Activity of fourteen new hydantoin compounds on the human ABCB1 efflux pump*, „In Vivo" 2012, No. 26(2), s. 293–297.

HANNA DZIEDZIC-OLEKSY, GRZEGORZ KOPEĆ, WOJCIECH PŁAZAK,
JAKUB STĘPNIEWSKI, JACEK MUSIAŁ, PIOTR PODOLEC

PRĘDKOŚĆ ROZCHODZENIA SIĘ FALI TĘTNA U PACJENTÓW Z CHOROBĄ WIEŃCOWĄ, SERCOWYM ZESPOŁEM X I TOCZNIEM RUMIENIOWATYM UKŁADOWYM

Klinika Chorób Serca i Naczyń, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Katedra Chorób Wewnętrznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wzrost prędkości fali tętna (PWV) jest czynnikiem ryzyka miażdżycy i jej powikłań. Toczeń układowy (SLE) jest chorobą zapalną, w której rokowanie zależy głównie od progresji miażdżycy.

Cel: Ocena PWV u chorych z chorobą wieńcową (CAD), sercowym zespołem X(CSX) i SLE oraz wpływu atorwastatyny na PWV u chorych z SLE.

Metody: 3 grupy: I – 35 z CAD (16K, 19M; wiek 60,4), II – 37 z CSX (23K i 14M; wiek 56,5) i III – 29 z SLE (25K i 4M; wiek 37,4). Dodatkowo pacjentów III grupy zrandomizowano do grupy atorwastatyny (40 mg/d, n=14) lub placebo (n=15). PWV oceniano przy użyciu aparatu SphygmoCor. U pacjentów z SLE PWV oceniano wyjściowo oraz po roku leczenia.

Wyniki: PWV u chorych z CAD była wyższa (10,65 ±2,1 m/s) w porównaniu do grupy z CSX (9,2 ±1,4 m/s) i grupy z SLE (8,91 ±2,9 m/s). PWV było podobne w CSX i SLE. W rocznym okresie obserwacji stwierdzono tendencję do zmniejszenia PWV w grupie chorych leczonych atorwastatyną (9,32 ±2,76 m/s, po roku 8,28 ±2,64 m/s; p=0,12), bez zmian w grupie placebo (8,61 ±1,49 m/s, po roku 8,48 ±1,52 m/s; p=0,75). Stopień zmniejszenia PWV w grupie leczonych atorwastatyną zależny był od jego wyjściowej wartości (p=0,0001) – u chorych z wyjściowymi wartościami PWV≥10 m/s obserwowano istotne zmniejszenie prędkości (wyjściowo 12,91 ±2,1 m/s, po roku 8,85 ±1,5 m/s; p=0,04).

Wnioski: Pacjenci z CAD mają wyższe wartości PWV niż pacjenci z CSX i SLE. U pacjentów z SLE pomimo młodego wieku i stabilnego stanu klinicznego wartości PWV są porównywalne z pacjentami z CSX. Leczenie atorwastatyną prowadzi do zmniejszenia PWV u chorych z wyjściowo wysokimi wartościami PWV.

MAGDALENA FILIP, YANN HERAULT

ROLA RPGRIP1L W REGULACJI EKSPRESJI GENÓW Z RODZINY HOX PODCZAS ROZWOJU EMBRIONALNEGO

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

Translational Medecine & Neurogenetics, IGBMC, Francja

Podczas rozwoju embrionalnego zachodzi wiele ważnych procesów, które uzupełniając się nawzajem, odgrywają decydującą rolę w kształtowaniu się nowego organizmu. Najbardziej zaawansowanym i krytycznym etapem wydaje się rozwój głowy. Mimo intensywnych badań nasza wiedza na temat genów biorących udział w rozwoju embrionalnym oraz dróg, na których działają, jest wciąż niepełna. Rozwojem embrionalnym kierują geny homeotyczne oraz morfogeny. Do grupy genów homeotycznych należą geny zwane Hox, które są odpowiedzialne za kształtowanie się przednio-tylnej osi, jak również tożsamości poszczególnych segmentów podczas wczesnego rozwoju embrionalnego. Regulują one także liczbę i ułożenie poszczególnych części ciała. W rozwijającym się embrionie tworzą one dwie grupy, hox-negatywną w części głowowej oraz hox--pozytywną w pozostałej części ciała. Ekspresja tych genów jest kontrolowana przez grupy morfogenów takich jak WNT czy HH.

Do badań wykorzystano myszy z mutacją w genie Rpgrip1l, który koduje białko będące składnikiem ciałka podstawowego rzęsek pierwotnych. W pierwszym etapie doświadczenia postanowiliśmy sprawdzić, czy ekspresja genu Hoxa2 jest zmieniona u myszy recesywnych pod kątem mutacji Rpgrip1l. Kolejnym krokiem było sprawdzenie wpływu mutacji na ekspresję Hoxd13 biorącego udział w rozwoju kończyn, jak również Fgf8, Wnt1, Shh oraz Otx2, Gbx2, Pax6, En2 będących kolejno morfogenami lub czynnikami transkrypcyjnymi odgrywającymi rolę w rozwoju mózgu.

Embriony homozygotyczne pod względem mutacji wykazywały ektopową ekspresję Hoxa2 w tyłomózgowiu wtórnym, czyli w grupie komórek, które normalnie są hox-negatywne. Można było również zaobserwować anterioryzację ekspresji Hoxd13 w rozwijających się kończynach oraz zmiany w ekspresji pozostałych badanych genów. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że Rpgrip1l odgrywa fundamentalną rolę w regulowaniu wszystkich wskazanych genów.

JOANNA FILIPOWSKA, TADEUSZ NIEDŹWIEDZKI, ANNA M. OSYCZKA

PROCESY KOŚCIOTWORZENIA MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH SZPIKU KOSTNEGO CZŁOWIEKA PODCZAS STYMULACJI KLINICZNIE WYKORZYSTYWANYMI CZYNNIKAMI WZROSTOWYMI RHBMP-2

Katedra Ortopedii i Traumatologii Narządu Ruchu, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zakład Biologii i Obrazowania Komórki, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

Obecnie proponuje się szereg eksperymentalnych terapii ubytków kostnych z użyciem mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC). W terapiach tych wykorzystuje się czynniki wzrostowe BMP, obecnie stosowane klinicznie i/lub komercyjne, albo innowacyjne rusztowania 3D. Celem niniejszej pracy było porównanie proliferacji, żywotności i aktywności fosfatazy zasadowej (ALP) ludzkich MSC szpiku kostnego pod wpływem BMP-2 lub deksametazonu, tradycyjnie stosowanego do stymulacji kościotworzenia *in vitro*.

W badaniach wykorzystano komercyjnie dostępne rusztowania 3D z polistyrenu i poliuretanu oraz eksperymentalne bioaktywne rusztowania kompozytowe. Proliferację komórek analizowano w dniu 1., 4. i 7., a żywotność komórek i aktywność fosfatazy zasadowej w dniu 7. hodowli. Liczba komórek malała w trakcie hodowli na poliuretanie i rusztowaniach bioaktywnych, natomiast wzrastała na polistyrenie. Stymulacja komórek askorbinianem i deksametazonem podnosiła żywotność komórek w dniu 7. na wszystkich badanych materiałach. Aktywność ALP na wszystkich rusztowaniach była najwyższa w obecności deksametazonu, zaś stosunkowo niska w obecności czynników wzrostowych BMP-2. Badania te wskazują, że proliferacja ludzkich MSC zmienia się wraz z warunkami stymulacji i rodzajem rusztowania 3D zastosowanego do hodowli przestrzennej. Deksametazon jest czynnikiem pobudzającym proliferację i różnicowanie komórek. Komórki najlepiej odpowiadają na BMP-2 na bioaktywnych rusztowaniach kompozytowych. Dobierając odpowiednie rusztowanie i warunki stymulacji komórek, można poprawić procesy kościotworzenia ludzkich MSC w warunkach *in vitro*.

Podziękowania: Dziękujemy prof. dr hab. Marii Borczuch-Łączce, dr inż. Katarzynie Cholewie-Kowalskiej oraz mgr inż. Justynie Kokoszce za przygotowanie bioaktywnych rusztowań kompozytowych oraz panu Andrzejowi Cwetschowi za pomoc w wykonaniu doświadczeń biologicznych.

Projekt jest finansowany z grantu badawczego A.M. Osyczki NCN B/NZ4/00664.

ANNA FURMAN, ILONA PALKA, MATEUSZ GOLONKA, KAROLINA GOLIŃSKA-
-GRZYBAŁA, RADOSŁAW RYCHLAK, PAWEŁ ROSTOFF, JADWIGA NESSLER

OCENA ZWIĄZKU MIĘDZY OTYŁOŚCIĄ BRZUSZNĄ A INDEKSEM MASY LEWEJ KOMORY U PACJENTÓW Z ZESPOŁEM METABOLICZNYM HOSPITALIZOWANYCH Z POWODU OSTREGO ZESPOŁU WIEŃCOWEGO

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

Zespół metaboliczny (ZM), obejmujący czynniki ryzyka ostrych zespołów wieńcowych (OZW), wiąże się ze zwiększonym wskaźnikiem masy lewej komory (LVMI). Zgodnie z najnowszymi wytycznymi IDF 2009 rozpoznania ZM zwiększony obwód talii (dla Europejczyków ≥94 cm, dla Europejek ≥80 cm) jako wskaźnik otyłości brzusznej (AO) nie jest już wymaganą składową ZM. Niewiele wiadomo na temat związku między otyłością brzuszną a LVMI u pacjentów z ZM hospitalizowanych z powodu OZW.

Cel: Ocena związku między AO a LVMI u pacjentów ZM hospitalizowanych z powodu OZW.

Metody: Badaniem objęto 443 pacjentów z OZW, którzy zostali podzieleni na 3 grupy: grupa A – 287 pacjentów z ZM i AO (185 mężczyzn, średni wiek 63,4 ±10,2 roku), grupa B – 22 pacjentów z ZM bez AO (19 mężczyzn, średni wiek 62,6 ±12,7 roku), grupa C – 134 pacjentów bez ZM (101 mężczyzn, średni wiek 61,5 ±12,9 roku).

Wyniki: Wykazano, że grupy A i C różniły się pod względem LVMI (68,7 ±26,1 v. 58,3 ±16,6 g/m2, p=0,027). Jedynie w grupie C stwierdzono związek między obwodem talii a LVMI (r=0,39, p<0,05), masą ciała a LVMI (r=0,29, p<0,05), BMI a LVMI (r=0,39, p<0,05). Ponadto w całej badanej populacji wykazano istotną korelację między liczbą spełnionych kryteriów ZM a LVMI (r=0,28, p=0,0012). Wszystkie wyniki standaryzowano na stopień nadciśnienia tętniczego.

Wnioski: [1] Stwierdzono znaczące różnice w LVMI między pacjentami ZM i AO a pacjentami bez ZM. [2] U pacjentów bez ZM wykazano istotną zależność między LVMI a obwodem talii, masą ciała oraz BMI. [3] W całej badanej populacji stwierdzono dodatnią korelację między LVMI a liczbą spełnionych kryteriów ZM.

ANDRZEJ GALBARCZYK, GRAŻYNA JASIEŃSKA

ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY POLIMORFIZMEM GENU CYP19 A WIEKIEM MENARCHE

Zakład Epidemiologii i Badań Populacyjnych, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wiek pierwszej miesiączki jest czynnikiem modulującym ryzyko wielu chorób. Wiek menarche cechuje się stosunkowo dużą odziedziczalnością (53–74%). Bezpośrednio zależy od regulacji hormonalnej osi podwzgórze-przysadka-jajnik, zatem gen CYP19, kodujący aromatazę zaangażowaną w biosyntezę estrogenów, uznawany jest za gen, którego polimorfizm może wpływać na wiek menarche. Wcześniejsze badania wykazały związek występowania alleli z dłuższymi sekwencjami tetranukleotydowymi w obrębie intronu 4 z większą aktywnością aromatazy.

U 118 zdrowych kobiet pomiędzy 24. a 36. rokiem życia przeprowadzono analizy polimorfizmu genu CYP19, polegającego na występowaniu od 7- do 12--krotnych powtórzeń [TTTA]n w obrębie intronu 4. W związku z dużą liczbą alleli w analizach wykorzystano podział na allele posiadające dziewięć lub więcej sekwencji powtórzeń odcinka [TTTA]n oraz allele z krótszą sekwencją.

Grupa kobiet posiadających dwa allele z krótszą sekwencją powtórzeń tetranukleotydowych charakteryzowała się wcześniejszym wystąpieniem pierwszej miesiączki (średnia 13 lat, SD=1,15) w porównaniu do grupy kobiet posiadających co najmniej jeden allel zawierający dłuższą sekwencję (średnia 13,5 roku, SD=1,20) (t=-2,10; df=114; p=0,038).

Dotychczasowe badania wykazały zależność pomiędzy allelami zawierającymi krótsze sekwencje powtórzeń tetranukleotydowych i zmniejszonym ryzykiem nowotworu sutka, natomiast prezentowane wyniki wykazały, iż allele te związane były z wcześniejszym wiekiem menarche, czynnikiem zwiększającym ryzyko tego nowotworu. Podwyższony poziom testosteronu uważany jest za biomarker początku procesu gonadarche. Androgeny odgrywają rolę w odblokowaniu generatora impulsów gonadoliberyny, uruchomieniu prawidłowego funkcjonowania osi podwzgórze-przysadka-gonady i indukcji gonadarche. Mniejsza aktywność aromatazy, zapewniająca wyższe stężenia androgenów, może zatem wpływać korzystnie na wcześniejsze wystąpienie menarche. Jednocześnie posiadanie mniej aktywnych form aromatazy, syntetyzujących mniejsze ilości estrogenów, może przyczyniać się do zmniejszonego ryzyka zachorowania na raka sutka.

ANNA GLINKA

MOKSIFLOKSACYNA – OCENA POPULACYJNA W WARUNKACH *IN SILICO* ZMIAN PARAMETRÓW EKG

Pracownia Farmakoepidemiologii i Farmakoekonomiki, Zakład Farmacji Społecznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Jednym z odnotowanych działań niepożądanych moksifloksacyny jest wydłużenie odstępu QT. Badanie ma na celu ocenę wpływu leku na wartość QTc u zdrowych ochotników w warunkach *in silico*.

Wybrano 4 publikacje prezentujące wpływ moksifloksacyny na zmianę wartości QTc. Symulacje wykonano, korzystając z komputerowej platformy ToxComp. Symulowano 4 grupy o liczebności odpowiednio 43, 49, 72 i 134, w wieku od 18 do 55 lat. Pozostałe zmienne opisujące fizjologię to stężenie jonów w osoczu oraz rytm serca. Parametrami symulacji były wyniki hamowania prądów jonowych w warunkach *in vitro* (HEK/37oC). Wykorzystane wartości IC50 wynosiły odpowiednio: dla IKr 58,5 i 35,7 mM oraz dla ICa(L) – 168,9 mM. Maksymalne stężenia moksifloksacyny w osoczu, po podaniu 400 mg leku, to 5,729, 6,133, 5,979 i 5,68 mM. Wynikiem symulacji były wartości DQTc, czyli różnice pomiędzy skorygowaną o rytm serca (Fridericia) długością odstępu QT dla kontroli oraz leku, które porównano z wynikami badań klinicznych. Średnia wartość DQTc dla poszczególnych schematów symulacji wynosiła: 4,80; 1,49; 6,37; 3,07; 5,11; 1,82; 7,21; 3.60 ms. Uśrednione DQTc z badań klinicznych to 8 ms (SD=5,67).

Wyniki wskazują, że lek wykazuje potencjał wydłużania odstępu QT, a tym samym możliwość wywoływania zaburzeń elektrofizjologicznych. Prezentowana platforma może więc być wykorzystywana do ekstrapolacji *in vitro – in vivo* wyników badań nowych związków chemicznych jeszcze przed wkroczeniem w fazę badań klinicznych.

Przeprowadzone doświadczenie wskazuje, że platforma ToxComp może być pomocna w ocenie potencjału proarytmicznego nowych substancji leczniczych. System umożliwia ekstrapolację wyników uzyskanych w badaniach *in vitro* na warunki *in vivo* w populacji. Wczesne wykrycie działań niepożądanych umożliwia optymalizację badań klinicznych.

ANNA GONCIARZ

BADANIE WIĄZANIA DEKSAMETAZONU Z ALBUMINĄ WOŁOWĄ METODĄ ELEKTROFOREZY KAPILARNEJ W TRYBIE FRONTALNYM

Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński

Stopień wiązania leku z białkami krwi ma ogromny wpływ na jego farmakodynamikę, farmakokinetykę oraz toksyczność, gdyż, zgodnie z hipotezą wolnego leku, tylko frakcja wolna, niezwiązana z białkami krwi, może przenikać przez błony komórkowe i docierać do miejsca działania, wywierając efekty farmakologiczne lub niepożądane. Albumina jest najważniejszym białkiem surowicy krwi, wiąże przede wszystkim leki kwaśne, w mniejszym stopniu leki o charakterze obojętnym i zasadowym. W badaniu elektroforeza kapilarna w trybie analizy frontalnej została użyta do oceny stopnia wiązania modelowego leku deksametazonu z albuminą wołową. Stężenie wolnego leku zostało wyznaczone na podstawie różnicy wysokości piku plateau uzyskanego dla mieszaniny leku z białkiem i piku plateau dla próbki zawierającej jedynie lek. Zastosowano stałe, fizjologiczne stężenie albuminy oraz wzrastające stężenie leku. Na podstawie równania regresji nieliniowej wyznaczono liczbę klas miejsc wiążących (m), liczbę miejsc wiążących danej klasy (n) oraz stałą wiązania deksametazonu z albuminą wołową. Znając całkowite stężenie leku, można wyznaczyć procent wiązania leku z białkiem. Otrzymane rezultaty są zgodne z dostępnymi w literaturze danymi. Potwierdza to fakt, że analiza frontalna może być stosowana do oceny wiązania leku z białkami krwi na równi z metodami uznanymi za referencyjne, takimi jak dializa równowagowa czy ultrafiltracja. Technika elektroforezy kapilarnej w trybie frontalnym posiada wiele zalet, takich jak niskie zużycie próbki oraz odczynników, krótki czas analizy, łatwość automatyzacji czy wysoka wydajność. Może być stosowana w badaniach przesiewowych substancji będących kandydatami na leki.

AGNIESZKA GRABOWSKA

WOLNE DNA PŁODU WE KRWI CIĘŻARNYCH – ANALIZA ZASTOSOWANIA W DIAGNOSTYCE PRENATALNEJ

Zakład Genetyki Medycznej, Katedra Pediatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

Celem diagnostyki prenatalnej jest zapewnienie niezawodnego, bezpiecznego i szybkiego testu. Niestety rutynowa diagnostyka prenatalna oparta jest głównie na metodach inwazyjnych.

Przez wiele lat łożysko uważane było za barierę pomiędzy matką i dzieckiem. Dziś wiadomo, że w czasie ciąży dochodzi do przepływu komórek oraz wolnych cząsteczek DNA płodu do krwioobiegu matki. Konsekwencją tego transferu jest powstanie mikrochimeryzmu płodowo-matczynego. Badanie mikrochimeryzmu daje nowe możliwości opracowania nieinwazyjnych testów prenatalnych.

Wolne DNA płodu (ang. Cell free fetal DNA – cffDNA) stanowi prawie 5% puli wolnego DNA obecnego w osoczu krwi matki. Jest krótsze od fragmentów matczynego DNA oraz posiada odmienny wzór metylacji, co stanowi podstawę jego identyfikacji. Ilość cffDNA wzrasta wraz z zaawansowaniem ciąży i zanika gwałtownie po porodzie. Jego stężenie w próbce krwi jest stabilne przez 24 godziny od pobrania, co stanowi niewątpliwie dodatkową zaletę diagnostyczną. W wielu patologiach ciąży, między innymi takich jak stan przedrzucawkowy, ograniczenie wzrastania płodu, wielowodzie, wykazano podwyższony poziom płodowego DNA we krwi matki. Niestety wykorzystanie cffDNA posiada pewne ograniczenia. Analizowane mogą być jedynie nieobecne w genomie matki sekwencje DNA płodu, np. chromosom Y. cffDNA wymaga wielu badań i optymalizacji dostępnej metodologii, jednakże stanowi ono nową, atrakcyjną alternatywę dla inwazyjnych testów prenatalnych.

W związku z powyższym celem badania jest próba opracowania protokołu efektywnej izolacji cffDNA z krwi matki oraz ocena możliwości jego wykorzystania w diagnostyce prenatalnej. Metodologia oparta jest na izolacji frakcji wolnych kwasów nukleinowych z krwi kobiet ciężarnych (5 ml krwi) oraz ich analizie molekularnej (m.in. obecność genów na chromosomie Y, ocena długości fragmentów).

RITA GRABOWSKA

OCENA REZERWY JAJNIKOWEJ U PACJENTEK Z PCOS

Katedra Ginekologii i Położnictwa, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Zespół policystycznych jajników (Polycystic Ovary Syndrome, PCOS) został odkryty w 1844 roku przez Chereau. Pomimo licznych badań nad patofizjologią PCOS etiogeneza jest nadal nieznana. Od 2003 roku PCOS rozpoznaje się na postawie kryteriów rotterdamskich. Problem niepłodności wynikającej z PCOS jest problemem złożonym i wymaga przeprowadzenia szeregu badań w celu opracowania dobrze działającej terapii.

Cel pracy: Ocena poziomu IGF-1, AMH, leptyny, LH, FSH, inhibiny alfa, beta u pacjentek z PCOS w trzech fazach cyklu miesiączkowego. Ocena korelacji pomiędzy wybranymi hormonami.

Materiał i metody: Badania były przeprowadzone w dwóch grupach pacjentek w wieku 27 ±5 lat, leczonych w Klinice Ginekologii i Onkologii UJ CM. Pierwszą grupę stanowiły kobiety z PCOS, druga grupa była grupą kontrolną. Liczebność poszczególnych grup wynosiła 40. Materiał tkankowy był pobierany w Klinice Ginekologii, Położnictwa i Onkologii UJ CM. W badaniu wykorzystana została metoda ELISA.

Wyniki: Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, która wykazała istnienie różnic w poziomie IGF-1, LH, FSH pomiędzy badanymi grupami w poszczególnych fazach cyklu. Nie wykazano różnic w poziomie leptyny.

Wnioski: Prowadzone badania wykazały różnice w poziomie rezerwy jajnikowej między kobietami z PCOS a grupą kontrolną.

URSZULA GRUDZIEŃ

STRES OKSYDACYJNY U KOBIET W CIĄŻY POWIKŁANEJ CUKRZYCĄ

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

Wstęp: Stres oksydacyjny to dysproporcja między procesami prooksydacyjnymi, czyli produkcją reaktywnych form tlenu (RFT), a mechanizmami antyoksydacyjnymi. Zaobserwowano, iż hiperglikemia indukuje stres oksydacyjny. W ciąży zauważono wzrost produkcji RFT.

Cel: Porównanie wskaźników stresu oksydacyjnego oraz ostrej fazy w dwóch grupach pacjentek: kobiet z cukrzycą ciążową i cukrzycą przedciążową.

Materiały i metody: Pacjentki rekrutowane były we współpracy z Katedrą i Kliniką Chorób Metabolicznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Grupę kontrolną stanowiły zdrowe ciężarne. Oznaczenia wykonano u 36 kobiet z cukrzycą ciążową (CC), 17 kobiet z cukrzycą typu 1(CT1), 27 zdrowych kobiet (KON) w wieku 18–35 lat. W pobranym materiale wykonano następujące analizy: stężenie CRP w surowicy (met. immunoturbidymetryczna), FRAP w osoczu (Ferric Reducing Ability of Plasma – miara całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza) wg Benzie, aktywność enzymów: reduktazy glutationowej wg Goldberga, peroksydazy glutationowej wg Paglia (w osoczach oraz hemolizatach), stężenie zredukowanego glutationu (w hemolizatach).

Wyniki: [1] w hemolizatach: aktywność reduktazy glutationowej: 26,83U/gHb dla CC, 25,5U/gHb dla KON, p=O,742; aktywność peroksydazy glutationowej: 62,67U/gHb dla CC, 55,36U/gHb KON, p=0,357; stężenie zredukowanego glutationu: 0,70umol/L CC, 0,88umol/L KON, p=0,209; [2] w osoczu wersenianowym: aktywność reduktazy glutationowej: 61,59U/l dla CC, 47,91U/l dla KON, p=0,071; stężenie zredukowanego glutationu: 151,69U/l dla CC, 168,6U/l dla KON, p=0,076; FRAP: 0,792mmol/L dla CC, 0,7135mmol/L dla CT1, 0,694mmol/l dla KON; [3] w surowicy: stężenie CRP 1,895mg/L dla CC, 1,445mg/L dla CT1, 1,78mg/L dla KON.

Wnioski: W badaniach wykazano zmianę parametrów stresu oksydacyjnego oraz wskaźników zapalnych w obu grupach kobiet w porównaniu ze zdrowymi ciężarnymi.

KATARZYNA GRYCHOWSKA, PAWEŁ ZAJDEL, NICOLAS MASURIER, GRZEGORZ SATAŁA, ANDRZEJ J. BOJARSKI, GILLES SUBRA, JEAN MARTINEZ, MACIEJ PAWŁOWSKI

SYNTEZA NA FAZIE STAŁEJ I POWINOWACTWO DO RECEPTORÓW 5-HT1A I 5-HT7 NOWYCH ARYLOPIPERAZYNOWYCH POCHODNYCH 4,5-DIHYDRO-1,2,4-TRIAZYN-6(1H)-ONU

Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zakład Aminokwasów, Peptydów i Białek, Instytut Biocząsteczek Max Mousseron, Le Centre National de la Recherche Scientifique, Uniwersytet Montpellier, Francja

Wieloośrodkowe badania nad rolą receptorów 5-HT7 wskazują na ich zaangażowanie m.in. w kontrolę rytmów okołodobowych, termoregulację, kontrolę procesów uczenia, zapamiętywania oraz nastroju. Związki o cechach antagonistów receptorów 5-HT7 wydają się obiecująca grupą w poszukiwaniu bardziej skutecznych leków przeciwdepresyjnych [1].

Poszukując nowych ligandów receptorów serotoninowych 5-HT7 zaprojektowano serię długołańcuchowych arylopiperazyn podstawionych we fragmencie terminalnym układem 4,5-dihydro-1,2,4-triazyn-6(1H)-onu. Modyfikacje strukturalne w zaplanowanej serii związków polegały na wprowadzeniu podstawników arylowych i cykloalkilowych w układzie triazynonu, różnej długości łącznika alkilenowego i zastosowaniu różnie podstawionych arylopiperazyn.

Syntezę połączeń prowadzano na żywicy polistyrenowej typu Wang. Opracowana metoda polegała na monoalkilacji atomu węgla alfa zakotwiczonej do podłoża stałego Fmoc-blokowanej glicyny, za pomocą α-ω-dihalogenoalkanów, w środowisku zasady fosfazenowej [2]. Uzyskane ω-halogenopochodne poddano reakcji substytucji nukleofilowej odpowiednimi arylopiperazynami i w kolejnym etapie procesowi amidowania z resztami kwasów arylo- i cykloalkilokarboksylowych. Powstałe amidy poddano konwersji do tioamidów za pomocą odczynnika Lawessona. Produkty końcowe uzyskano na drodze jednoetapowego odłączenia od nośnika pochodnych hydrazydowych i wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji do odpowiednich pochodnych o strukturze triazynonu [3]. Celem zapewnienia wysokiej jakości próbek przekazanych do badań radioreceptorowych uzyskane produkty finalne oczyszczono z zastosowaniem techniki preparatywnego LC/MS. W niniejszej pracy zaprezentowano syntezę oraz powinowactwa zaplanowanych związków do receptorów 5-HT1A i 5-HT7.

Bibliografia:

1. Leopoldo M., Lacivita E., Berardi F., Perrone R., Hedlund P.B., „Pharmacology & Therapeutics" 2011, 129, 120.
2. Scott W.L., Zhou Z., Zajdel P., Pawłowski M., O'Donnell M., „Molecules" 2010, 15, 4961.
3. Boeglin D., Cantel S., Martinez J., Fehrentz J.A., „Tetrahedron Letters" 2003, 44, 459.

Badania były częściowo finansowane z grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, Grant N N405 671540.

MONIKA GRZEBYK, MONIKA BRZYCHCZY-WŁOCH, JADWIGA WÓJKOWSKA--MACH, PIOTR B. HECZKO

BADANIE LEKOOPORNOŚCI SZCZEPÓW STAPHYLOCOCCUS HAEMOLYTICUS IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ NOWORODKÓW HOSPITALIZOWANYCH NA ODDZIAŁACH INTENSYWNEJ OPIEKI NEONATOLOGICZNEJ

Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: W ostatnich dekadach wzrasta liczba inwazyjnych zakażeń szpitalnych wywołanych przez gronkowce koagulazo-ujemne (CNS). Szczególnie narażeni są pacjenci dializowani, odżywiani pozajelitowo, posiadający sztuczne zastawki lub wkłucia do naczyń krwionośnych. Noworodki z małą masą urodzeniową ze względu na powyższe czynniki oraz niedojrzałość układu immunologicznego i brak rozwiniętej flory fizjologicznej są szczególnie narażone na tego typu zakażenia. Około 17% noworodków z małą masą urodzeniową rozwija podczas pobytu w szpitalu infekcję o etiologii CNS, wśród których często występuje S. haemolyticus. Celem badań było zbadanie lekooporności szczepów S. haemolyticus izolowanych z inwazyjnych zakażeń noworodków.

Materiały i metody: Izolaty pochodziły od noworodków hospitalizowanych w latach 2009–2010 na dwóch polskich oddziałach intensywnej terapii neonatologicznej. U 38 noworodków zanotowano 40 zakażeń S. haemolyticus. Oznaczono lekooporność szczepów metodą dyfuzyjno-krążkową oraz E-testów. Metodą PCR potwierdzono przynależność gatunkową, zbadano obecność genu odporności na metycylinę (mecA) oraz genów oporności na makrolidy (ermA, ermB, ermC, msrA). Badania zostały sfinansowane z grantu NN401615340.

Wyniki: Oporność na erytromycynę, cefoksytynę oraz gentamycynę wykazano u 100% szczepów, na ofloksacynę u 93%, na klindamycynę u 28%, na amikacynę u 25%, na tigecyklinę u 13% oraz na teikoplaninę u 3%. Nie zaobserwowano oporności na wankomycynę. Oznaczono wartości MIC50 i MIC90 dla wankomycyny (1,5 μg/ml; 2 μg/ml) i teikoplaniny (2 μg/ml; 3 μg/ml). Oporność na makrolidy stwierdzono u wszystkich szczepów. 73% wykazało fenotyp oporności MSB, zaś 28% MLSB typu konstytutywnego.

Wnioski: Zaobserwowano dużą częstość lekooporności u badanych szczepów, co podkreśla konieczność zmniejszenia ilości stosowanych antybiotyków, monitorowania zakażeń szpitalnych oraz prowadzenia dokładnej charakterystyki lekooporności szczepów izolowanych z zakażeń w celu opracowania odpowiednich metod zapobiegania zakażeniom oraz skutecznego leczenia.

AGNIESZKA GUNIA, HENRYK MARONA

STRUKTURA A AKTYWNOŚĆ PRZECIWDRGAWKOWA W GRUPIE POCHODNYCH AMINOALKANOLI

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

Padaczka jest przewlekłym schorzeniem ośrodkowego układu nerwowego, charakteryzującym się występowaniem spontanicznych, nawracających napadów drgawkowych. Szacuje się, że cierpi na nią około 1% populacji ogólnej. Mimo znaczącego i ciągłego postępu farmakoterapii padaczki około 30% pacjentów nie udaje się uwolnić od napadów. Dodatkowo stosowanie leków przeciwpadaczkowych wiąże się z występowaniem wielu często poważnych efektów niepożądanych. Te fakty przemawiają za koniecznością poszukiwania nowych, bardziej skutecznych i bezpieczniejszych leków przeciwpadaczkowych.

W ramach pracy doktorskiej zsyntezowano serię 49 pochodnych aminoalkanoli, które zostały przebadane w kierunku aktywności przeciwdrgawkowej. Badania farmakologiczne zostały wykonane w ramach Programu Rozwojowego Leków Przeciwpadaczkowych (ADD) realizowanego w amerykańskim Narodowym Instytucie Zdrowia (NIH) w Rockville. Związki 1–49 zostały poddane skriningowi w teście maksymalnego elektroszoku (MES) i teście pentetrazolowym (scMet) oraz badaniom neurotoksyczności w teście pręta obrotowego u myszy po podaniu dootrzewnowym. Spośród badanych związków 40 wykazało aktywność w dawce 100 mg/kg m.c., 3 w dawce 300 mg/kg, 6 było nieaktywnych w teście MES (0,5 h; myszy; i.p.). W teście scMet 9 związków wykazało aktywność w dawce 100 mg/kg, 18 w dawce 300 mg/kg, a 22 było nieaktywnych (0,5 h; myszy; i.p.).

Dla najbardziej aktywnych związków zostały wyznaczone wartości ED50 oraz TD50. Ponadto niektóre pochodne wykazały aktywność w innych zwierzęcych modelach drgawek, takich jak test 6-Hz, model drgawek indukowanych pilokarpiną czy też model drgawek rozniecanych u szczurów.

Dysponując wynikami badań farmakologicznych, przeprowadzono także analizę potencjalnego farmakoforu i zidentyfikowano elementy struktury cząsteczki niezbędne do wystąpienia działania przeciwdrgawkowego.

Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka.

JOANNA HARZOWSKA-SZCZYGIEŁ

WPŁYW PRZYPADKOWEJ HIPOTERMII POOPERACYJNEJ NA PROCES GOJENIA SIĘ RANY CHIRURGICZNEJ, ROZWÓJ INFEKCJI I CZAS HOSPITALIZACJI

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

Wstęp: Częstość występowania przypadkowej hipotermii pooperacyjnej u pacjentów poddanych zabiegom chirurgii ogólnej szacuje się na około 70%. Obniżona temperatura ciała wpływa na spowolnienia metabolizmu i upośledzenie perfuzji tkanek, zwłaszcza tkanki skórnej i podskórnej. Sytuacja ta może mieć związek z częstszym występowaniem utrudnionego gojenia się rany i rozwojem infekcji.

Cel: Ocena wpływu hipotermii pooperacyjnej na proces gojenia się rany chirurgicznej, rozwój infekcji i czas hospitalizacji.

Materiał i metody: Eksperymentem badawczym zostanie objętych 200 pacjentów leczonych chirurgicznie w obrębie jamy brzusznej w Szpitalu Uniwersyteckim w Krakowie. Analizie zostanie poddana 100-osobowa grupa badawcza i 100-osobowa grupa kontrolna, u której nie wystąpiła hipotermia. Ocenie podlegać będzie temperatura ciała po zabiegu, rana pooperacyjna w kolejnych dobach po zabiegu, objawy infekcji i czas hospitalizacji. Zostaną zastosowane kryteria włączenia (pacjenci operowani w zakresie totalnej resekcji żołądka oraz poddani zabiegowi w obszarze jelit, wiek 18–80) i wyłączenia (mnogie przerzuty nowotworowe, znaczna utrata masy ciała, cukrzyca, AIDS, choroby skóry i tkanki łącznej, reoperacja, przyjmowanie kortykosteroidów i/lub chemioterapii przez 4 tygodnie przed zabiegiem, wystąpienie gorączki w dniu lub w przeddzień zabiegu, immunosupresja, poziom białych krwinek znacznie poniżej normy).

Wyniki i wnioski: Wyniki badania mają udowodnić, że przypadkowa hipotermia pooperacyjna opóźnia i utrudnia proces gojenia się rany, zwiększa podatność na infekcje, a tym samym przedłuża czas hospitalizacji. Badania wstępne wykazały, że u 55 spośród 112 pacjentów po zabiegu operacyjnym w Szpitalu Uniwersyteckim wystąpiła przypadkowa hipotermia pooperacyjna, która najprawdopodobniej przyczyniła się do wystąpienia zaburzeń w procesie gojenia się rany chirurgicznej i do rozwoju infekcji.

MAGDALENA HUBALEWSKA-MAZGAJ, MAREK SANAK

CZĘSTOŚĆ ZAKAŻEŃ ORAZ WSPÓŁWYSTĘPOWANIE RÓŻNYCH WARIANTÓW GENETYCZNYCH RYNOWIRUSÓW U CHORYCH Z ZAOSTRZENIEM ASTMY OSKRZELOWEJ

Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, II Katedra Chorób Wewnętrznych Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że infekcje rynowirusowe (HRVs – human rhinoviruses) stanowią najczęstszą przyczynę zaostrzeń astmy oskrzelowej w każdej grupie wiekowej (około 50% zaostrzeń astmy wywołanych zakażeniami HRV). Zakażenie nabłonka oddechowego wywołane przez wirusy z tej grupy prowadzi do jego aktywacji oraz wyzwala lokalną odpowiedź zapalną, czego efektem jest nasilenie stanu zapalnego błony śluzowej oskrzeli i zwiększenie ich nadreaktywności. Ponadto, u chorych na astmę oskrzelową mechanizmy obronne są mniej wydajne, co powoduje gorszą eliminację wirusa i przedłużenie zakażenia HRV.

W prezentowanej pracy określono częstości detekcji HRV w popłuczynach nosowych (w górnych drogach oddechowych) pobranych od chorych z zaostrzeniem astmy oskrzelowej oraz przeprowadzono identyfikację molekularną podtypów HRV w analizowanym materiale.

Do badania włączono 48 chorych z zaostrzeniem astmy oskrzelowej leczonych w II Katedrze Chorób Wewnętrznych UJ CM w Krakowie. Detekcji HRV w pobranym materiale (aspiraty nosowe) dokonano, amplifikując fragment konserwatywnego regionu niekodującego końca 5’ (5’ NCR) genomu wirusa przy wykorzystaniu uprzednio zoptymalizowanej, wysoce czułej i swoistej dwuetapowej polimerazowej reakcji łańcuchowej (zagnieżdżony PCR), poprzedzonej reakcją odwrotnej transkrypcji. Wszystkie próbki, w których wykryto obecność genomu HRV w celu dokonania identyfikacji molekularnej podtypów HRV, poddane zostały sekwencjonowaniu po wcześniejszym wklonowaniu produktu amplifikacji do wektora plazmidowego.

U 23 osób wykryto poprzez badanie molekularne popłuczyn nosowych obecność genomu HRV, co stanowi 48% analizowanych próbek. Na podstawie analizy sekwencji amplifikowanego fragmentu genomu większość wykrytych wirusów zaliczono do grupy A rynowirusów (HRV-A). Ponadto zaobserwowano współwystępowanie różniących się genetycznie wariantów (mutacje punktowe) w obrębie materiału pochodzącego od tego samego pacjenta.

MICHALINA IGNASIK, NATALIA GUZIOR, BARBARA MALAWSKA

OZNACZENIE AKTYWNOŚCI NOWYCH, HETERODIMERYCZNYCH ZWIĄZKÓW HAMUJĄCYCH CHOLINOESTERAZY I AGREGACJĘ BETA AMYLOIDU

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

Za jedną z głównych przyczyn pogarszania się pamięci u chorych na chorobę Alzheimera uważa się spadek aktywności cholinergicznej w ośrodkowym układzie nerwowym oraz odkładanie się zewnątrzkomórkowo blaszek starczych zbudowanych z neurotoksycznego białka beta amyloidu. Acetylocholinoesteraza (AChE) i butyrylocholinoesteraza (BuChE) są obecnie wciąż atrakcyjnymi celami biologicznymi dla projektowanych ligandów dwufunkcyjnych, które mogą korzystnie wpływać na przekaźnictwo cholinergiczne oraz posiadać zdolność hamowania agregacji beta amyloidu. Stało się to podstawą do zaprojektowania i syntezy nowych dimerycznych struktur o dwukierunkowym działaniu. Aktywność wobec cholinoesteraz była badana standardowym spektrofotometrycznym testem Ellmana [1]. Zdolność hamowania agregacji beta amyloidu wyznaczono we współpracy z zespołem prof. Holzgrabe [2], wykorzystując zmodyfikowaną wersję fluorymetrycznego testu Tioflawinowego T [3]. Otrzymane związki są selektywnymi inhibitorami AChE lub inhibitorami AChE i BuChE (IC50 AChE 0,17 – 36,60 μM; IC50 BuChE 1,06 – 24,50 μM). Wykazują także zdolność hamowania agregacji beta amyloidu. Uzyskane rezultaty stanowią podstawę do dalszych badań.

Bibliografia:

1. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Feather-Stone R.M., „Biochemical Pharmacology" 1961, 7, 88–95.
2. Holzgrabe U. et al., Institut of Pharmacy and Food Chemistry, University of Würzburg, Niemcy.
3. Ignasik M., Bajda M., Guzior N., Prinz M., Holzgrabe U., Malawska B., „Arch. Pharm. Chem. Life Sciences" 2012, 1–8.

KATARZYNA IWULSKA

OCENA WYNIKÓW LECZENIA I EKSPOZYCJI WYBRANYCH MARKERÓW U CHORYCH NA AGRESYWNĄ POSTAĆ RAKA PODSTAWNOKOMÓRKOWEGO SKÓRY TWARZY W OPARCIU O ANALIZĘ MATERIAŁU KLINICZNEGO

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

Celem pracy jest analiza materiału klinicznego chorych leczonych z powodu agresywnej postaci raka podstawnokomórkowego skóry twarzy oraz ocena ekspresji markera proliferacji Ki-67, międzykomórkowego czynnika adhezyjnego E-kadheryny oraz α-aktyny mięśni gładkich (α-SMA) w postaciach raka podstawnokomórkowego o agresywnym i nieagresywnym typie wzrostu.

Materiał i metody: W okresie 1997–2010 spośród 471 chorych operowanych w Oddziale Klinicznym Chirurgii Szczękowo-Twarzowej UJ CM w Krakowie z powodu raka podstawnokomórkowego skóry twarzy u 46 (9,7%) chorych rozpoznano postać agresywną, w tym: podtyp rylcowaty – u 22 (48%) chorych, metatypowy – 21 (46%) chorych , drobnoguzkowy – 2 (4%) chorych i bliznowaciejący – 1 (2%) chorego. Zmiany były najczęściej umiejscowione na skórze nosa – 14 (30%), policzka – 14 (30%) oraz w kącie przyśrodkowym oka – 7 (15%). Leczenie rekonstrukcyjne jednoczasowe przeprowadzono u 39 (84%) chorych, leczenie rekonstrukcyjne odroczone u 6 (16%) chorych. W rekonstrukcji pooperacyjnych ubytków twarzy wykorzystano: płaty regionalne u 27 (69%) chorych, plastykę miejscową u 8 (21%) chorych, przeszczep skóry pośredniej i pełnej grubości u 3 (8%) chorych oraz u 2 (5%) chorych płat odległy. Badanie histopatologiczne preparatu operacyjnego potwierdziło radykalne wycięcie zmian nowotworowych u 28 (62%) chorych, natomiast u pozostałych 17 (38%) chorych zabieg był nieradykalny. Przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych wystąpiły u 3 chorych (podtyp rylcowaty).

Wnioski: Najczęściej występującą agresywną postacią raka podstawnokomórkowego skóry twarzy jest podtyp rylcowaty. Metodą z wyboru w leczeniu agresywnych postaci raka podstawnokomórkowego skóry twarzy jest chirurgiczne usunięcie zmiany z szerokim marginesem zdrowych tkanek i oceną śródoperacyjną – Intra. Konieczne jest wykonanie USG regionalnych węzłów chłonnych pod kątem wystąpienia przerzutów.

ANDRZEJ JARYNOWSKI, FREDRIK LILJEROS, LU XIN

ROLA SIECI POWIĄZAŃ SEKSUALNYCH W ROZPRZESTRZENIANIU SIĘ CHORÓB PRZENOSZONYCH DROGĄ PŁCIOWĄ

Uniwersytet Jagielloński, Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, Instytut Fizyki, Zakład Teorii Układów Złożonych

Uniwersytet w Sztokholmie, Karolinska Institutet

Charakterystyka kontaktów seksualnych w postaci czasowej i sieciowej struktury (kiedy i z kim) ma wpływ na rozprzestrzenianie się chorób przenoszonych droga płciową. Ludzka seksualność należy do kwestii intymnych, dlatego rejestrowane dane na ten temat są tylko wyrywkowe. Jednak w związku z rozwojem metod komputerowych pojawiła się perspektywa wykorzystania zastanej informacji w celu ekstrapolacji na całe społeczeństwa.

Odtworzenie dynamicznej czasowej siatki połączeń seksualnych było podstawą do dalszej analizy. Na kolejnym poziomie struktury sieciowej wprowadzone zostały modele epidemiologiczne (połączenie na sieci seksualnej między ludźmi może stanowić drogę przeniesienia patogenu, jeżeli jedno z partnerów było zarażone). W celu porównania różnych perspektyw wybraliśmy dwa typy zakażeń: wirusem HIV (w przypadku którego prawdopodobieństwo zarażenia na skutek pojedynczego stosunku jest małe) oraz bakteriami Chlamydii (gdzie to prawdopodobieństwo jest wysokie), rozprzestrzeniającymi się odmiennie w różnych społeczeństwach. Tak jak wiele innych ludzkich zachowań, seksualność (aspekt sieciowy) jest zjawiskiem złożonym. Nauki ścisłe opracowały zestaw narzędzi matematycznych (analiza sieciowa i statystyczna, modelowanie i symulacje) z powodzeniem stosowanych już w naukach społecznych oraz w medycynie. W naszych badaniach skupiamy się głównie na wtórnej analizie danych szwedzkich dotyczących seksualności mieszkańców Gotlandii (F. Liljeros, Nature, 2001) i studentów Uniwersytetu Sztokholmskiego (F. Liljeros, w przygotowaniu) oraz brazylijskiej prostytucji (F. Liljeros, PNAS, 2010).

Ogólnym rezultatem badań jest odtworzenie sieci kontaktów seksualnych w społeczeństwach na podstawie niepełnych i bardzo wrażliwych danych. Szczególnym wynikiem jest ustalenie najbardziej ryzykownych zachowań seksualnych (dla różnych grup patogenów) oraz umiejscowienie ich w kulturze. Podjęta została również próba odnalezienia i oszacowania roli potencjalnych „superroznosicieli" w społeczeństwie.

ANNA JASIÓWKA

POSTAWY MIESZKAŃCÓW MAŁOPOLSKI WOBEC TRANSPLANTACJI NARZĄDÓW

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

Zabiegi transplantacyjne ratują życie i zdrowie chorych ze schyłkową niewydolnością narządów, u których inne formy leczenia są już niewystarczające. Jednym z największych problemów obserwowanych w transplantologii jest niewystarczająca liczba dawców. Spośród ogółu przeprowadzanych transplantacji narządów w Polsce 97% to zabiegi, w których organy pobierane są od zmarłych dawców. W 2011 roku wskaźnik liczby zmarłych dawców na 1 mln mieszkańców w Małopolsce wyniósł 3,9 i był jednym z najniższych.

Celem pracy było zbadanie postaw mieszkańców Małopolski wobec transplantacji narządów pochodzących od zmarłych i żywych dawców. Analizowane dane pochodzą z projektu zrealizowanego w Urzędzie Statystycznym w Krakowie w styczniu 2011 roku. W badaniu wzięły udział 774 dorosłe osoby mieszkające na terenie Małopolski.

Akceptację przeszczepów pochodzących od zmarłych dawców wyraziło 85% ankietowanych. Ryzyko braku akceptacji tych przeszczepów było większe wśród osób po 40. roku życia aniżeli wśród osób młodszych. Akceptację przeszczepów pochodzących od żywych dawców wyraziło 84,1% badanych. Ryzyko braku akceptacji tych przeszczepów było większe wśród osób niepracujących aniżeli pracujących. Zgodę na pobranie narządów do przeszczepienia po śmierci wyraziło 67,4% respondentów, a za życia 52,7%. Ryzyko wyrażenia sprzeciwu w obu przypadkach było większe wśród osób z wykształceniem poniżej średniego, osób niepracujących, respondentów, którzy nie słyszeli o istnieniu oświadczenia woli, oraz osób, które nie przeprowadziły rozmowy o przeszczepianiu z bliskimi.

W badaniu zidentyfikowane zostały potencjalne zmienne wpływające na deklaratywne zachowania mieszkańców Małopolski dotyczące transplantacji narządów. Jego rezultaty zachęcają do dalszych badań, które pomogłyby wyjaśnić, dlaczego deklaracje ludzi nie przekładają się na konkretne zachowania.

KATARZYNA JASNOS, MARCIN MAGIEROWSKI

REAKTYWNE FORMY TLENU W BADANIACH NAD MECHANIZMEM USZKODZEŃ BŁONY ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA

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

Wprowadzenie: Reaktywne formy tlenu (*reactive oxygen species*, ROS) to atomy lub cząsteczki, które wykazują wyższą reaktywność chemiczną niż tlen w stanie podstawowym. Badania ostatnich lat dowodzą, że ROS są zaangażowane w powstawanie uszkodzeń błony śluzowej żołądka wywołanych aspiryną, etanolem, ischemią z następującą reperfuzją oraz stresem termicznym.

Cel pracy: Ustalenie roli reaktywnych form tlenu w patomechanizmie powstawania ostrych uszkodzeń błony śluzowej żołądka.

Materiał i metody: Eksperymenty przeprowadzono na szczurach białych rasy Wistar. Przepływ żołądkowy krwi zmierzono za pomocą przepływomierza laserowego Dopplera. Powierzchnię uszkodzeń zmierzono metodą planimetryczną. Poziom malonylodialdehydu (MDA) i 4-hydroksynonenalu (4-HNE), zredukowanego glutationu (GSH) oraz aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) zmierzono metodą spektrofotometryczną.

Wyniki: We wszystkich modelach uszkodzeń zaobserwowano znamienny wzrost liczby uszkodzeń wraz z obniżeniem żołądkowego przepływu krwi. Zmianom tym towarzyszył wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów (MDA i 4-HNE), spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej oraz poziomu zredukowanego glutationu.

Wnioski: Reaktywne formy tlenu biorą udział w wywoływaniu ostrych uszkodzeń błony śluzowej żołądka poprzez nasilenie peroksydacji lipidów błonowych oraz osłabienie mechanizmów antyoksydacyjnych komórek.

JUSTYNA JERZAK, EWA GREGORASZCZUK,
ANNA KARPETA, AGNIESZKA RAK-MARDYŁA

WPŁYW MIESZANINY CHLOROWANYCH NAFTALENÓW NA ENZYMY I I II FAZY METABOLIZMU ORAZ NA STEROIDOGENEZĘ W PĘCHERZYKU JAJNIKOWYM

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Instytut Zoologii, Katedra Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Chlorowane naftaleny są chlorowanymi związkami organicznymi występującymi w środowisku jako zanieczyszczenia przemysłowe. Narażenie na nie powiązane jest z licznymi problemami zdrowotnymi. Nie istnieją w literaturze dane na temat wpływu mieszaniny Halowax 1051 (składającej się z okta- i heptachloronaftalenów) na zaburzenia rozrodu.

Cel: Zbadanie wpływu Halowax 1051 na enzymy I (CYP1A1) oraz II (SULT, COMT) fazy metabolizmu, a także na wydzielanie i syntezę hormonów steroidowych w pęcherzyku jajnikowym.

Materiały i metody: Pęcherzyki jajnikowe (5–7 mm średnicy) pobrano od cyklujących świń rzeźnych i eksponowano na wzrastające dawki (od 1 pg/ml do 10 ng/ml) Halowax 1051 przez 1 do 72 godzin. Poziom hormonów steroidowych zmierzono metodą EIA, poziom ekspresji białek: 17β-HSD, P450arom, CYP1A1, SULT1A i COMT zbadano metodą Western blot, a aktywność P450arom i CYP1A1 zmierzono metodami fluorescencyjnymi.

Wyniki: Obserwowano wzrost aktywności i ekspresji CYP1A1 już po 6 godzinach ekspozycji, a także dawkozależne hamowanie ekspresji SULT1A i COMT. W każdej dawce i przez cały czas ekspozycji obserwowano zwiększone wydzielanie testosteronu przez pęcherzyki związane ze zwiększoną ekspresją 17β-HSD. Równoczesny spadek sekrecji estradiolu wynikał z obniżonej ekspresji i aktywności P450arom.

Wnioski: Uzyskane wyniki pokazują androgenne działanie Halowax 1051 w jajniku. Sugerowanym mechanizmem działania jest zwiększenie ekspresji enzymu 17β-HSD przy jednoczesnym hamowaniu aktywności i ekspresji P450arom. Aktywacja enzymów związanych z I fazą metabolizmu oraz hamowanie enzymów fazy II może być częściowo efektem działania metabolitów powstałych lokalnie w jajniku.

GRZEGORZ JORDAN

ZNACZENIE ELEKTROKARDIOGRAFII PŁODOWEJ W NADZORZE OKOŁOPORODOWYM

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

Wstęp: Najczęściej stosowaną obecnie metodą oceny stanu biofizycznego płodu jest kardiotokografia (KTG). Metoda pozawala na równoczesną ocenę akcji serca płodu oraz czynności skurczowej macicy. Metoda ta cechuje się wysoką czułością, niestety jej niska swoistość generuje duży odsetek wyników fałszywie dodatnich.

Najnowszą metodą jest elektrokardiografia płodowa (pEKG), która łączy analizę zapisu KTG oraz EKG. Połączenie dwóch sposobów oceny stanu biofizycznego płodu (KTG + pEKG) daje najbardziej swoistą ocenę, skutkującą znacznym zmniejszeniem niepotrzebnych ingerencji chirurgicznych.

Cel: Próba optymalizacji rozpoznania rzeczywistego wewnątrzmacicznego zagrożenia płodu w trakcie porodu.

Materiał i metody: Badanie będzie prowadzone w trakcie porodu u rodzących. Rodzące będą poddawane standardowemu zapisowi KTG, jak również będzie wykonywane pEKG. Pod uwagę będą brane ciąże o przebiegu fizjologicznym oraz obarczone takimi schorzeniami, jak nadciśnienie tętnicze, wewnątrzmaciczna hipotrofia czy cukrzyca. Rodzące zostaną losowo przydzielone do jednej z dwóch grup. Liczebność każdej grupy będzie wynosić około 100 rodzących. Monitorowanie stanu biofizycznego płodu podczas porodu pacjentek z grupy A będzie się odbywało metodą kardiotokografii z komputerową analizą zapisu. Pacjentki z grupy B będą monitorowane za pomocą systemu elektrokardiografii płodowej. Stan noworodka będzie oceniany w oparciu o następujące parametry: masa ciała, długość ciała, punktacja w skali Apgar oraz parametry równowagi kwasowo-zasadowej krwi z tętnicy pępowinowej.

Spodziewane wnioski: Kliniczne powiązanie przebiegu porodu, wzbogacone o wynik monitorowania biofizycznego, i weryfikacja biochemiczna (pH-metria) stanu noworodka w odniesieniu do sposobu rozwiązania ciąży powinny pozwolić na optymalizację wskazań do rozwiązań zabiegowych oraz w konsekwencji do obniżenia ilości cięć cesarskich.

JOANNA JUREK

PSYCHOLOGICZNE CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ZGODĘ RODZINY NA POBRANIE NARZĄDÓW PO ZMARŁYM BLISKIM

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

Celem prezentowanego projektu pracy doktorskiej jest zbadanie psychologicznych oraz kulturowych czynników wpływających na udzielenie zgody (lub jej brak) na pobranie narządów po zmarłym członku rodziny oraz porównanie doświadczeń rodzin, od których uzyskano zgodę, z rodzinami, które tej zgody nie wyraziły.

Jak wynika z przeglądu literatury zagranicznej, wiedza dotyczącą poglądów osoby zmarłej oraz znajomość jej ewentualnej deklaracji są czynnikami najbardziej znaczącymi przy podejmowaniu przez rodzinę decyzji o donacji. Jednakże, kiedy rodzina nie zna lub nie jest pewna woli zmarłego odnośnie pobrania narządów, na jej decyzję mają wpływ głównie czynniki kulturowe oraz kontekst wynikający z sytuacji, w której podejmowana jest decyzja (czynniki psychologiczne). W Polsce brak badań charakteryzujących grupę rodzin, które odmówiły zgody bądź wyraziły zgodę na pobranie organów do przeszczepu w momencie śmierci osoby bliskiej. Nie jest jasne, jakie czynniki mają znaczący wpływ na podejmowanie decyzji o dawstwie i jak wiedza z badań zagranicznych przekłada się na polską rzeczywistość.

Planowane badania będą miały charakter eksploracyjny. Celem szczegółowym jest zbadanie związku przekonań normatywnych oraz opartych na wiedzy potocznej z udzieleniem zgody na pobranie narządów oraz porównanie pod tym kątem grupy rodzin wyrażających zgodę z grupą, która tej zgody nie wyraziła.

Jakościowa analiza materiału zostanie przeprowadzona w oparciu o metodologię teorii ugruntowanej, która umożliwia badania zjawisk o charakterze procesów oraz konstruowanie indukcyjnych teorii ugruntowanych w danych. Ze względu na przyjętą metodę opracowania danych pochodzących z wywiadów w trakcie ich zbierania podjęta zostanie próba wyłonienia czynników wpływających na proces decyzyjny rodziny oraz skonstruowania teorii wyjaśniającej badane zjawisko.

MARTA B. KACZOR

SIARKOTRANSFERAZY

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

Cysteina, endogennie powstająca z metioniny, zaliczana jest do aminokwasów siarkowych. Ze względu na obecność w swojej cząsteczce grupy tiolowej wykazuje zdolność do tworzenia mostków disiarczkowych, stabilizując strukturę trzeciorzędową białek, w których skład wchodzi. Ponadto jest składnikiem wielu innych biologicznie ważnych związków, takich jak tioredoksyna, liponian, glutation, w których odwracalne utlenianie i redukcja grupy tiolowej jest zasadnicza dla utrzymania stanu redox komórek. Ten ważny aminokwas powstaje w reakcji transsulfuracji atomu siarki z metioniny na serynę w zależnym od fosforanu pirydoksalu procesie. Cysteina może być metabolizowana na wiele sposobów, których intensywność zależna jest od zapotrzebowania i rodzaju komórek. Przemiany tlenowe cysteiny zależą od aktywności dioksygenazy cysteinowej i prowadzą do powstania hipotauryny, tauryny i siarczanów. Przemiany beztlenowe prowadzą do powstania w komórkach metabolicznie aktywnej, zredukowanej siarki sulfanowej (atom siarki na 0 lub -1 stopniu utlenienia, połączony z innym atomem siarki) i siarkowodoru. W przemianach tych uczestniczą transferazy siarkowe, szeroko rozpowszechnione w świecie organizmów żywych. Należą do nich: rodanaza (transferaza siarkowa tiosiarczanu, EC 2.8.1.1), transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (MPST, EC 2.8.1.2) i cystationaza (γ-liaza cystationinowa, CST, EC 4.4.1.1). Aktywność tych enzymów uwarunkowana jest obecnością zredukowanych grup sulfhydrylowych w ich centrach aktywnych; w komórkach są przeciwutleniaczami, przez co wykazują pośrednie działanie antynowotworowe. CST i MPST katalizują reakcje powstawania związków zawierających siarkę sulfanową, z której w warunkach redukujących powstaje H2S (neuromodulator, czynnik rozkurczający naczynia). Atomy siarki sulfanowej mogą być przenoszone m.in. na centra Fe-S białek, na grupy –SH enzymów (zmiana aktywności). Zaobserwowano również ich wpływ na proliferację komórek i regulację cyklu komórkowego. W warunkach stresu oksydacyjnego obserwowano zmiany ekspresji genów dla siarkotransferaz.

ŁUKASZ KACZYŃSKI

PRAGMATYCZNE BADANIA KLINICZNE Z RANDOMIZACJĄ – PROBLEM PROJEKTOWANIA I OCENY JAKOŚCI

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

Wstęp: Medycyna oparta na dowodach naukowych (EBM) stała się złotym standardem w podejmowaniu decyzji dotyczących doboru postępowania w toku leczenia chorego, jak również ustalania zasadności finansowania metod leczenia w ramach oceny technologii medycznych (HTA). Podstawowym źródłem dowodów naukowych w zakresie oceny technologii medycznych stały się badania kliniczne z randomizacją (RCTs). Ich cechy metodologiczne są jednak wadą, która zmniejsza możliwość przeniesienia otrzymanych wyników na płaszczyznę codziennej praktyki lekarskiej. W takiej sytuacji dużą rolę zaczynają odgrywać pragmatyczne badania kliniczne z randomizacją (PRCTs), dostarczające wysokiej wiarygodności informacji o efektywności (*effectiveness*) w przeciwieństwie do badań obserwacyjnych czy rejestrów.

Metody: W celu pozyskania najbardziej aktualnych informacji na temat projektowania i oceny pragmatycznych badań klinicznych wykonano przegląd systematyczny w bazie MEDLINE przez Pubmed, stosując kwerendy: „pragmatic OR practical OR naturalistic OR real world".

Wyniki: W wyniku zastosowanej strategii wyszukiwania uzyskano 10920 trafień. W odnalezionych publikacjach jako główne cechy badań PRCTs przedstawia się opracowywanie szerszych kryteriów włączenia, ograniczenie do minimum kryteriów wykluczenia czy poszerzenie zakresu oceny stanu chorego. Znalezione prace sygnalizują problem określenia pragmatycznego charakteru badania z randomizacją – najnowsze doniesienia prezentują odpowiednie narzędzia, mogące służyć takiej ocenie: PRECIS lub CONSORT. Znaleziono również publikację przedstawiającą przystosowanie PRECIS do oceny przeglądów systematycznych w ramach HTA – PR-tool (PRECIS-Review tool).

Wnioski: Usystematyzowanie najnowszej wiedzy na temat projektowania i oceny jakości badań PRCTs da podstawę do prawidłowego przeprowadzania badań oceniających skuteczność terapii w warunkach codziennej praktyki lekarskiej oraz poprawnej analizy efektywności praktycznej w ramach HTA, co skutkować będzie trafnymi decyzjami zarówno w praktyce lekarskiej, jak i racjonalizacji kosztów refundacji technologii medycznych.

ELŻBIETA KALEMBKIEWICZ, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

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

Receptory adenozynowe należą do grupy receptorów GPCR (receptorów metabotropowych – sprzężonych z białkiem G). Wyróżniamy 4 podtypy tych receptorów: A1, A2A, A2B oraz A3. Zlokalizowane są głównie w ośrodkowym układzie nerwowym (rec. A1, A2A, A2B) oraz obwodowo (rec. A3). Antagoniści różnych podtypów tych receptorów mogą mieć zastosowanie w leczeniu astmy, a także w chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona [1,3].

Wyróżniamy dwie grupy ligandów receptorów adenozynowych – są to pochodne ksantynynowe i nie-ksantynowe. Pierwszymi pochodnymi ksantyn, dla których zbadano powinowactwo do receptorów, była naturalnie występująca kofeina, teofilina i teobromina. Bazując na ich strukturze, zsyntetyzowano wiele nowych ligandów. W poprzednio prowadzonych badaniach własnych poszukiwano ligandów receptorów adenozynowych wśród pochodnych imidazo-, pirymidyno- i diazepinopurynodionów [2,4].

Naszym celem było poszukiwanie nowych ligandów receptorów adenozynowych w grupie pochodnych ksantyn (trójcyklicznych układów – pochodnych 1,3-dimetylotetrahydropirymidyno[2,1-f]purynodionu) wykazujących właściwości fluorescencyjne. Zsyntetyzowano nowe związki, zawierające w swojej budowie trójcykliczną strukturę (pirymidopurynodionu) połączoną z fluoroforem łańcuchem alifatycznym o różnej długości. Fluorofor wprowadzano do badanych struktur w wyniku reakcji odpowiednich aminoalkilowych pochodnych z NBD (nitrobenzofurazan). Czystość otrzymanych połączeń badano metodą chromatografii cienkowarstwowej, ich struktury potwierdzano analizą widm 1H NMR.

Badania były finansowane z funduszu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, grant nr NN405 297 836.

Bibliografia:

1. Műller C.E., Jacobson K.A., „Biochimica et Biophysica Acta" 2010, 1–19.
2. Yuzlenko O., Kieć-Kononowicz K., „Current Medicinal Chemistry" 2006, 13, 3609–3625.
3. Pastorin G. et al., „Bioorganic & Medicinal Chemistry" 2010, 18, 2524–2536.
4. Drabczyńska A., Műller C.E., Kieć-Kononowicz K. et al., „Bioorganic & Medicinal Chemistry" 2007, 15, 5003–5017.

KATARZYNA KAMIŃSKA, MAŁGORZATA WIĘCEK, STEPHAN SCHWED, ROLAND SEIFERT, HOLGER STARK, JADWIGA HANDZLIK, KATARZYNA KIEĆ-KONONOWICZ

POSZUKIWANIE NOWYCH LIGANDÓW RECEPTORA H4 HISTAMINOWEGO W GRUPIE POCHODNYCH 1,3,5-TRIAZYNY

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

Institute of Pharmaceutical Chemistry, Johann Wolfgang Goethe University

Receptor H4 histaminowy (H4R), został odkryty i sklonowany przez kilka niezależnych zespołów badawczych w roku 2000 i 2001 [1]. Zlokalizowany jest on przede wszystkim w komórkach układu odpornościowego, co sugeruje jego udział w odpowiedziach immunologicznych organizmu, procesach alergicznych i zapalnych. Nasza uwaga skupiona jest na nowych ligandach tego receptora, gdyż pozytywny efekt działania antagonistów H4R zaobserwowano między innymi w modelach *in vivo* niektórych chorób, tj. astmy, kataru siennego, świądu czy zapalenia jelit [2, 3].

W 2003 roku Jabłonowski i wsp. odkryli związek JNJ 7777120, będący pierwszym silnym i selektywnym antagonistą H4R [4]. Stał się on punktem odniesienia w większości prowadzonych badań farmakologicznych w celu lepszego zrozumienia farmakologii i funkcji H4R zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Od tego czasu wiele innych związków zostało opisanych w wiodącej literaturze oraz patenach [5, 6], w tym również związki z grupy N-metylopiperazynowych pochodnych azyn [7].

Nasze poszukiwania ligandów H4R prowadzimy w grupie pochodnych 1,3,5-triazyny. Zsyntetyzowano serię nowych struktur pochodnych 2-amino-4-(4-metylopiperazyn-1-ylo)-1,3,5-triazyny z podstawnikami alifatycznymi (pierścieniowymi i rozgałęzionymi) i zbadano je pod kątem powinowactwa do H4R za pomocą testu radioreceptorowego. Dodatkowo zbadano ich właściwości fizykochemiczne oraz toksyczne *in silico*.

Praca częściowo sfinansowana z programu MNiSW, grant nr 594-N/COST-2009/0 oraz akcji EU COST BM0806.

Bibliografia:

1. Nguyen T. et al., „Molecural Pharmacology" 2001, 59, 427–433.
2. Igel, P. et al., „Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters" 2010, 20, 7191.
3. Tiligada E. et al., „Expert Opinion on Investigational Drugs" 2009, 18, 1519.
4. Jablonowski J.A. et al., „Journal of Medicinal Chemistry" 2003, 46, 3957.
5. Kiss R, Keserű G.M., „Expert Opinion on Therapeutic Patents" 2009, 19, 119.
6. Engelhardt H. et al., „Current Opinion in Drug Discovery & Development" 2009, 12, 628.
7. Łażewska, D., Kieć-Kononowicz K, „FBS" 2012, 4, 967–987.

ELŻBIETA KAMYCKA, ANNA ŁABĘDŹ-MASŁOWSKA, ZBIGNIEW MADEJA, MARIUSZ Z. RATAJCZAK, EWA K. ZUBA-SURMA

ANALIZA WŁAŚCIWOŚCI ANTYGENOWYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH VSEL IZOLOWANYCH Z LUDZKIEJ KRWI PĘPOWINOWEJ

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Zakład Fizjologii, Katedra Fizjologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Szczecin

Bardzo małe komórki macierzyste (KM) o charakterze embrionalnym (VSELs; ang. Very small embryonic-like stem cells) wyizolowane z ludzkiej krwi pępowinowej (KP) stanowią populację rzadkich, małych komórek o fenotypie CD45-/Lin-/CD133+, wykazujących cechy komórek embrionalnych. Posiadają duże jądro z prymitywną euchromatyną, są zdolne do różnicowania *in vitro* w komórki trzech listków zarodkowych oraz wykazują ekspresję embrionalnych czynników transkrypcyjnych (Oct-4, Nanog). Podobnie jak KM hematopoetyczne (KMH) z KP, komórki VSEL mogą posiadać na swojej powierzchni także antygeny CD34 i CXCR4. Dotychczasowe badania mysich VSEL wykazały, że są one niedzielącymi się diploidalnymi komórkami. Do tej pory nie przeprowadzono jednak szczegółowej charakterystyki koekspresji wybranych antygenów KM oraz statusu mitotycznego ludzkich VSEL pochodzących z KP.

Celem pierwszej części badań była ilościowa ocena koekspresji antygenów CD133, CD34 i CXCR4 na ludzkich komórkach VSEL z wykorzystaniem cytometru przepływowego. Otrzymane wyniki wskazują na obecność we frakcji CD45-/Lin- subpopulacji komórek VSEL z jednoczesną ekspresją antygenu CD133 oraz CD34 lub CXCR4. Część komórek nie wykazuje takiej koekspresji. Podobne zróżnicowanie fenotypowe zaobserwowano także dla frakcji KMH (CD45+/Lin-). W dalszych badaniach, wykorzystując FACS i MACS, wyizolowano frakcje: CD45-/Lin-/CD133+ VSELs oraz CD45+/Lin-/CD133+ KMH i analizowano ich cykl komórkowy z zastosowaniem technik cytometrii przepływowej. Otrzymane wyniki, analogicznie do modelu mysiego, wskazują, że ludzkie VSEL są komórkami diploidalnymi i wyciszonymi mitotycznie, podobnie jak KMH i kontrolne dojrzałe limfocyty z KP.

Ze względu na potencjalną możliwość wykorzystania ludzkich VSEL w medycynie regeneracyjnej niezbędne są dalsze badania nad różnorodnością ich profilu antygenowego. Uzyskane wyniki mogą doprowadzić do optymalizacji ich skutecznej izolacji dla celów badawczych oraz aplikacyjnych.

ANNA KARPETA, JUSTYNA JERZAK, ANNA PTAK, EWA GREGORASZCZUK

MECHANIZM DZIAŁANIA 2,2',4,4'-ETRABROMODIFENYLO-ETERU (BDE-47) I JEGO HYDROKSYLOWANYCH METABOLITÓW (5-OH-BDE-47 I 6-OH-BDE-47) W JAJNIKU

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Katedra Fizjologii Zwierząt, Instytut Zoologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Jagielloński

Temat: Polibromowane dibenzoetery (PBDE) to związki zmniejszające palność, szeroko stosowane w przemyśle, głównie elektronicznym. Zanieczyszczenia środowiskowe, takie jak PBDE, mogą być metabolizowane w żywych organizmach do bardziej polarnych związków.

Cel: Określenie wpływu wskaźnikowego kongeneru PBDE (BDE-47) na aktywność i ekspresję białka dla enzymów I (CYP1A1 i CYP2B1/2) i II (SULT1A i COMT) fazy metabolizmu oraz określenie wpływu hydroksylowanych metabolitów BDE-47 (5-OH- i 6-OH-BDE-47) na proces steroidogenezy w jajniku.

Materiały i metody: Materiałem do badań była kokultura komórek ziarnistych i osłonki wewnętrznej z średnich pęcherzyków pochodzących od dojrzałych płciowo świń rzeźnych. Aktywność CYP1A1 i CYP2B1/2 została zbadana za pomocą metody fluorescencyjnej, natomiast aktywność SULT1A i COMT za pomocą metody kolorymetrycznej. Poziom białka dla tych enzymów został określony za pomocą metody Western blot i ELISA. Poziom hormonów steroidowych zmierzono testem EIA, natomiast poziom ekspresji genów zbadano za pomocą metody real-time PCR.

Wyniki: BDE-47 nie wpływa na aktywność CYP1A1, jednak podwyższa aktywność CYP2B1/2 po 6 godzinach ekspozycji. BDE-47 podwyższa również aktywność SULT1A po 6 godzinach, a następnie COMT po 24 i 48 godzinach ekspozycji. Badany kongener nie wpływa na poziom białka dla enzymów I i II fazy metabolizmu. Wykazano, że hydroksylowane metabolity BDE-47 (5-OH- i 6-OH-BDE-47) zwiększają poziom ekspresji mRNA dla aromatazy (CYP19A1), czego konsekwencją jest zwiększenie wydzielania estradiolu przez pęcherzyk jajnikowy.

Wnioski: Szybka aktywacja CYP2B1/2 i późna aktywacja COMT, przy bardzo niskim poziomie SULT1A, wskazuje, że hydroksylowane metabolity mogą również powstawać lokalnie w jajniku. 5-OH- i 6-OH-BDE-47 mają właściwości estrogenne, co jest spowodowane ich stymulacyjnym działaniem na ekspresję genu aromatazy.

Finansowanie: 0654/B/PO1/2010/39, 2010-2013, Polska

WERONIKA KLECZYŃSKA, BOGDAN JAKIEŁA, HANNA PLUTECKA,
JACEK MUSIAŁ

ZACHOWANIE TGF-BETA1 ORAZ IL-10 W AKTYWNEJ POSTACI TOCZNIA RUMIENIOWATEGO UKŁADOWEGO

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

Cel: Zaburzenia funkcji limfocytów T regulatorowych (Treg) sprzyjają przełamaniu tolerancji immunologicznej i reakcjom autoimmunologicznym. Celem badania było sprawdzenie, czy w zaostrzeniach tocznia rumieniowatego układowego (SLE) dochodzi do zmniejszenia ilości Treg oraz zmniejszenia stężenia cytokin immunoregulacyjnych produkowanych przez Treg.

Metody: U 13 pacjentów z zaostrzeniem SLE, 13 pacjentów w remisji oraz 11 zdrowych osób zbadano liczbę limfocytów Treg FoxP3+ (cytometria przepływowa) we krwi obwodowej oraz stężenie TGF-beta1 i IL-10 w próbkach surowicy (ELISA).

Wyniki: W obu grupach chorych stwierdzono zmniejszenie liczby limfocytów Treg we krwi obwodowej (8,5 ±5,8 kom/ul) w porównaniu z kontrolą (15,1 ±4,6 kom/ul). Liczba Treg korelowała ze stopniem limfopenii w SLE (r=0,68). U chorych z aktywnym SLE obserwowano obniżenie poziomu TGF-beta1 (14,7 ±4,2 pg/ml) w porównaniu z chorymi w remisji (19,2 ±5,8) i grupą kontrolną (18,8 ±3,8). Stężenie IL-10 było natomiast wyraźnie podwyższone w zaostrzeniu choroby (4,5 ±3,9 pg/mL) w porównaniu do pozostałych grup (remisja: 1,6 ±0,8; kontrola: 1,1 ±0,8). Poziom IL-10 korelował dodatnio z aktywnością choroby przedstawioną w skali SLEDAI (r=0,68) oraz ujemnie składową C4 dopełniacza (r=-0,45). Odwrotną zależność stwierdzono pomiędzy stężeniem TGF-beta1 i C4 (dodatnia korelacja, r=0,4).

Wnioski: Chorych z aktywnym SLE charakteryzuje niedobór frakcji limfocytów Treg oraz zmniejszenie stężenia regulatorowej cytokiny TGF-beta1 we krwi. Stężenie IL-10 było jednak wyższe i korelowało z klinicznymi i laboratoryjnymi markerami aktywności tocznia. Może to wskazywać na różną rolę cytokin immunoregulacyjnych w patogenezie SLE. Podczas gdy deficyt TGF-beta1 w aktywnym SLE może wynikać z zaburzonej funkcji limfocytów regulatorowych, wzrost stężenia IL-10 (produkowanej nie tylko przez komórki Treg, ale i aktywowane makrofagi), towarzyszący zaostrzeniom SLE, mógłby mieć charakter kompensacyjny.

KAROLINA KLESIEWICZ, ELŻBIETA KARCZEWSKA, IWONA SKIBA,
EDWARD SITO, MAŁGORZATA ZWOLIŃSKA-WCISŁO, ALICJA BUDAK

ANALIZA WYSTĘPOWANIA SZCZEPÓW HELICOBACTER PYLORI U PACJENTÓW Z CHOROBAMI GÓRNEGO ODCINKA PRZEWODU POKARMOWEGO NA TERENIE MAŁOPOLSKI

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Centrum Medyczne Falck Medycyna w Krakowie

Katedra Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Częstość zakażenia Helicobacter pylori (H.pylori) waha się w granicach od 10–20% w krajach rozwiniętych do 80–100% w krajach rozwijających się. Leczenie tych zakażeń jest złożone, obejmuje leki zobojętniające i leki przeciwbakteryjne (klarytromycynę, metronidazol, amoksycylinę, tertracyklinę i lewofloksacynę). Poważnym problemem terapeutycznym jest narastająca oporność szczepów H.pylori na leki stosowane w leczeniu tych zakażeń, dlatego EHSG zaleca monitorowanie występowania oporności H.pylori na danym obszarze.

Cel: Ocena częstości występowania szczepów H.pylori u pacjentów z chorobami górnego odcinka pokarmowego na terenie Małopolski w okresie od października 2010 do marca 2012 oraz ocena lekowrażliwości badanych szczepów.

Materiał i metody: Badaniami objęto grupę 207 pacjentów (101 kobiet, 106 mężczyzn; średnia wieku 46 lat) zgłaszających się do poradni gastrologicznej. Pacjentom podczas gastroskopii pobrano dwa wycinki błony śluzowej żołądka. Wykonano badanie mikrobiologiczne w kierunku obecności bakterii H.pylori. Obecność bakterii potwierdzono dodatnimi testami na obecność ureazy, katalazy i oksydazy oraz mikroskopowo. Następnie określono lekowrażliwość szczepów Helicobacter metodą ilościową E-test, przyjmując wartości graniczne dla szczepów opornych wg wytycznych EUCAST v 1.3 z maja 2011 roku.

Wyniki: Wyizolowano 45 szczepów H.pylori. Częstość zakażenia wynosi 22% (45/207). Wśród badanych szczepów 51% (23/45) było opornych, w tym: klarytromycyna – 4 szczepy, metronidazol – 9, lewofloksacyna – 3. Ponadto, 7 szczepów wykazywało oporność na więcej niż 1 antybiotyk: metronidazol, klarytromycyna, lewofloksacyna – 1; metronidazol, klarytromycyna – 2; metronidazol, lewofloksacyna – 3; klarytromycyna, lewofloksacyna – 1.

Wnioski: Stwierdzenie wśród 45 badanych szczepów H.pylori, izolowanych od pacjentów z chorobami górnego odcinka przewodu pokarmowego, wysokiego odsetka izolatów opornych na antybiotyki/chemioterapeutyki stosowane rutynowo w terapii może powodować obniżoną skuteczność leczenia zakażenia H.pylori.

MAGDALENA KLIMEK, LOUIS CALISTRO ALVARADO,
GRAŻYNA JASIEŃSKA

INDEKS DŁUGOŚCI PALCÓW 2D:4D A STĘŻENIE TESTOSTERONU W DOROSŁOŚCI WŚRÓD MĘŻCZYZN Z WIEJSKIEJ POPULACJI BESKIDU WYSPOWEGO

Wydział Nauk o Zdrowiu, Instytut Zdrowia Publicznego, Zakład Epidemiologii i Badań Populacyjnych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

University of New Mexico, Albuquerque, New Mexico, USA

Indeks długości palców (2D:4D) określa stosunek długości palca II (wskazującego) do długości palca IV (serdecznego) i zależy od prenatalnej ekspozycji płodu na estrogeny (wzrost palca II, wysoki 2D:4D) i testosteron (wzrost palca IV, niski 2D:4D). Dotychczas badania wykazały związek 2D:4D z występowaniem m.in. nowotworów, chorób układu krążenia czy poziomu aktywności fizycznej. Jednakże niewiele jest badań testujących związek indeksu długości palców ze stężeniem hormonów u osób dorosłych.

Celem pracy jest ocena związku indeksu długości palców z poziomem stężenia testosteronu wśród mężczyzn.

Analizowane dane pochodzą z projektu przeprowadzonego w miejscowości o jednym z najwyższych współczynników dzietności w Polsce. W badaniu wzięło udział 111 mężczyzn (18-78 lat). Wypełniono kwestionariusze osobowe oraz wykonano pomiar długości palca wskazującego i serdecznego obu dłoni. Ponadto od każdego z uczestników zebrano dwie próbki śliny (rano i wieczorem), w których oznaczono stężenia testosteronu.

Mężczyźni o niskim indeksie długości palców 2D:4D charakteryzowali się wyższym średnim stężeniem testosteronu wieczornego ($p=0,019$) oraz średnim całościowym stężeniem testosteronu (porannego i wieczornego łącznie) ($p=0,04$).

Rezultaty badania uzupełniają dotychczasowe wyniki uzyskane w tej samej populacji, gdzie wśród mężczyzn niski 2D:4D był związany z wyższymi rozmiarami urodzeniowymi oraz wyższą masą ciała w dorosłości. Może to być efektem organizacyjnej funkcji testosteronu w determinowaniu rozmiarów ciała oraz jego wpływu na wyższą zdolność magazynowania energii metabolicznej, co może prowadzić do nadwagi i otyłości. Ponadto, w innych pracach badawczych dowiedziono, iż wyższe stężenie testosteronu jest związane z wyższym ryzykiem wystąpienia raka prostaty. W związku z powyższym 2D:4D mógłby stać się istotnym narzędziem z punktu widzenia programów promocji zdrowia i prewencji.

PAULINA KOCZURKIEWICZ, MARTA MICHALIK, IRMA PODOLAK, KATARZYNA WOJCIK, MICHAŁ SARNA, AGNIESZKA GALANTY, ZBIGNIEW JANECZKO

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWE SAPONIN TRITERPENOWYCH IZOLOWANYCH Z LYSIMACHIA CILIATA

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Katedra Fizyki Medycznej i Biofizyki, Wdział Fizyki i Informatyki Stosowanej, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie

Saponiny triterpenowe to metabolity wtórne, powszechnie występujące w klasie roślin dwuliściennych. Posiadają one bardzo szerokie spektrum aktywności farmakologicznej i biologicznej. Do najczęściej opisywanych właściwości należy działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, wykrztuśne oraz przeciwzapalne.

Ze względu na ciekawą aktywność biologiczną saponiny badane są pod katem związków przeciwnowotworowych. W literaturze naukowej można znaleźć informację, że saponiny mają zdolność do permabilizacji błon komórkowych, indukują apoptozę, hamują inwazyjność komórek nowotworowych, zatrzymują komórki w fazie S lub G1 cyklu komórkowego. Warto zaznaczyć, że działanie saponin jest ściśle uzależnione od ich struktury chemicznej.

Celem prowadzonych badań było zbadanie aktywności przeciwnowotworowej nowych związków (CIL 1 oraz CIL 2) izolowanych z rośliny Lysimachia ciliata. Struktury te posiadają podobną budowę ogólną, różnią się jedynie pojedynczymi podstawnikami przy pierścieniu głównym.

Do badań *in vitro* wykorzystano dwie linie komórek nowotworowych prostaty ludzkiej DU-145 i PC 3 o różnym stopniu złośliwości oraz linię komórek prawidłowej prostaty ludzkiej – PNT 2.

Analizowano: proliferację komórek, mechanizm śmierci komórkowej, zmiany aktywności migracyjnej komórek nowotworowych, aktywność transmigracyjną, reorganizację cytoszkieletu aktynowego i mikrotubularnego, zmiany w dystrybucji cyklu komórkowego oraz elastyczność komórek poddanych działaniu CIL 1 oraz CIL 2.

Wyniki badań wskazują, że wymienione związki działają selektywnie i specyficznie. Istotne jest, że komórki nowotworowe są bardziej wrażliwe na działanie wyżej wymienionych związków niż komórki prawidłowe (badane struktury działają silniej na komórki nowotworowe niż stosowany obecnie w terapii nowotworu prostaty mitoxantron). Ponadto niewielkie zmiany w strukturze chemicznej związków determinują inny mechanizm działania na badane linie komórkowe.

AGNIESZKA KOTLARZ, KAZIMIERZ PITYŃSKI, KRZYSZTOF OKOŃ,
TOMASZ BANAŚ

LIMFANGIOGENEZA W GUZIE NOWOTWOROWYM I W WĘZŁACH CHŁONNYCH WARTOWNICZYCH WE WCZESNYM RAKU SROMU

Klinika Ginekologii i Onkologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Katedra Patomorfologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Szczegółowe badania mechanizmów przerzutowania drogą limfatyczną, w tym procesu limfangiogenezy nowotworowej, stały się możliwe po odkryciu w ostatniej dekadzie ubiegłego wieku specyficznych markerów naczyń limfatycznych oraz czynników wzrostu dla tych naczyń. Wprowadzenie do praktyki klinicznej biopsji węzła wartowniczego było kolejnym czynnikiem, który przyczynił się do postępu w pracach nad rolą układu chłonnego w szerzeniu się nowotworów litych. W badaniach na modelach zwierzęcych zaobserwowano, iż przed wystąpieniem przerzutu do węzłów chłonnych dochodzi do zmian w strukturze węzła chłonnego, między innymi do powstawania w jego obrębie nowych naczyń chłonnych. Ostatnio pojawiły się doniesienia, iż ten sam proces może zachodzić w naturalnie rozwijających się nowotworach u ludzi.

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

Materiał i metody: Badania przeprowadzono u 19 kobiet leczonych operacyjnie z powodu wczesnego, płaskonabłonkowego raka sromu. Obliczono gęstość naczyń limfatycznych w guzie nowotworowym, na granicy guz – podścielisko oraz w węzłach chłonnych wartowniczych. Jako markera specyficznego dla naczyń limfatycznych użyto przeciwciał D2- 40. 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 limfangiogenezą w guzie i na granicy guz – podścielisko. Nie zaobserwowano współzależności pomiędzy limfangiogenezą zachodzącą w guzie i węzłach wartowniczych a wielkością guza i stopniem zróżnicowania histologicznego.

Wnioski: W raku sromu proces limfangiogenezy obecny jest w guzie nowotworowym oraz w węzłach chłonnych wartowniczych, także przed wystąpieniem przerzutów.

AGATA KRYCZYK, JOANNA SZYMURA-OLEKSIAK

BADANIE KLIRENSU WĄTROBOWEGO ZWIĄZKU DL76 (1-[3-(4-TERTBUTYLOFENOKSY)PROPYLO]PIPERYDYNA), ANTAGONISTY RECEPTORA H3 HISTAMINOWEGO Z ZASTOSOWANIEM MODELU IZOLOWANEJ, PERFUNDOWANEJ WĄTROBY SZCZURA

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

Jednym z najważniejszych procesów wpływających na losy leku w organizmie jest proces eliminacji, na który składa się metabolizm i wydalanie leku z ustroju. Najważniejszym organem uczestniczącym w tym procesie jest wątroba, dlatego poznanie przebiegu procesów zachodzących w tym organie i ilościowe ich ujęcie ma istotny wpływ na ocenę całego profilu farmakokinetycznego nowego związku.

Celem przeprowadzonych badań była ocena kinetyki procesu eliminacji wątrobowej związku DL76 u szczurów z zastosowaniem modelu izolowanej, perfundowanej wątroby szczura. DL76 jest oryginalnym związkiem, należącym do grupy nieimidazolowych antagonistów receptora H3 histaminowego, zsyntetyzowanym w Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych UJ CM pod kierownictwem prof. dr hab. K. Kieć-Kononowicz. Związki z tej grupy mogą modulować poziom neurotransmiterów takich jak acetylocholina, noradrenalina, serotonina, wpływając na procesy zapamiętywania, sprawność umysłową oraz aktywność psychomotoryczną.

Badania klirensu wątrobowego wykonano z zastosowaniem aparatu HSE-HA Perfusion System PS-1 (Hugo Sachs Electronik Harvard Apparatus), zapewniającego ciągłe krążenie perfuzatu natlenowanego carbogenem. Jako medium perfundujące zastosowano bufor węglowy Krebs-Henseleit Bicarbonate Buffer, czysty oraz zawierający albuminę wołową (3% m/v). Eksperyment prowadzono w temperaturze 37ºC przez 1,5 h, przy przepływie 2–3 mL/min/g wątroby oraz przy ciśnieniu 8–12 mmHg. Stężenia badanego związku oznaczono techniką LC/MS/MS.

Klirens wątrobowy wyznaczony dla trzech dawek związku DL76: 0,75, 1,5, 2,25 mg wynosił odpowiednio: 1,02, 1,66, 1,56 mL/min/g wątroby. W obecności albuminy wartość tego parametru dla podanych dawek wynosiła odpowiednio: 0,71, 0,91, 1,0 mL/min/g wątroby. Na podstawie oznaczonych stężeń stwierdzono liniowość badanego parametru w zakresie stosowanych dawek.

TEOFILA KSIĄŻEK, WALENTYNA BALWIERZ

GENOTYPOWANIE MOLEKULARNE REARANŻACJI W GENIE MLL JAKO POTENCJALNYCH MARKERÓW MOLEKULARNYCH CHOROBY RESZTKOWEJ U DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ SZPIKOWĄ (AML)

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

Rearanżacje chromosomalne w obrębie genu MLL są w większości przypadków czynnikami wysokiego ryzyka w ostrych białaczkach zarówno u dorosłych, jak i u dzieci. Do tej pory zidentyfikowano blisko 50 różnych translokacji obejmujących gen MLL. Do najczęstszych partnerów fuzyjnych genu MLL należą: AF9 (t(9;11)(p21–22;q23), ENL (t(11;19)(q23;p13,3)), AF4 (t(4;11)(q21;q23)). Gen fuzyjny MLL-AF4 występuje częściej w ostrej białaczce limfoblastycznej, natomiast MLL-AF9 jest najczęstszym zaburzeniem genu MLL w AML u dzieci (6–8%).

Celem podjętego problemu badawczego było opracowanie protokołu genotypowania molekularnego techniką Real-time PCR translokacji w genie MLL prowadzących do powstania genów fuzyjnych: MLL–AF4, MLL–AF9 i MLL–ENL. Zastosowana technika pozwala dodatkowo na monitorowanie dynamiki zmian poziomu choroby resztkowej (MRD) w czasie terapii w oparciu o ilościową ocenę ekspresji zidentyfikowanych genów fuzyjnych.

Wstępne genotypowanie molekularne wykonano u 18 dzieci z AML, u których za pomocą badań cytogenetycznych wykryto rearanżacje w genie MLL. Materiał do analizy stanowiło RNA wyizolowane z komórek mononuklearnych pochodzących ze szpiku pobranego w czasie diagnozowania. Badane rearanżacje genu MLL oznaczono u 8 pacjentów: u 6 wykryto gen fuzyjny MLL–AF9, u 1 MLL–AF4, u 1 MLL–ENL.

Używana dotychczas w celach diagnostycznych metoda cytogenetyczna (FISH) pozwala jedynie na ocenę obecności rearanżacji w obrębie chromosomu 11q23. Z kolei molekularna technika badania pozwala na szybką identyfikację najczęstszych rearanżacji genu MLL, a także może być w przyszłości wykorzystana do oznaczenia MRD i opracowania nowych strategii terapeutycznych, zmierzających do poprawy skuteczności leczenia dzieci z AML.

PAULINA KUBOWICZ, ELŻBIETA PĘKALA

MODELE ALTERNATYWNE W BADANIACH METABOLIZMU ZWIĄZKU KP17 O ZDEFINIOWANEJ AKTYWNOŚCI ANTYEPILEPTYCZNEJ

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

W Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych od dwóch dekad prowadzi się intensywne poszukiwania w grupie chiralnych i achiralnych pochodnych aminoalkoholi o działaniu przeciwdrgawkowym. Wśród wielu wyselekcjonowanych aktywnych związków znajdują się pochodne trans i cis-2--amino-1-cykloheksanolu [1]. Aktywnym połączeniem w tej grupie jest KP17--1S,1S 2-{[2-(4-chloro-3-metylofenoksy)etylo]amino}cykloheksanol.

KP17 wykazuje stuprocentowe działanie ochronne w stosunku do badanych myszy oraz 25-procentową protekcję w stosunku do badanych szczurów w teście drgawek wywołanych prądem elektrycznym (MES).

W związku z wysoką aktywnością antyepileptyczną KP17 wydaje się zasadne i celowe, aby na tym wczesnym etapie podjąć badania nad jego metabolizmem. Do badania metabolizmu wybrano metody alternatywne *in vitro* i *in silico*, które oszczędzają zwierzęta oraz nie wymagają wysokich nakładów finansowych (zgodnie z ogólnoświatowymi tendencjami w zakresie tego typu badań). W badaniach nad metabolizmem KP17 wykorzystano model mikrobiologiczny Cunninghamella (C. echinulata NRRL 1348, C. blakesleeana DSM 1906, C. elegans DSM 19080) [2], model izolowanych mikrosomów ludzkich (źródło enzymów cytochromu P450) oraz frakcję S9, będącą źródłem enzymów prowadzących reakcje I i II fazy metabolizmu [3]. Obecność powstających metabolitów potwierdzano metodami TLC oraz LC MS/MS. Produkty biotransformacji były głównie związkami o charakterze alkoholi I-rzędowych oraz kwasów.

Uzupełnieniem badań eksperymentalnych było modelowanie metabolizmu *in silico* z wykorzystaniem programu PALLAS (PALLAS 3.1.1.2).

Praca została sfinansowana w ramach badań statutowych K/ZDS/001296.

Bibliografia:

1. Pekala E., Waszkielewicz A.M., Szneler E., Walczak M., Marona H., „Bioorganic & Medicinal Chemistry" 2011, 19, 6927–6934.
2. Asha S., Vidyavathi M., „Biotechnology Advances" 2009, 27, 16–29.
3. Asha S., Vidyavathi M., „Applied Biochemistry and Biotechnology" 2010, 160, 1699–1722.

ANNA KUMOREK, PRZEMYSŁAW BOROWY

WPŁYW MASY CIAŁA NA GĘSTOŚĆ MINERALNĄ KOŚCI U KOBIET PO 50. ROKU ŻYCIA W POPULACJI MAŁOPOLSKI

Zakład Chorób Kości i Stawów, Krakowskie Centrum Medyczne, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Celem pracy była ocena wpływu masy ciała wyrażonej wskaźnikiem BMI (Body Mass Index) na gęstość mineralną kości (BMD – Bone Mineral Density) kobiet po 50. roku życia. Spośród 97 tys. rekordów pacjentów Krakowskiego Centrum Medycznego (KCM) do badania zakwalifikowano 1024 kobiety, które spełniły kryteria włączenia i nie podpadały pod kryteria wyłączenia. U każdej pacjentki w czasie wizyty w KCM wykonano badanie densytometryczne (DXA) kręgosłupa i kości udowej oraz badanie fizykalne z pomiarem masy ciała i wzrostu za pomocą certyfikowanej wagi i stadiometru. Dodatkowo pacjentki wypełniły kwestionariusz oceniający czynniki ryzyka złamania.

Wyniki. Wykonano analizę macierzy korelacji dla cech BMD T-score i BMI w badanej grupie. Uzyskano słabą korelację pozytywną na poziomie $R=0,15$, $p<0,001$. Zaobserwowano zależny od BMI, liniowy wzrost gęstości mineralnej kości (BMD) w obu miejscach pomiaru, tj. kręgosłupie i bliższym końcu kości udowej.

Dyskusja. Zaobserwowane różnice mogą wynikać z metodologi pomiaru BMD przy pomocy aparatu DXA, który wykorzystuje wiązkę promieniowania rentgenowskiego absorbowaną również przez tkankę tłuszczową. Jej brzuszna lokalizacja u kobiet tłumaczyłaby te różnice, ale nie w obszarze kości udowej. Wydaje się, że obserwowany wzrost BMD zależny od masy ciała może wynikać z innej budowy badanej kości, która z racji dodatkowego obciążenia inaczej kształtuje swoją strukturę. Opisywane w innych badaniach protekcyjne działanie nadwagi i otyłości na ryzyko złamania może wynikać między innymi z tego mechanizmu.

MAGDALENA KURNIK, KRZYSZTOF GIL, ANDRZEJ BUGAJSKI, PIOTR THOR

NEUROTOKSYCZNE EFEKTY DZIAŁANIA SALSOLINOLU NA NEURONY SPLOTÓW ŚRÓDMIĘŚNIOWYCH JELITA SZCZURA

Katedra Patofizjologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

W chorobie Parkinsona objawy ze strony przewodu pokarmowego mogą wyprzedzać wystąpienie zaburzeń neurologicznych. Ponadto, pewne toksyny dostające się do organizmu drogą przewodu pokarmowego lub powstające w jelitach (tetrahydroizochinoliny) mogą zapoczątkowywać procesy neurodegeneracyjne prowadzące do choroby Parkinsona. Celem pracy była ocena wpływu salsolinolu (1-metylo-6,7-dihydroksy-1,2,3,4-tetrahydroizochinoliny) na neurony splotów śródmięśniowych w jelicie szczura.

Eksperyment przeprowadzono na szczurach Wistar (n=16). Całkowita dawka salsolinolu podawanego dootrzewnowo za pomocą minipomp osmotycznych wynosiła 250 mg/kg – w grupie S1 (n=4; 0,5 μL/h) odpowiednio przez okres 2 tygodni, a w grupie S2 (n=4; 0,25 μL/h) przez okres 4 tygodni. Grupa kontrolna liczyła 8 szczurów. Badano pasaż jelitowy metodą godzinnej zbiórki stolca. Po zakończeniu eksperymentu pobrano wycinki z jelita czczego i wykonano preparaty LMMP (longitudinal muscle-myenteric plexus), które barwiono immunofluorescencyjnie, używając przeciwciał przeciwko PGP9.5, NOS, ChAT, α-synukleinie oraz białku Bax. Salsolinol spowodował uszkodzenie neuronów trzewnych (spadek liczby neuronów w zwojach, powierzchni zwojów, średniej powierzchni ciała neuronu) w obydwu grupach poddanych jego działaniu (w stosunku do grupy kontrolnej). Liczba neuronów wykazujących ekspresję syntazy tlenku azotu była obniżona – 32,96/mm2 ±12,06 (S1) oraz 29,41/mm2 ±11,63 (S2) w stosunku do grupy kontrolnej (38,99/mm2 ±12,75). Liczba neuronów cholinergicznych nie uległa zmianie. Wśród neuronów splotu trzewnego po podaniu salsolinolu zaobserwowano komórki wykazujące zwiększoną ekspresję białka proapoptotycznego Bax oraz depozyty α-synukleiny. Średnia mokra oraz sucha masa stolca była obniżona u szczurów otrzymujących salsolinol.

Uzyskane wyniki potwierdzają neurotoksyczny wpływ salsolinolu na neurony jelitowych splotów Auerbacha, prowadzący do inicjacji apoptozy. Spadek liczby neuronów NOS-pozytywnych (hamujących) może być odpowiedzialny za zaburzony pasaż jelitowy.

KATARZYNA KUŚMIERSKA-URBAN

UDZIAŁ WYBRANYCH POLIMORFIZMÓW GENÓW UKŁADU RENINA-ANGIOTENSYNA W PATOGENEZIE STANU PRZEDRZUCAWKOWEGO

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

Zagrażająca rzucawka jest definiowana jako wystąpienie nadciśnienia i białkomoczu po zakończeniu 20. tygodnia ciąży u kobiety, u której poprzednio nie występowały te objawy. Stanowi ona duże zagrożenie dla matki i płodu i jest nadal jedną z głównych przyczyn śmiertelności okołoporodowej matek w krajach rozwiniętych. Pomimo wieloletnich badań prowadzonych na całym świecie etiopatogeneza stanu przedrzucawkowego nadal pozostaje niewyjaśniona. Przyjmuje się, że jest to choroba wieloczynnikowa z licznymi czynnikami o podłożu genetycznym, połączonymi ze zmianami środowiskowymi (dla płodu jest to organizm matki). Występowanie czynników ryzyka schorzeń układu sercowo-naczyniowego u ciężarnej kobiety odgrywa istotną rolę w patogenezie tego schorzenia. Wydaje się, że zmiany w układzie renina-angiotensyna mogą mieć wpływ na wystąpienie stanu przedrzucawkowego. Badanych jest wiele genów oraz ich polimorfizmy. Najlepiej poznane są geny angiotensynogenu. Mniej jest danych na temat polimorfizmów genów receptorów dla angiotensyny typ 1 i 2.

Praca dotyczy określenia rozkładu polimorfizmów genów układu renina-angiotensyna w populacji kobiet ciężarnych południowej Polski wraz z próbą interpretacji ich wpływu na etiopatogenezę stanu przedrzucawkowego i nadciśnienia ciążowego oraz na przebieg ciąży. Badanie obejmuje 160 pacjentek ciężarnych hospitalizowanych w Oddziale Klinicznym Kliniki Położnictwa i Perinatologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Dane, oprócz badań genetycznych, dotyczą wieku kobiet, tygodnia i sposobu rozwiązania ciąży, masy urodzeniowej noworodka wraz z oceną wg skali Apgar oraz powikłań występujących w przebiegu ciąży u każdej pacjentki.

PATRYCJA KWIECIŃSKA, EWA ŁUCJA GREGORASZCZUK

PORÓWNANIE WPŁYWU KWASU WALPROINOWEGO I LEVETIRACETAMU NA PROLIFERACJĘ I APOPTOZĘ KOMÓREK LUDZKIEJ LINII NOWOTWORU JAJNIKA OVCAR-3

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Katedra Fizjologii Zwierząt, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński

Cel badań: Nowotwór jajnika jest najczęstszą przyczyną śmierci spowodowaną przez nowotwory układu rozrodczego kobiet, dlatego odkrycie nowych związków o działaniu przeciwnowotworowym jest bardzo istotne. W ostatnich latach badania na różnych modelach komórkowych pokazały, że wiele leków przeciwpadaczkowych (m.in. kwas walproinowy – VPA i levetiracetam – LEV) wykazuje działanie przeciwnowotworowe. Biorąc pod uwagę te doniesienia, zdecydowaliśmy się porównać wpływ VPA i LEV na proliferację i apoptozę komórek ludzkiego nowotworu jajnika na modelu linii OVCAR-3.

Materiał i metody: W celu zbadania wpływu VPA i LEV na proliferację, cytotoksyczność i apoptozę komórki hodowano z badanymi związkami w stężeniach od 100 μM do 10 mM. Proliferacja komórek została określona przy użyciu testu BrdU, działanie cytotoksyczne testami wodorotlenku tetrazolowego (XTT), kwaśnej fosfatazy (AP) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH). W celu określenia wpływu badanych związków na apoptozę wykonano test sprawdzający poziom fragmentacji DNA. Ekspresję genów cyklu komórkowego oznaczono metodą PCR w czasie rzeczywistym. Wpływ VPA i LEV na aktywność kaspaz (-3, -8 i -9) określono metodą fluorescencyjną i metodą Western blot.

Wyniki: VPA powodował zależne od stężenia obniżenie proliferacji, działanie cytotoksyczne oraz wzrost fragmentacji DNA. Ponadto, VPA wpływał na zmianę ekspresji genów odpowiedzialnych za zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 i aktywował kaskadę kaspaz. LEV wykazał działanie cytotoksyczne przy wyższych stężeniach. Nie wykazał wpływu na proliferację ani apoptozę komórek, nie zmienił też ekspresji badanych genów. Podsumowując, jedynie VPA wykazuje potencjalne działanie przeciwnowotworowe w komórkach nowotworu jajnika.

Podziękowania: Badania zostały wykonane w ramach projektu badawczego współfinansowanego przez Oddział Neurologii Szpitala Uniwersyteckiego w Oslo (Norwegia) oraz K/ZDS/001954/2011 (Polska).

ANNA M. ŁABĘDŹ-MASŁOWSKA, MAŁGORZATA ZAWADZKA,
ELŻBIETA KAMYCKA, ZBIGNIEW MADEJA, LESZEK KACZMAREK,
EWA K. ZUBA-SURMA

IDENTYFIKACJA POPULACJI KOMÓREK O FENOTYPIE KOMÓREK VSELS W SZCZURZYM SZPIKU KOSTNYM – OBECNY STATUS ORAZ PRZYSZŁE PERSPEKTYWY

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN, Warszawa

Dotychczasowe badania wykazały, że mysi oraz ludzki szpik kostny (SzK) zawiera populację „bardzo małych komórek macierzystych o charakterze embrionalnym" (VSELs; ang. very small embryonic-like stem cells), należących do frakcji niehematopoetycznej SzK (CD45-/Lin-) i mniejszych od erytrocytów. Wykazano, że ludzkie komórki VSELs posiadają antygeny powierzchniowe: CD133, CD34 oraz CXCR4, natomiast mysie – antygen Sca-1. Dodatkowo VSELs mogą wykazywać ekspresję antygenów kluczowych dla adhezji (CD106, CD49f), które są również przydatne do identyfikacji oraz izolacji tych komórek. Mysie oraz ludzkie VSELs zostały scharakteryzowane, podczas gdy komórki VSELs pochodzące od innych ssaków, w tym szczura, jak dotąd nie zostały zidentyfikowane.

Celem badań była identyfikacja oraz charakterystyka VSELs pochodzących z SzK szczurów Wistar: (a) typu dzikiego oraz (b) transgenicznych z ekspresją eGFP. Komórki SzK barwiono przeciwciałami dla CD45, panelu markerów linii hematopoetycznych (Lin: TCRαβ, CD3, CD11b, CD45RA), CD54 oraz CD106. Komórki o fenotypie VSELs zostały zidentyfikowane we frakcji komórek niehematopoetycznych SzK (CD45-/Lin-) i wyizolowane za pomocą cytometrii przepływowej. Strategia sortowania oparta została na bramkowaniu komórek negatywnych dla CD45 i markerów Lin, pozytywnych dla CD106 i/lub CD54. Wysortowana frakcja o fenotypie CD45-/Lin-/CD106+ została zidentyfikowana, jako szczurze VSELs na podstawie ich morfologii oraz ekspresji genów pluripotencjalnych – Oct-4, Nanog, Rex-1 – na poziomie mRNA (metodą RT-PCR) oraz białka (metodą obrazowania komórkowego Image Stream).

Zidentyfikowana populacja bardzo małych CD45-/Lin-/CD106+ komórek odpowiada fenotypowo ludzkim oraz mysim komórkom VSELs. Dalsze analizy tych komórek *in vitro* będą prowadzone równocześnie z badaniami ich potencjału regeneracyjnego *in vivo* w szczurzym modelu uszkodzenia mózgu oraz rdzenia kręgowego.

MAŁGORZATA LASOTA, WALENTYNA BALWIERZ, ANDRZEJ KLEIN

WPŁYW INHIBITORÓW RECEPTOROWYCH KINAZ TYROZYNOWYCH NA WZROST WYBRANYCH LINII KOMÓRKOWYCH NOWOTWORÓW DZIECIĘCYCH

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

Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Receptorowe kinazy tyrozynowe (RKT) pełnią istotną funkcję w przenoszeniu sygnałów w komórkach. Zmiany spowodowane mutacją genów kodujących RKT mogą powodować konstytutywną aktywację tych enzymów, a tym samym prowadzić do niekontrolowanego wzrostu komórek, rozwoju nowotworu i jego uzłośliwienia. W związku z tym zahamowanie sygnału przekazywanego przez kinazy tyrozynowe jest celem wielu prac badawczych.

Celem pracy było zbadanie wpływu tyrfostinu AG1296 (inhibitora kinazy tyrozynowej receptora PDGFR) na wzrost komórek mięsaka prążkowanokomórkowego (RMS) oraz inhibitorów receptora c-kit (imatinibu, nilotinibu, dasatinibu i midostaurinu) na proliferację komórek ostrej białaczki szpikowej (AML).

Komórki linii RMS hodowane były w wolnym od surowicy płynie DMEM/F12. Przy użyciu metody fioletu krystalicznego i testu MTT określono wzrost komórek mięsaka prążkowanokomórkowego. Komórki AML hodowano w płynie RPMI 1640 z dodatkiem 20% surowicy. Proliferację nieadherentnych komórek ostrej białaczki szpikowej oceniono przy użyciu testu MTS.

Inhibitor AG1296 hamował w sposób zależny od dawki wzrost komórek RMS w zakresie stężeń 1–100 μM. Przy stężeniach powyżej 25 μM następowało całkowite zahamowanie wzrostu i obserwowano efekt cytotoksyczny. Ekspozycja komórek ostrej białaczki szpikowej na badane inhibitory w stężeniu ≥0,1 μM powodowała zależne od dawki zahamowanie wzrostu. Imatinib, nilotinib, midostaurin i dasatinib całkowicie hamowały wzrost komórek ostrej białaczki szpikowej, odpowiednio przy stężeniach: 2,5 μM, 1 μM, 0,5 μM i 0,1 μM.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały wrażliwość badanych komórek na stosowane inhibitory. Dalsze badanie związków powodujących zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych przyczyni się do opracowania nowych, celowanych sposobów terapii i pozwoli na bardziej skuteczne leczenie choroby nowotworowej.

DOMINIK LUDEW, KAROL URBAŃSKI, BOGUSŁAW KAPELAK,
GRZEGORZ FILIP, GRZEGORZ GRUDZIEŃ, MAGDALENA FILIP,
TOMASZ MIKOŁAJCZYK, RYSZARD KORBUT, TOMASZ GUZIK

CHARAKTERYSTYKA LIMFOCYTÓW T NACIEKAJĄCYCH TKANKĘ TŁUSZCZOWĄ OKOŁONACZYNIOWĄ W MIAŻDŻYCY

Katedra Medycyny Wewnętrznej i Medycyny Wsi, Katedra Farmakologii oraz Klinika Chirurgii Serca, Naczyń i Transplantologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wprowadzenie: W przebiegu miażdżycy dochodzi do rozwoju zapalenia okołonaczyniowego. Rodzaj leukocytów infiltrujących okołonaczyniową, wieńcową tkankę tłuszczową nie został scharakteryzowany.

Cele i metody: Celem pracy było określenie, jakie limfocyty T naciekają tkankę nasierdziową otaczającą tętnice wieńcowe (CA; 105 chorych) w porównaniu z tkanką tłuszczową (PVAT) tętnicy piersiowej wewnętrznej (IMA). Naciek limfocytów T oceniano metodą cytometrii przepływowej po enzymatycznym strawieniu wycinków. Badano funkcję śródbłonka i produkcję anionorodnika ponadtlenkowego w IMA.

Wyniki: Odsetek leukocytów był 11-krotnie wyższy w tkance tłuszczowej CA niż w IMA (6,5 ±0,3 v. 0,6 ±0,02%, $p<0,05$). Komórki CD3 + stanowiły – 48 ±1,8% w CA i 35,1% ±15,1 w IMA. Bezwzględna liczba limfocytów T była wyższa w tkance tłuszczowej CA niż IMA (120,3 ±18,7 v. 55,6 ±7,3 komórek/mg tkanki). Znaczna cześć populacji limfocytów T w CA nie wykazywała ekspresji białek CD4 ani CD8 i była podwójnie negatywna (DN) (33,9 v. 17,4 komórek/mg; CA v. IMA). Funkcja rozkurczowa naczynia IMA zależna od biodostępności tlenku azotu była odwrotnie skorelowana z naciekiem PVAT przez komórki CD8+ ($R=-0,25$; $p=0,048$; Anova dla powtarzanych pomiarów) oraz komórki DN ($R=-0,21$; $p=0,043$). Produkcja anionorodnika ponadtlenkowego przez naczynie jest skorelowana z infiltracją komórkami CD3+ oraz CD8+ w PVAT ($R=0,28$, $p=0,01$; $R=0,22$, $p=0.044$). Upośledzona funkcja wazorelaksacyjna naczynia związana była także ze zwiększonym naciekiem komórek CD8+/25+ i DN/28+ w PVAT ($R=-0,37$, $p=0,003$; $R=-0,26$, $p=0,041$).

Wnioski: Rozwojowi miażdżycy w tętnicach wieńcowych towarzyszy wzrost infiltracji komórek T w tkance tłuszczowej okołonaczyniowej. Upośledzona funkcja rozkurczowa naczynia zależna od biodostępności tlenku azotu wiąże się ze zwiększonym naciekiem lifocytarnym złożonym z komórek CD8+ i DN.

MARCIN MAGIEROWSKI, KATARZYNA JASNOS

DONORY SIARKOWODORU JAKO POTENCJALNE CZYNNIKI GASTROPROTEKCYJNE

Katedra Fizjologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Siarkowodór (H2S) jest endogennym mediatorem gazowym generowanym przez metabolizm L-cysteiny z udziałem β-syntazy cystationiny (CBS) i γ-liazy cystationiny (CSE). Czynnik ten wykazuje działanie naczyniorozszerzające w obrębie mikrokrążenia żołądkowego. Istnieją przesłanki, że donory H2S-L-cysteina i NaHS mogą być czynnikami protekcyjnymi w odniesieniu do uszkodzeń układu pokarmowego poprzez niepoznane dotąd mechanizmy.

W badaniu sprawdzono, czy L-cysteina i NaHS podawane osobno oraz w połączeniu z inhibitorami prostaglandynowych cyklooksygenaz (COX-1 i COX-2)--indometacyną i celecoxibem oraz blokerem receptorów waniloidowych (VR1)--kapsazepiną mogą wpływać w przypadku szczurów na rozwój ostrych uszkodzeń błony śluzowej żołądka wywołanych przez stres wynikający z unieruchomienia i oziębienia (WRS) przez 3,5 godziny.

Poszczególne grupy samców szczurzych rasy Wistar (śr. waga ok. 200 g) otrzymały sondą dożołądkową L-cysteinę (10 mg/kg) oraz NaHS (100 μg/kg) w kombinacji z indometacyną (5 mg/kg dootrzewnowo), celcoxibem (10 mg/kg) lub kapsazepiną (5 mg/kg) (lub bez nich) w okresie 30 minut przed ekspozycją na 3,5-godzinny WRS. Metodą planimetryczną dokonano pomiaru liczby i powierzchni uszkodzeń w poszczególnych grupach oraz zmierzono żołądkowy przepływ krwi (GBF) laseromierzem przepływowym Dopplera.

Ekspozycja na WRS wywołuje uszkodzenia błony śluzowej żołądka w postaci mikrokrwawień i nadżerek. Uprzednie podanie L-cysteiny i NaHS statystycznie znamiennie zmniejszyło powierzchnię i liczbę uszkodzeń w porównaniu z kontrolą otrzymującą placebo. Tym efektom towarzyszył wzrost żołądkowego przepływu krwi. Indometacyna i celekoksyb, które nasilały uszkodzenia stresowe, spowodowały znaczącą redukcję liczby uszkodzeń i spadek żołądkowego przepływu krwi w stosunku do zwierząt nietraktowanych tymi inhibitorami. W grupach, które otrzymały kapsazepinę z donorami siarkowodoru, zaobserwowano wzrost liczby uszkodzeń i spadek żołądkowego przepływu krwi w porównaniu do zwierząt otrzymujących H2S i NaHS.

Wstępne wyniki wykazują, że donory H2S odznaczają się działaniem gastroprotekcyjnym, które może polegać na zwiększaniu przez te związki przepływu krwi w mikrokrążeniu żołądkowym poprzez mechanizm, w którym zaangażowane są endogenne prostaglandyny oraz aferentne włókna czuciowe o działaniu naczyniorozszerzającym, posiadające na zakończeniach receptory waniloidowe.

PIOTR MAJOR, MACIEJ MATŁOK, JAN KULAWIK, MICHAŁ PĘDZIWIATR, ANDRZEJ BUDZYŃSKI

CHIRURGICZNE LECZENIE CUKRZYCY – MIT CZY SZANSA DLA MILIONÓW CHORYCH?

II Katedra Chirurgii Ogólnej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wraz ze stałym wzrostem liczby osób otyłych rośnie liczba chorób towarzyszących otyłości lub wynikających z nadmiernej masy ciała, w tym cukrzycy typu 2. Niska skuteczność oraz brak trwałych efektów leczenia zachowawczego otyłości olbrzymiej wymusiły poszukiwanie nowych metod leczenia. W wyniku operacyjnego leczenia otyłości dochodzi do zmian adaptacyjnych w zakresie wydzielania hormonów osi jelitowo-mózgowej, czego konsekwencją są korzystne efekty metaboliczne, prowadzące do redukcji masy ciała oraz poprawy w zakresie gospodarki węglowodanowej.

Celem pracy jest określenie zmian zachodzących w zakresie gospodarki wodorowęglanowej po zabiegach chirurgicznego leczenia otyłości.

W okresie od kwietnia 2009 roku do stycznia 2012 roku w II Katedrze Chirurgii Ogólnej UJ CM 61 chorych operowano z powodu otyłości olbrzymiej. Grupę stanowiło 36 kobiet oraz 25 mężczyzn. Średnie BMI wyniosło 50,8 kg/m^2. Zaburzenia gospodarki wodorowęglanowej w okresie przedoperacyjnym obserwowano u 39 zakwalifikowanych do leczenia chorych. U 30 osób rozpoznano cukrzycę typu 2. W tej grupie 23 chorych wymagało intensywnej insulinoterapii. Kolejnych 8 chorych prezentowało objawy nietolerancji glukozy i insulinooporności. Jeden chory wymagał insulinoterapii w przebiegu cukrzycy typu pierwszego. W badanej grupie wykonano 33 operacje laparoskopowej rękawowej resekcji żołądka oraz 28 operacji laparoskopowego wyłączenia żołądkowego. W okresie 12 miesięcy po leczeniu operacyjnym przeprowadzono kontrolę chorych. Spośród 17 chorych wymagających przed leczeniem operacyjnym intensywnej insulinoterapii rok po zabiegu operacyjnym 13 chorych nie wymagało leczenia diabetologicznego, a u 4 chorych zredukowano liczbę przyjmowanych jednostek insuliny lub zastąpiono ją lekami doustnymi.

Wnioski: Chirurgiczne leczenie otyłości u chorych z cukrzyca typu drugiego prowadzi do obniżenia masy ciała oraz poprawy parametrów gospodarki wodorowęglanowej.

KATARZYNA MAJZNER, TOMASZ WRÓBEL, MAŁGORZATA BARAŃSKA

ZASTOSOWANIE MIKROSPEKTROSKOPII ABSORPCYJNEJ W PODCZERWIENI DO ANALIZY IN SITU STRUKTUR DRUGORZĘDOWYCH BIAŁEK W TKANKACH ZWIERZĘCYCH

Zespół Obrazowania Ramanowskiego, Zakład Fizyki Chemicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Kraków

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania analizą *in situ* tkanek zwierzęcych za pomocą metod spektroskopowych w celach diagnostycznych. Wraz z rozwojem technik spektroskopii oscylacyjnej rośnie udział fourierowskiej mikrospektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni (FT-IR) do obrazowania biochemicznego tkanek.

Mikrospektroskopia FT-IR jest techniką, która łączy spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni z mikroskopią optyczną i pozwala na pomiary z mikrometrową rozdzielczością. Dzięki temu możliwa jest dokładna analiza chemiczna materiału przy równoczesnej obserwacji wszystkich jego składników, co zapewnia wysoki poziom selektywności i rozdzielczości. Dodatkowo zastosowanie chemometrii opartej na metodach komputerowych, statystycznych oraz matematycznych w analizowaniu danych chemicznych stanowi potężne narzędzie w badaniach tkanek zwierzęcych w celu obserwowania zmian chorobowych i powiązania ich z procesami biochemicznymi.

Mikrospektroskopia FT-IR pozwala nie tylko na analizę składu biochemicznego i dystrybucji poszczególnych komponentów w tkance, ale również daje możliwość monitorowania zmian struktur drugorzędowych białek w stanach chorobowych, takich jak na przykład cukrzyca.

Znalezienie korelacji między zmianami strukturalnymi białek w tkankach zwierzęcych a zmianami wywołanymi cukrzycą może stać się markerem zmian chorobowych i określania stopnia zaawansowania choroby. Narzędziem wykorzystywanym w tym celu jest model regresji liniowej oparty na pomiarach FT-IR odpowiednich wzorców białek, pozwalający na estymację dystrybucji i zawartości wybranych struktur drugorzędowych białek w tkankach zwierzęcych.

Zbudowany model matematyczny zastosowano do analizy udziału struktur drugorzędowych białek w ścianie naczyń krwionośnych w mysich i szczurzych modelach cukrzycowych (myszy db/db oraz szczury z indukowaną cukrzycą streptozotocynową).

Podziękowania: Badania zostały 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.

MAŁGORZATA MALCZEWSKA-MALEC, DOMINIKA WNĘK, JULITA STANCEL-
-MOŹWIŁŁO, PAULINA JAMROZIK, BEATA KIEĆ-WILK,
ANNA ZDZIENICKA, URSZULA RAŹNY, JOANNA GÓRALSKA,
ANNA GRUCA, DANUTA GALICKA-LATAŁA, MACIEJ MAŁECKI,
ALDONA DEMBIŃSKA-KIEĆ

SUPLEMENTACJA N-3 PUFA I JEJ WPŁYW NA POPOSIŁKOWY POZIOM GIP U PACJENTÓW Z OTYŁOŚCIĄ

Zakład Biochemii Klinicznej, Klinika Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Wpływ kwasów n-3 PUFA na rozwój cukrzycy typu 2 pozostaje niewyjaśniony. U pacjentów z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej poziom GIP (glucose-dependent insulinotropic peptide – GIP) pozostaje w normie lub jest nieznacznie podwyższony.

Cel pracy: Ocena wpływu suplementacji kwasami n-3 PUFA na metabolizm glukozy i lipidów oraz wartość BMI wśród pacjentów otyłych i z normalną masą ciała, na diecie lub bez diety redukcyjnej, oceniany podczas doustnego testu tolerancji glukozy i doustnego testu tolerancji lipidów.

Metody: 50 pacjentów w wieku 25–65 lat zostało zrandomizowanych do następujących grup: kontrolna (BMI≥25, ≤29 kg/m^2) i z otyłością (BMI≥30, ≤40 kg/m^2) na diecie izokalorycznej lub redukcyjnej. Pacjenci z każdej z tych grup zostali przydzieleni do suplementacji n-3 PUFA (1800 mg/dzień) lub placebo. Przed 3-miesięczną dietą wraz z suplementacją oraz po diecie pacjenci przeszli doustny test tolerancji glukozy (DTTG) oraz doustny test tolerancji lipidów (DTTL), podczas którego dokonano pomiaru: poziomu insuliny, FFA, TG i GIP.

Wyniki: Po 3-miesięcznej interwencji pacjenci poddani suplementacji n-3 PUFA wraz z dietą redukcyjną mieli znacząco niższy wskaźnik BMI oraz poziom TG. Podczas DTTL zaobserwowano także poposiłkowy wzrost GIP wyrażony jako pole powierzchni pod krzywą (p=0,05). Zależności takiej nie zaobserwowano po DTTG.

Wnioski: Suplemantacja kwasami n-3 PUFA może mieć wpływ na metabolizm glukozy podczas testu obciążenia lipidami. Kliniczne konsekwencje i ewentualny mechanizm działania wymaga dalszych badań.

Projekt wykonywany w ramach EU FP7 BIOCLAMS, grant agreement no. 244995 oraz grantu K/ZDS/002442.

LAURA MARYŃCZAK

ANALIZA POSTĘPOWANIA ORAZ WYNIKÓW LECZENIA WE WRODZONYCH GUZACH OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie, Oddział Neurochirurgii

Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego w pierwszym roku życia są rzadkie i różnią się od występujących w późniejszym wieku budową histologiczną, umiejscowieniem, dynamiką rozwoju oraz symptomatologią kliniczną, stwarzając duże problemy terapeutyczne w obliczu na ogół złego rokowania.

Przeprowadzono analizę retrospektywną dzieci leczonych w Oddziale Neurochirurgii USD w Krakowie z powodu guza OUN w latach 1998–2010 oraz analizę prospektywną obejmującą nowe przypadki pacjentów przyjętych do Oddziału Neurochirurgii USD. Analizowano objawy, postępowanie oraz wyniki leczenia.

W latach 1998–2011 leczono z powodu nowotworu OUN 34 dzieci, które w momencie rozpoznania nie przekroczyły 1. roku życia, co stanowi 6,73% wszystkich chorych leczonych operacyjnie.

U dwóch pacjentów zdiagnozowano guza prenatalnie, podczas rutynowego badania USG w prawidłowo przebiegającej ciąży, pozostali prezentowali objawy po urodzeniu. Ponad połowa guzów zlokalizowana była nadnamiotowo, rzadziej w tylnym dole czaszki lub w obrębie rdzenia kręgowego, w jednym przypadku guz był wieloogniskowy. Objawy najczęściej związane były ze wzrostem ciśnienia śródczaszkowego. Badaniem histopatologicznym stwierdzano w 53% (18 chorych) guzy o wysokim stopniu złośliwości. Leczenie operacyjne przeprowadzono u 32 pacjentów. U 15 pacjentów zastosowano leczenie uzupełniające w postaci chemioterapii. Śmiertelność ogólna wyniosła 44,11% (15 chorych) i spowodowana była głównie złośliwością procesu nowotworowego. 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. Postępowanie nadal stanowi wyzwanie, jednak jeśli guz jest korzystnie umiejscowiony, może być usunięty i pacjenci mają szansę na prawidłowy rozwój.

EWA MATCZYŃSKA

ANALIZA EKSPRESJI GENÓW – MODELE OPARTE O MAPY KOHONENA

Instytut Informatyki, Katedra Informatyki Stosowanej, Wydział Matematyki i Informatyki, Uniwersytet Jagielloński

W ostatnich latach dokonał się przełom w technologii pomiaru ekspresji genów. Technologia mikromacierzy umożliwiła równoległy pomiar ekspresji wielu tysięcy genów podczas pojedynczego eksperymentu, co sprawiło, że otworzyła się nowa droga masowej analizy danych o ekspresji. Możliwe stało się wykorzystanie tych danych do e.g. wspomagania diagnozy czy analizy odpowiedzi na leki. Ze względu na wielowymiarowość danych mikromacierzowych standardowe procedury statystyczne często zawodzą. Istnieje potrzeba rozwijania nowych metod, w szczególności metod nauczania maszynowego w celu analizy ekspresji genów. Jedną z metod nauczania nienadzorowanego jest tzw. mapa Kohonena, która pozwala na uchwycenie ukrytej struktury danych przy jednoczesnej redukcji wymiarów oraz odporności na szum i błędy. Tworzenie modeli opartych o mapy Kohonena, specyficznych dla zbiorów danych dotyczących ekspresji, pozwala na otrzymanie obiecujących wyników zarówno w kontekście zagadnienia klasyfikacji próbek, jak i identyfikacji genów istotnych dla rozróżnienia grup próbek.

BARTŁOMIEJ MATEJKO

ANALIZA CZYNNIKÓW WPŁYWAJĄCYCH NA EFEKTYWNOŚĆ LECZENIA U PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1 LECZONYCH ZA POMOCĄ OSOBISTYCH POMP INSULINOWYCH

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Cukrzyca typu 1 charakteryzuje się bezwzględnym niedoborem insuliny i koniecznością stałego podawania tego hormonu z zewnątrz. Nowoczesne leczenie tego typu choroby może być realizowane za pomocą wielokrotnych wstrzyknięć insuliny lub za pomocą osobistej pompy insulinowej.

Cel pracy: Pokazanie bezpośrednich zależności między stosowaniem poszczególnych opcji terapeutycznych osobistych pomp insulinowych (m.in. bolusy przedłużone, kalkulator bolusa – KB, ciągłe monitorowanie glikemii – CGMS) a wyrównaniem metabolicznym chorych.

Metody: W badaniu analizowano dane 145 chorych na cukrzycę typu 1 leczonych osobistą pompą insulinową, pozostających pod stałą opieką poradni diabetologicznej przy Katedrze Chorób Metabolicznych UJ CM w Krakowie. Charakterystykę kliniczną grupy chorych z cukrzycą T1DM przeprowadzono na podstawie dostępnej dokumentacji medycznej, zapisów z osobistych pomp insulinowych, glukometrów, analiz biochemicznych oraz autorskiej ankiety. Do statystycznego opracowania wyników użyto pakietu statystycznego Statistica PL 10.0.
Wyniki: Średni wiek badanych pacjentów wyniósł 28,7 lat, średni czas trwania cukrzycy 13,5 roku, natomiast średni czas leczenia osobistą pompą insulinową 4,4 roku. Wyrównanie metaboliczne określone poziomem hemoglobiny glikowanej w badanej grupie wyniosło średnio 7,2% (średnia glikemia 150 mg/dl). Z poziomem HbA1c istotnie korelowała średnia glikemia z pomiarów glukometrycznych, ilość pomiarów glukometrycznych na dobę, ilość jednostek insuliny na kilogram masy ciała, wiek pacjenta, stosowanie funkcji KB oraz systemu CGM. Nie stwierdzono istotnej korelacji ze stosowaniem bolusów przedłużonych. Zbudowano istotny model regresji, który tłumaczy 75% zmienności HbA1c (istotnymi zmiennymi modelu są średnia glikemia, ilość pomiarów glukometrycznych na dobę oraz ilość hipoglikemii na 100 pomiarów glukometrycznych).

Podsumowanie: Uzyskane wyniki mogą pomóc w poprawie efektywności i bezpieczeństwa leczenia pacjentów z cukrzycą typu 1.

PAWEŁ MATUSIK, BARTŁOMIEJ GUZIK, JOANNA PODGÓRSKA,
AGATA SCHRAMM, AGNIESZKA SAGAN, TOMASZ MIKOŁAJCZYK,
RYSZARD NOSALSKI, KRZYSZTOF ŻMUDKA, RYSZARD KORBUT,
TOMASZ GUZIK

CHARAKTERYSTYKA AKTYWACJI LIMFOCYTÓW T WE WCZESNYM OKRESIE OSTRYCH ZESPOŁÓW WIEŃCOWYCH

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

Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zakład Hemodynamiki, Instytut Kardiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Układ odpornościowy odgrywa istotną rolę w patogenezie choroby niedokrwiennej serca, najczęstszej przyczyny zgonów na świecie. Badania ostatnich lat wykazały, iż aktywacja układu immunologicznego wpływa na przebieg ostrych zespołów wieńcowych (ACS).

Metody: Do badania zakwalifikowano 8 chorych z zawałem serca z uniesieniem odcinka ST, 4 chorych bez uniesienia odcinka ST oraz 5 pacjentów kontrolnych ze stabilną chorobą wieńcową, poddanych planowej koronarografii z angioplastyką (PCI) lub bez niej. Badanym chorym pobrano krew obwodową przed zabiegiem, 1, 3, 12 i 24 godziny po reperfuzji oraz 3–5 dni po zabiegu. U 5 chorych przeprowadzono trombektomię, z której u 3 pacjentów pobrano skrzeplinę. Z uzyskanego materiału wyizolowano leukocyty oraz poddano je analizie cytometrycznej przy pomocy przeciwciał monoklonalnych anty-CD3(Per-CP), anty-CD4(PE-Cy7), anty-CD8(APC-H7), anty-CD28(APC), anty-CD25(PE) oraz anty-CD69/anty-CD45(FITC)BD Bioscience.

Wyniki: Przed zabiegiem pacjenci z ACS w porównaniu do pacjentów kontrolnych charakteryzowali się tym, że w ich krwi obwodowej był mniejszy odsetek limfocytów o fenotypie komórek regulatorowych (CD4+CD25+) 8,2% v. 21,6%; p=0,001, ponadto charakteryzowali się tendencją zmniejszonej ekspresji antygenu CD69 na limfocytach cytotoksycznych (1,8% v. 11,8%; p=0,06). W wyizolowanych skrzeplinach zaobserwowano zwiększony odsetek limfocytów podwójnie negatywnych (CD3+CD4-CD8-;DN) oraz prozapalnych limfocytów CD4+CD28null (odpowiednio przed reperfuzją, krew wieńcowa oraz skrzeplina: 3% v. 2,7% v. 9,1% oraz 9,4% v. 6% v. 12,8%). Zarówno u obserwowanych

pacjentów z ACS (n=10), jak również u poddawanych planowanej PCI (n=3) zaobserwowano godzinę po reperfuzji spadek odsetka limfocytów DN z 6,8% do 4,2%. Powrócił on do wartości wyjściowych 24 godziny po zabiegu w grupie kontrolnej, natomiast u pacjentów z ACS utrzymywał się na niemal niezmienionym poziome 3–5 dób po angioplastyce.

Wnioski: Zmniejszony wpływ limfocytów T regulatorowych oraz limfocyty CD4+CD28null i podwójnie negatywne może odgrywać rolę w inicjacji ACS oraz w niedokrwiennym/poreperfuzyjnym uszkodzeniu kardiomiocytów w przebiegu zawału serca.

ANNA MIRCZAK

SPOŁECZNO-DEMOGRAFICZNE DETERMINANTY JAKOŚCI ŻYCIA UWARUNKOWANEJ STANEM ZDROWIA OSÓB STARSZYCH MIESZKAJĄCYCH NA WSI

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

Wstęp: W ciągu ostatnich lat nastąpił wzrost zainteresowania jakością życia uwarunkowaną stanem zdrowia (HRQoL), która wyraża holistyczne podejście do pacjenta, uwzględniając fizyczne, psychiczne i społeczne aspekty zdrowia.

Cel pracy: Celem pracy była analiza wpływu wybranych czynników społeczno-demograficznych na HRQoL osób starszych mieszkających na wsi.

Materiał i metody: Do oceny HRQoL respondentów zastosowano kwestionariusz SF-36, który pozwala mierzyć osiem wymiarów zdrowia: funkcjonowanie fizyczne, ograniczenia w pełnieniu ról z powodu zdrowia fizycznego oraz problemów emocjonalnych, dolegliwości bólowe, ogólne poczucie zdrowia, witalność, funkcjonowanie społeczne i poczcie zdrowia psychicznego.

Analizę zebranego materiału badawczego wykonano za pomocą analizy współczynników korelacji Spearmana oraz eta, 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 stanowiło 100 osób (63 kobiety i 37 mężczyzn) powyżej 60. roku życia mieszkających na wsi. Wśród badanych osób starszych najniższa ocena jakości życia dotyczyła ograniczeń w pełnieniu ról z powodu zdrowia fizycznego, psychicznego i społecznego oraz witalności.

Skala funkcjonowania fizycznego oraz poziom ograniczeń w pełnieniu ról z powodów emocjonalnych korelowała negatywnie z wiekiem, natomiast wykształcenie korelowało dodatnio z funkcjonowaniem fizycznym, zdrowiem psychicznym oraz witalnością. Analiza modelu regresji liniowej pokazała, że wśród osób o miesięcznym dochodzie powyżej 1000 zł funkcjonowanie fizyczne, społeczne oraz witalność były istotnie wyższe niż u osób o dochodzie mniejszym. Funkcjonowanie społeczne oraz poczucie zdrowia psychicznego były istotnie niższe u osób owdowiałych niż u osób żonatych i zamężnych.

Wnioski: Poszczególne wymiary HRQoL osób starszych mieszkających na wsi w sposób istotny determinowane były wiekiem, stanem cywilnym oraz wysokością uzyskiwanych dochodów.

IZABELA MOJSA, JADWIGA STYPUŁKOWSKA, MAŁGORZATA ZALESKA, PAWEŁ NOVÁK

OCENA WPŁYWU LORNOKSYKAMU ZASTOSOWANEGO METODĄ ANALGEZJI Z WYPRZEDZENIEM NA NATĘŻENIE BÓLU POZABIEGOWEGO U PACJENTÓW PODDANYCH CHIRURGICZNEJ EKSTRAKCJI DOLNEGO ZĘBA MĄDROŚCI

Zakład Chirurgii Stomatologicznej, Instytut Stomatologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Cel: Weryfikacja tezy o możliwości modyfikowania procesu nocycepcji w okresie okołooperacyjnym przez zastosowanie lornoksykamu metodą analgezji z wyprzedzeniem w chirurgii dolnego zęba mądrości.

Materiał i metody: Prospektywne, randomizowane z podwójnie ślepą próbą, kontrolowane placebo badanie kliniczne. N=90 (k:m=1,9; wiek=25,37 +/- 5,45): gr. A (n=30) otrzymała 60 min przed zabiegiem doustnie 16 mg lornoksykamu i 60 min po zabiegu doustnie 16 mg placebo; gr. B (n=30) otrzymała 60 min przed zabiegiem doustnie 16 mg placebo i 60 min po zabiegu doustnie 16 mg lornoksykamu; gr. C (n=30) otrzymała 60 min przed zabiegiem doustnie 16 mg placebo i 60 min po zabiegu doustnie 16 mg placebo. Do 24 godzin po zabiegu dokonano indywidualnej oceny bólu przy użyciu VAS, NRS, MPQ oraz odnotowano czas i dawkę przyjętego paracetamolu.

Rezultaty: [1] VAS/NRS: 4 h i 6 h po zabiegu w A i B ($p<0,001$) istotnie niższy niż w C; [2] NRS: 2 h ($p=0,048$) i 8 h ($p=0,014$) w B istotnie niższy niż w C; [3] MPQ: 4 h ($p<0,001$) i 6 h ($p=0,013$) w A i B istotnie niższy niż w C, 2 h w B ($p=0,039$) istotnie niższy niż w C; [4] dawka i czas zażycia paracetamolu: w A i B ($p=0,001$) istotnie niższa niż w C, w C przyjmowano szybciej niż w A, B.

Wnioski: Schemat postępowania przeciwbólowego w A i B zapewnia skuteczniejszą pozabiegową analgezję i zmniejsza całkowitą ilość przyjmowanego paracetamolu w porównaniu z C. Dodatkowo 2 i 8 h po zabiegu w B odnotowano istotnie niższy poziom bólu niż w C, co sugeruje skuteczność tego rodzaju postępowania przeciwbólowego.

BEATA MRÓZEK

KSENINA I FGF-21 U DZIECI OTYŁYCH I U DZIECI Z NIESWOISTYMI ZAPALENIAMI JELIT

Katedra Biochemii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Niedawno odkryte ksenina i czynnik wzrostowy fibroblastów-21 (FGF--21) są ogólnoustrojowymi regulatorami metabolizmu u ludzi. Stężenie kseniny w osoczu u ludzi wzrasta po posiłku, z tego względu uważana jest ona za marker sytości. FGF-21 nasila wchłanianie glukozy, a w trakcie głodzenia organizmu stymuluje lipolizę w tkance tłuszczowej.

Celem pracy była ocena stężenia Kseniny i FGF-21 w osoczu u dzieci z zaburzeniami równowagi energetycznej.

Materiały i metody: Badania przeprowadzono u dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit (IBD), u dzieci otyłych oraz u zdrowych, stanowiących grupę kontrolną. Stężenie kseniny i FGF-21 w osoczu oznaczano metodą radioimmunologiczną przy użyciu zastawów firmy Phoenix Pharmaceuticals.

Wyniki: Średnie stężenie kseniny w osoczu zdrowych dzieci wynosiło 371 ±36 pg/ml. Podobne wartości zaobserwowano u dzieci z IBD w ostrej fazie choroby. W grupie dzieci otyłych stężenie kseniny było znamiennie niższe niż w grupie kontrolnej. Średnie stężenie FGF-21 w osoczu grupy kontrolnej wynosiło 587 ±107 pg/ml, a u dzieci otyłych 580 ±120 pg/ml. Znamiennie wyższe wartości stwierdzono w grupie dzieci z IBD w ostrej fazie choroby (816 ±207 pg/ml; $p<0,05$). Nie stwierdzono znamiennej korelacji pomiędzy stężeniem ksenyny a FGF-21 w badanych grupach.

Wnioski: Ksenina bierze udział w regulacji gospodarki energetycznej u ludzi. Suplementacja kseniną mogłaby być jedną z farmakologicznych opcji w leczeniu otyłości. Stężenia FGF-21 korelują z nasileniem stanu zapalnego u chorych z IBD, dlatego peptyd ten mógłby być markerem zaostrzenia IBD. Brak korelacji pomiędzy stężeniami kseniny a FGF-21 wskazuje na różne mechanizmy regulacji wydzielania tych peptydów.

MAGDALENA MROŻEK-GĄSIOROWSKA

OCENA EFEKTYWNOŚCI KLINICZNEJ LECZNICTWA UZDROWISKOWEGO – SYSTEMATYCZNY PRZEGLĄD LITERATURY

Zakład Ekonomiki Zdrowia i Zabezpieczenia Społecznego, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Celem pracy była ocena efektywności klinicznej leczenia uzdrowiskowego. Ocena skuteczności i bezpieczeństwa lecznictwa uzdrowiskowego została przeprowadzona na podstawie wyników doniesień naukowych odnalezionych w ramach systematycznego przeglądu literatury. Poszukiwano już istniejących, niezależnych raportów oceny technologii (raporty HTA) oraz przeglądów systematycznych dostępnych w The Cochrane Library, bazie MEDLINE, EMBASE oraz CRD. Brano pod uwagę wszystkie prace spełniające kryteria włączenia, które zostały opublikowane do 27 maja 2011 roku. Dodatkowo przeszukano artykuły opublikowane w polskich czasopismach: „Acta Balneologica", „Rehabilitacja Medyczna" oraz „Fizjoterapia Polska" (do analizy włączano zarówno pierwotne badania kliniczne, jak i opracowania wtórne). W wyniku przeszukania elektronicznych baz informacji medycznej odnaleziono 872 pozycje bibliograficzne (w tym powtarzające się tytuły), z których do dalszej analizy włączono 41 doniesień naukowych. Spośród 41 doniesień naukowych wstępnie zakwalifikowanych do analizy na etapie weryfikacji prac na podstawie pełnych tekstów wykluczono 33 pozycje. Pozostałe prace włączono do analizy. Dodatkowo do analizy włączono 11 doniesień naukowych opublikowanych w czasopiśmie „Acta Balneologica" oraz 3 prace opublikowane w „Fizjoterapii Polskiej".

Problemem w ocenie lecznictwa uzdrowiskowego jest jego złożoność. Większość odrzuconych doniesień naukowych dotyczyła tylko wybranych metod medycyny fizykalnej (w tym najczęściej hydroterapii i balneoterapii). Na podstawie wyników odnalezionych prac ocenia się, że lecznictwo uzdrowiskowe istotnie zmniejsza poziom bólu oraz poprawia jakość życia pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów, fibromialgią, przewlekłym bólem odcinka lędźwiowo-krzyżowego kręgosłupa, łuszczycowym zapaleniem stawów, zesztywniającym zapaleniem kręgosłupa oraz reumatoidalnym zapaleniem stawów. Nie raportowano żadnych poważnych działań niepożądanych związanych z leczeniem w uzdrowisku. W większości spośród odnalezionych doniesień naukowych wskazuje się na potrzebę kolejnych, dobrze zaprojektowanych, kontrolowanych badań klinicznych, oceniających lecznictwo uzdrowiskowe.

AGNIESZKA MURZYN

ZNACZENIE INTERPERSONALNEJ TRAUMY DLA NASILENIA PSYCHOPATOLOGII I MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNYCH

Zakład Psychoterapii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Cel: Zbadanie zależności między nasileniem i całościowym charakterem traumy w dzieciństwie i adolescencji a nasileniem objawów i dysfunkcji osobowości w wieku dorosłym. Ocena znaczenia doświadczonej traumy jako czynnika wpływającego na skuteczność psychoterapii. Ocena użyteczności klinicznej polskiej wersji Kwestionariusza Wczesnodziecięcej Traumy (CTQ).

Materiał i metody: Badanie w grupie 169 pacjentów z diagnozą zaburzeń nerwicowych i osobowości, leczonych intensywną, 12-tygodniową, kompleksową psychoterapią w Oddziale Dziennym Zakładu Psychoterapii. W celu zbadania wyjściowego nasilenia zaburzeń oraz efektywności psychoterapii wykorzystano Kwestionariusz Osobowości Nerwicowej oraz Kwestionariusz Objawowy „O". Różne rodzaje traumatycznych doświadczeń i ich nasilenie są opisywane w Kwestionariuszu Wczesnodziecięcej Traumy (Childhood Trauma Questionnaire).

Wyniki: Analiza w grupie 169 pacjentów obu płci w wieku od 18 do 54 lat z diagnozą zaburzeń nerwicowych i osobowości wykazała, że trauma w relacji z opiekunami była udziałem 83% badanych. Dwie trzecie badanych doświadczyło traumy kompleksowej (minimum dwóch jej rodzajów). Najczęstsze było doświadczenie emocjonalnego zaniedbania (72%) i nadużycia (73%). Nadużycia fizyczne i seksualne były opisywane najrzadziej i dotyczyły co piątego pacjenta. Zaobserwowano korelację między początkowym nasileniem objawów nerwicowych i wskaźnikiem dezintegracji osobowości a wielością rodzajów doświadczonej traumy i globalnym jej nasileniem.

MAGDALENA NASTAŁEK

PORÓWNANIE POZIOMU EKSPRESJI CZYNNIKÓW IMMUNOLOGICZNYCH I PARAMETRÓW WŁÓKNIENIA TGF-β, PC I, PC III, GLI -1, VEGF, CD-34 W SUPERNATANCIE Z HODOWLI FIBROBLASTÓW ZE STOPNIEM NASILENIA KLINICZNEJ SKALI VSS W POPULACJI KELOIDÓW I BLIZN PRZEROSŁYCH

Katedra Dermatologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Keloidy i blizny przerosłe stanowią niezłośliwą formę rozrostu tkanki włóknistej, którą cechuje nieprawidłowa odpowiedź na proces gojenia ran u predysponowanych jednostek. Mimo łagodnego obrazu komórkowego i struktury molekularnej blizny przerosłe, a zwłaszcza bliznowce, mogą klinicznie wykazywać agresywny charakter, stanowiąc istotny problem dla pacjentów. Ostatnie lata są źródłem istotnej wiedzy o patofizjologii keloidów i blizn przerosłych, która nadal niestety nie jest do końca jasna. Rodzi to istotny problem terapeutyczny, gdyż żadna ze stosowanych metod leczniczych nie jest w pełni satysfakcjonująca. Niestety dostępne są jedynie nieliczne badania naukowe całościowo porównujące bliznowce z bliznami przerosłymi. W badanej populacji porównano ekspresję wszystkich istotnych w keloidogenezie czynników.

Dla pacjentów z bliznami przerosłymi i keloidami ocenianych łącznie obserwowano istotną statystycznie, średnio nasiloną dodatnią korelację między kliniczną skalą VSS a TGF-β, PC I, PC III, Gli-1, VEGF, CD-34 z supernatantu (średnio r=0.635). Powyższa zależność jest prawdziwa jedynie dla pacjentów z keloidami. Dla pacjentów z bliznami przerosłymi współczynnik korelacji jest bowiem nieistotny statystycznie (p=0.302). Oznacza to, że badane grupy oddzielnie są zbyt małe, by potwierdzić istotność korelacji, ale przy większych grupach należałoby się spodziewać wykazania istotności.

Powyższe badanie potwierdza przydatność klinicznej skali VSS w ocenie zmian bliznowatych. Nie jest ona jednak na tyle czułą metodą, by umożliwić różnicowanie pomiędzy keloidami a bliznami przerosłymi.

KATARZYNA NAZIMEK, KRZYSZTOF BRYNIARSKI

ZAHAMOWANIE PRODUKCJI REAKTYWNYCH FORM TLENU PRZEZ MYSIE MAKROFAGI OTRZEWNOWE INDUKOWANE PRZEZ CZYNNIK SUPRESYJNY LIMFOCYTÓW T I JEGO FRAKCJE RNA

Katedra Immunologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Reakcja nadwrażliwości kontaktowej u myszy podlega regulacji poprzez aktywność antygenowo-swoistych limfocytów T CD8+ supresyjnych oraz ich biologicznie aktywnego produktu – czynnika supresyjnego (TsF). Produkcja TsF jest indukowana dożylnym podaniem syngenicznych erytrocytów znakowanych haptenem (TNP lub oksazolonem) na 7 dni przed naskórną immunizacją myszy tym samym haptenem. Makrofagi jako komórki efektorowe klasycznej reakcji nadwrażliwości kontaktowej mediowanej przez limfocyty Th1 oraz jako komórki prezentujące antygen zdają się być komórkami docelowymi dla działania TsF.

Celem niniejszych badań było określenie, czy TsF i jego frakcje RNA wykazują wpływ na wczesną fazę aktywacji makrofagów – produkcję reaktywnych form tlenu (ROIs).

Materiał i metody: Dawcami makrofagów były 10-tygodniowe myszy szczepu wsobnego CBA/J. Zdolność do produkcji ROIs przez makrofagi otrzewnowe indukowane olejem mineralnym została zmierzona *in vitro* testem chemiluminescencyjnym z użyciem luminolu, po aktywacji makrofagów zymosanem, w obecności różnych frakcji haptenowo-swoistych czynników T supresyjnych oraz mysich gamma-globulin.

Wyniki i wnioski: Istotne zahamowanie tworzenia ROIs, w porównaniu do układu kontrolnego, zaobserwowane zostało w obecności frakcji egzosomów i ekstraktu fenolowo-chloroformowego (mieszaniny DNA/RNA) zarówno TNP-, jak i oksazolonowo-swoistego TsF. Uzyskane wyniki wskazują, iż czynnik supresyjny limfocytów T wywiera wpływ na aktywność makrofagów, zależny od stopnia oczyszczenia TsF (egzosomy surowicy, mieszanina DNA/RNA, RNA oczyszczone chromatograficznie). Niniejszy eksperyment był pierwszym krokiem do ustalenia nowego mechanizmu immunoregulacji indukowanego przez interakcję pomiędzy TsF i makrofagami.

MICHAŁ NESSLER, JACEK PUCHAŁA, ANNA CHRAPUSTA-KLIMECZEK, JUSTYNA DRUKAŁA

ANALIZA PROFILU OSOCZOWYCH CYTOKIN I CZYNNIKÓW WZROSTU U PACJENTÓW LECZONYCH W FAZIE REKONSTRUKCYJNEJ Z ZASTOSOWANIEM MATRYCY DO REGENERACJI SKÓRY INTEGRA®

Oddział Chirurgii Plastycznej i Rekonstrukcyjnej Dziecięcego Centrum Oparzeniowego, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Małopolskie Centrum Oparzeniowo-Plastyczne, Oddział Chirurgii Plastycznej i Rekonstrukcyjnej

Wprowadzenie: Częstość stosowania substytutów skóry w chirurgicznym leczeniu rekonstrukcyjnym, szczególnie u dzieci, rośnie. Faza zapalna w trakcie gojenia rany ma istotny wpływ na końcowy efekt estetyczny. Do chwili obecnej nie przebadano wypływu implantacji matrycy do regeneracji skóry Integra® na wczesną odpowiedź zapalną i stężenia czynników wzrostu pacjentów leczonych rekonstrukcyjnie z zastosowaniem tego materiału.

Metody: Badanie przeprowadzono na grupie 15 pacjentów leczonych rekonstrukcyjnie z zastosowaniem matrycy do regeneracji skóry Integra®. Oznaczono osoczowe poziomy TGF-beta, IFN-alpha, IL-4, IL-8 i FGF-2 przed implantacją Integry oraz w 1., 7. i 25. dniu po zabiegu. Przeprowadzono analizę przebiegu, postępów i efektów leczenia oraz przeanalizowano typowe markery zapalne, takie jak WCC i CRP. Pacjentów podzielono na dwie grupy w zależności od wystąpienia powikłań.

Wyniki: W analizowanej grupie średnio 93% ±14% powierzchni Integry uległo prawidłowemu wgojeniu. Powikłania infekcyjne wystąpiły u 4 pacjentów. Obserwowano istotne ($p<0,05$) zwiększenie poziomu IL-4 i FGF-2 w grupie pacjentów z infekcją w 7. dniu po implantacji Integry. Poziomy TGF-beta były podwyższone w 1., 7. i 25. dniu u pacjentów z infekcją, a stężenia IL-8 pozostały poniżej progu wykrywalności. Nie obserwowano wzrostu WCC i CRP.

Wnioski: Powyższe wyniki dowodzą istnienia zmian stężenia osoczowych cytkin prozapalnych i czynników podczas gojenia rany z obecnością Integry oraz związanych z wystąpieniem powikłań. IL-4 oraz FGF-2 być może w przyszłości będą pełnić rolę wczesnych markerów powikłań. Monitorowanie infekcji u pacjentów z Integrą jest istotne z uwagi na fakt, że po zabiegu operacyjnym są oni leczeni ambulatoryjnie, a wystąpienie powikłań wiąże się z utratą Integry i bardzo złymi efektami leczenia.

KRZYSZTOF NESTEROWICZ

BADANIE SKUTECZNOŚCI E-LEARNINGU W SZKOLENIU CIĄGŁYM FARMACEUTÓW

Pracownia Farmakoepidemiologii i Farmakoekonomiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Platformy e-learningowe stają się ważnym narzędziem w procesie szkoleń ciągłych dla farmaceutów i innych specjalistów opieki zdrowotnej w Polsce. W świetle prawa polskiego szkolenie ciągłe farmaceutów jest obowiązkowe. Ponad 65% czynnych zawodowo farmaceutów uczestniczy w szkoleniach organizowanych przy użyciu platform e-learningowych.

Portal e-duk@cja jest najstarszą i największą platformą przeznaczoną do szkoleń ciągłych. Pierwsza wersja systemu e-duk@cja została udostępniona w lutym 2005 roku.

Celem projektu e-duk@cja jest rozwój metod nauczania na odległość dla farmaceutów objętych szkoleniami ciągłymi. Dziś e-duk@cja ma ponad 13 tysięcy aktywnych użytkowników, około 20 kursów, za które łącznie można uzyskać ponad 40 punktów edukacyjnych, około 600 wizyt różnych użytkowników dziennie i ponad 2 miliony odwiedzin strony rocznie.

Celem badania była ocena efektywności oraz stopnia satysfakcji z kursu e-learningowego w porównaniu do kursów przeprowadzonych metodą tradycyjną w ramach szkoleń ciągłych farmaceutów. Do tego celu została stworzona grupa kontrolna (n=250) i badana (n=540). W badaniach uczestniczyli farmaceuci objęci obowiązkiem szkoleń ciągłych, pracujący w aptekach otwartych, szpitalnych, hurtowniach farmaceutycznych oraz placówkach naukowo-dydaktycznych z całej Polski. Temat kursu to *Monitorowanie i zasady pomiaru ciśnienia tętniczego krwi w aptece oraz wybrane parametry badań laboratoryjnych istotne u pacjentów z nadciśnieniem*. W grupie kontrolnej kurs był przeprowadzony w formie stacjonarnej, natomiast w grupie badanej metodą e-learningową. Dokonano analizy przyrostu wiedzy, przeprowadzając test przed kursem i po nim w obu grupach. Zbadano również poziom reakcji i nauczania w obu typach kursu poprzez zastosowanie 4-stopniowej skali oceny efektywności szkoleń Donalda Kirckpatricka. Analizie poddano również wiek uczestników szkolenia stacjonarnego i e-learningowego.

ANNA NIEPSUJ, RAFAŁ OLSZANECKI

MECHANIZMY PRZECIWMIAŻDŻYCOWEGO DZIAŁANIA AGMATYNY – BADANIA NA MODELU EKSPERYMENTALNYM MIAŻDŻYCY: MYSZY Z WYŁĄCZONYM GENEM DLA APOLIPOPROTEINY E (APOE-KNOCKOUT MICE)

Katedra Farmakologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Agmatyna, powstająca w organizmie jako produkt dekarboksylacji L-argininy, jest związkiem o bardzo różnorodnym spektrum aktywności biologicznej. Unikatowe połączenie działania przeciwzapalnego, hamującego proliferację komórek mięśni gładkich, ochronnego wobec mitochondriów i antyapoptotycznego czyni z agmatyny substancję o potencjalnym działaniu przeciwmiażdżycowym.

Celem pracy było zbadanie wpływu egzogennej agmatyny na rozwój zmian miażdżycowych w mysim modelu tej choroby (myszy z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E – apoE-knockout mice) oraz określenie najbardziej prawdopodobnego mechanizmu przeciwmiażdżycowego działania agmatyny.

Do eksperymentów użyto samców myszy apoE KO w wieku 8 tygodni. Badane były następujące grupy zwierząt: grupa kontrolna (karmiona standardową paszą laboratoryjną, n=8) i grupa badana (agmatyna zmieszana „na zimno" z paszą, podawana w dawce 20 mg/kg m.c/dobę przez 4 miesiące, n=8). Zarówno w ocenie metodą *en face*, jak i metodą *cross section* agmatyna spowodowała znamienne, około 40-procentowe zmniejszenie zmian miażdżycowych w aorcie myszy apoE KO. Barwienie immunohistochemiczne wykazało natomiast, że agmatyna zmniejszała zawartość makrofagów w blaszkach miażdżycowych. Co więcej, okazało się, że związek ten silnie zwiększa poziom lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL), nie wpływając jednocześnie na poziom lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) i trójglicerydów. Dodatkowo badania z użyciem technik biologii molekularnej (Real Time PCR) i proteomiki wykazały wpływ agmatyny na ekspresję czynników zaangażowanych w regulację funkcji mitochondriów i metabolizm lipidów.

Podsumowując, działanie przeciwmiażdżycowe agmatyny jest powiązane z jej wpływem na wątrobowy mitochondrialny metabolizm lipidów i tworzenie się HDL. Być może w przyszłości związki o podobnym mechanizmie działania stanowić będą nową grupę leków stosowanych w prewencji/leczeniu miażdżycy i chorób niedokrwiennych serca.

NATALIA NOWAK

OCENA 1,5-ANHYDROGLUCITOLU JAKO MARKERA WYRÓWNANIA METABOLICZNEGO I MASY URODZENIOWEJ W CIĄŻY POWIKŁANEJ CUKRZYCĄ TYPU 1

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp i cel: 1,5-anhydroglucitol (1,5-AG) jest czułym markerem wyrównania glikemii, szczególnie poposiłkowej, odzwierciedlającym okres ostatnich 1–2 tygodni. Wydalanie tej substancji przez nerki jest uzależnione od wartości progu nerkowego dla glukozy, który w ciąży jest obniżony. Tak więc nie jest jasne, czy można go stosować u ciężarnych z cukrzycą. Oceniono poziom 1,5-AG w grupie kobiet z cukrzycą typu 1 (T1DM) celem odpowiedzi na pytania: (a) Jaka jest zależność pomiędzy poziomem 1,5-AG a kontrolą glikemii oceniana przy użyciu ciągłego monitorowania glikemii (CGM); (b) czy 1,5-AG jest predyktorem masy urodzeniowej.

Materiał i metody: Przebadano 82 ciężarne z T1DM. 1,5-AG mierzono w każdym trymestrze ciąży za pomocą metody immunoenzymatycznej. Dane z urządzenia CGM zebrano u 58 kobiet za okres 7 dni poprzedzających pobranie krwi do oznaczeń 1,5-AG i HbA1c. Dane analizowano przy użyciu współczynników korelacji Pearsona oraz regresji wieloczynnikowej. Wartość predykcyjną stężenia AG w ocenie ryzyka LGA (Large for Gestational Age) oceniano przy użyciu modułu ROC (Reciver Operation Curve).

Wyniki: Stężenie 1,5-AG korelowało znamiennie z indeksami glikemicznymi zarejestrowanych przez CGM: polem pod krzywą glikemii 140 mg/dl ($r=-0,66$, $p=1x10-7$), średnim maksymalnym stężeniem glukozy ($r=-0,58$, $p=4x10-6$) oraz średnim poziomem glukozy ($r=-0,54$, $p=3,1x10-5$). W modelu liniowej regresji wieloczynnikowej 1,5-AG był niezależnie związany z masą urodzeniową ($p<1x10-6$), także po standaryzacji względem HbA1c ($p=1x10-6$). Pole 1,5-AG pod krzywą ROC w ocenie ryzyka LGA wynosiło 0,81 (95% CI: 0,7–0,89) dla przyjętej wartości odcięcia stężenia 1,5-AG równej 4,65 μg/ml.

Wnioski: 1,5-AG jest precyzyjnym wskaźnikiem kontroli glikemii u ciężarnych z T1DM. Ponadto, jego obniżone stężenie w 3. trymestrze ciąży może być prognostyczne dla masy urodzeniowej.

LESZEK NOWIŃSKI, BARBARA FILIPEK

OCENA AKTYWNOŚCI KRĄŻENIOWEJ WYBRANYCH ARYLOPIPERAZYNOWYCH POCHODNYCH HYDANTOINY

Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Celem projektu jest oznaczenie aktywności farmakologicznej nowych arylopiperazynowych pochodnych hydantoiny, szczególnie pod kątem postulowanej przez autorów syntezy aktywności α-adrenolitycznej.

Związek AZ-99, jako prekursor całej serii, w badaniach radioreceptorowych wykazał umiarkowane powinowactwo do receptorów α1-adrenergicznych, a zarazem niskie powinowactwo do receptorów α2-adrenergicznych. Dodatkowo w badaniach *in vivo* na normotensyjnych szczurach wykazał umiarkowaną aktywność przeciwarytmiczną i hipotensyjną. W ramach kolejnych modyfikacji związku AZ-99 otrzymano serię nowych arylopiperazynowych pochodnych hydantoiny. Wstępne wyniki testów farmakologicznych *in vivo* potwierdzają aktywność krążeniową nowej serii zarówno w aspekcie wpływu na ciśnienie tętnicze u normotensyjnego szczura, jak również aktywności przeciwarytmicznej w modelu arytmii indukowanej adrenaliną. W badaniach radioreceptorowych *in vitro* wykazują wysokie powinowactwo do receptorów α1-adrenergicznych, a zarazem niskie powinowactwo do receptorów α2 oraz β-adrenergicznych, co świadczy o wysokiej selektywności. Mając na uwadze interesujące wyniki testów farmakologicznych dla nowej generacji pochodnych związku AZ-99, planuje się przeprowadzenie poszerzonych badań najbardziej aktywnych struktur. Badania te pozwolą określić mechanizm działania i właściwości farmakologiczne badanych struktur oraz ustalić najkorzystniejszą strukturę przestrzenną dla interakcji struktura – aktywność, co będzie stanowić cenną wskazówkę dla syntezy kolejnych struktur.

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

POCHODNE HYDANTOINY – NOWA NADZIEJA W WALCE Z WIELOLEKOPORNOŚCIĄ BAKTERII

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

UMR-MD1, Marseille, France

Zgodnie z szacunkami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), co roku z powodu chorób zakaźnych umiera na świecie ponad 15 mln ludzi. Główną przyczyną tak wysokiej śmiertelności jest zwiększenie oporności patogennych bakterii na dostępne antybiotyki, co związane jest z ich niekontrolowanym, niewłaściwym i masowym stosowaniem. Oporność bakterii nie jest ograniczona do pojedynczych klas antybiotyków. Coraz częściej bakterie stają się oporne na wiele całkowicie niezwiązanych ze sobą związków, co nazwano opornością wielolekową (MDR). Głównym mechanizmem MDR jest aktywny wyrzut leków za pomocą białkowych pomp zlokalizowanych w ścianie komórkowej. Bakterie Gram-ujemne wytworzyły specjalne trójskładnikowe systemy wyrzutu: AcrAB-TolC oraz MexAB-OprM, które transportują antybiotyki z cytoplazmy do środowiska zewnątrzkomórkowego. Jedną ze strategii w walce z MDR jest zablokowanie pomp przez inhibitory (EPIs). Może to zapobiec wyrzutowi antybiotyków do wnętrza komórki, dzięki czemu będą mogły dotrzeć do miejsca działania. W Katedrze Technologii i Biotechnologii Środków Leczniczych Wydziału Farmaceutycznego poszukuje się EPIs w grupie pochodnych hydantoiny. Na podstawie wcześniejszych wyników oraz struktur znanych i aktywnych inhibitorów przeprowadzono syntezę 5-naftylowych pochodnych hydantoiny. Nowe związki zostały przebadane w kierunku aktywności antybakteryjnej – wyznaczając wartość ich minimalnego stężenia hamującego (MIC) oraz zdolności do obniżania wartości MIC różnych antybiotyków. W przypadku najaktywniejszych związków zbadano sposób oddziaływania z antybiotykami (sporządzając odpowiednie izobologramy) oraz ich wpływ na pompę AcrAB- TolC w teście Real-time efflux, wykorzystującym fluorescencyjny barwnik 1,2-DNA. Badania przeprowadzono na szczepach bakterii z gatunku E. Aerogenes. Uzyskane wyniki wskazują na związek posiadający podstawnik beta-naftylowy w położeniu C5 oraz fragment zawierający wolną aminę w położeniu C2, wykazujący obiecujące właściwości inhibicyjne.

MONIKA OTTO , BARBARA FILIPEK

OCENA AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ NOWYCH ANALOGÓW INDOLOAMINOPROPAN-2-OLU JAKO POTENCJALNYCH LEKÓW ADRENOLITYCZNYCH

Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Pozycja leków β-adrenolitycznych w terapii chorób sercowo-naczyniowych jest wciąż bardzo silna. Szczególnie duże nadzieje pokłada się w lekach β-adrenolitycznych III generacji, posiadających dodatkowe właściwości wazodilatacyjne. Ich rosnące znaczenie terapeutyczne sprawia, że nieustannie poszukuje się i wprowadza do terapii nowe leki o coraz korzystniejszych właściwościach terapeutycznych.

Przedstawicielem β-adrenolityków nowej generacji jest karwedilol – nieselektywny antagonista receptorów β- i α_1-adrenergicznych, który poza działaniem hipotensyjnym wykazuje właściwości antyoksydacyjne i antyproliferacyjne oraz korzystnie wpływa na metabolizm (gospodarkę lipidową i metabolizm glukozy). Wysoka skuteczność terapeutyczna karwedilolu oraz szereg dodatkowych korzystnych właściwości farmakologicznych zachęca do poszukiwania nowych, zbliżonych strukturalnie związków, które mogłyby wykazywać podobne, a nawet lepsze właściwości biologiczne.

Rezultatem tych poszukiwań jest zaprojektowanie, otrzymanie i przebadanie związku 2F 109, tj. 1-(1-H-indol-4-yloksy)-3-[[2-(2-metoksyfenoksy)-etylo]amino] propan-2-olu, wykazującego porównywalne lub tylko nieco słabsze od karwedilolu właściwości adrenolityczne, hipotensyjne i przeciwarytmiczne. Korzystne wyniki badań stanowiły podstawę do syntezy nowych analogów związku 2F 109.

Badania te pozwolą na określenie mechanizmu działania i właściwości farmakologicznych oraz ustalenie najkorzystniejszej struktury przestrzennej dla interakcji struktura – aktywność. Określenie zależności pomiędzy strukturą a powinowactwem do receptorów adrenergicznych będzie stanowić cenną wskazówkę przy syntezie dalszych struktur.

PAULINA PALUCHOWSKA, MAŁGORZATA SKAŁKOWSKA, ALICJA BUDAK

CHARAKTERYSTYKA GRONKOWCÓW MRSA IZOLOWANYCH W ŚRODOWISKU SZPITALNYM

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

Pracownia Mikrobiologii ZDL, Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera w Krakowie

Wprowadzenie: Bakterie z gatunku *Staphylococcus aureus* oporne na metycylinę (MRSA, ang. *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*), izolowane w środowisku szpitalnym, zaliczane są do patogenów alarmowych. Wielolekooporność szczepów związana jest z brakiem wrażliwości na wszystkie antybiotyki β-laktamowe, jak również w wielu przypadkach na inne grupy leków stosowane w terapii zakażeń.

Cel pracy: Analiza częstości występowania w populacji szpitalnej gronkowców MRSA.

Materiał i metody: Przedmiot badań stanowiła grupa 85 szczepów MRSA (pierwszy izolat), wyhodowanych od chorych hospitalizowanych w Szpitalu Specjalistycznym im. Ludwika Rydygiera w Krakowie w latach 2008–2010. Identyfikację oraz określenie wrażliwości na wybrane grupy leków przeciwdrobnoustrojowych, z uwzględnieniem wartości MIC (ang. *minimal inhibitory concentration*), przeprowadzono z użyciem systemu Vitek 2 Compact (bioMerieux Polska sp. z o.o.). Występowanie mechanizmów oporności na metycylinę oraz typu MLSB wykryto z wykorzystaniem kart antybiogramowych w systemie Vitek 2 Compact.

Wyniki: Szczepy MRSA wyhodowano głównie od chorych leczonych w oddziałach anestezjologii i intensywnej terapii (34%) oraz chorób wewnętrznych (17%), z materiałów klinicznych pobranych z układu oddechowego (48%) oraz z wymazów z ran i odleżyn (22%).

W badanej grupie 76 szczepów wytwarzało mechanizm oporności MLS_B, wykluczający zastosowanie w terapii makrolidów, linkozamidów oraz streptogramin B. Odnotowano wysoką oporność na klindamycynę (89%), erytromycynę (89%) oraz ciprofloksacynę (81%). Izolaty charakteryzowały się wrażliwością na gentamycynę, trimetoprim/sulfametoksazol oraz rifampicynę, wynoszącą odpowiednio 70%, 96% oraz 98%. Wszystkie analizowane szczepy były wrażliwe na glikopeptydy, linezolid oraz tygecyklinę.

Wnioski: Wśród izolowanych wielolekoopornych szczepów S. aureus stwierdzono współwystępowanie dwóch istotnych klinicznie mechanizmów, związanych z opornością na metycylinę oraz makrolidy, linkozamidy i streptograminy B, które wykluczyły z terapii zakażeń ważne grupy leków.

DOROTA PAWLICA

ZASTOSOWANIE WYBRANYCH PARAMETRÓW GRANULOCYTARNYCH W RÓŻNICOWANIU WRZODZIEJĄCEGO ZAPALENIA JELITA GRUBEGO I CHOROBY LEŚNIOWSKIEGO-CROHNA

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

W obrębie nieswoistych zapalnych chorób jelit, które są przewlekłymi chorobami przewodu pokarmowego, wyróżnia się chorobę Lesniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego. W około 15% przypadków trudno postawić rozpoznanie na podstawie kryteriów klinicznych radiologicznych i histopatologicznych. W niniejszej pracy podjęto próbę znalezienia parametru biochemicznego pomocnego w diagnostyce różnicowej oraz w ocenie aktywności klinicznej choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Oznaczano stężenia białek uwalnianych z granulocytów obojętnochłonnych (elastaza leukocytarna i kalprotektyna) i chemoatraktanta dla granulocytów kwasochłonnych (eotaksyna) produkowanych przez komórki nabłonka jelitowego chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego oraz stężenie białka C-reaktywnego jako markera toczącego się procesu zapalnego. Wykazano podwyższone stężenie elastazy leukocytarnej i kalprotektyny w osoczu krwi pacjentów chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego w porównaniu z wynikami otrzymanymi u pacjentów chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna. Otrzymane wyniki mogą wskazywać na udział granulocytów obojętnochłonnych w patomechanizmie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Stężenie CRP w surowicy krwi pacjentów i stężenie elastazy leukocytarnej w osoczu krwi mogą być potencjalnymi markerami aktywności klinicznej choroby Leśniowskiego-Crohna. Stężenie CRP w surowicy krwi pacjentów i stężenie kalprotektyny w osoczu krwi może być dobrym wskaźnikiem aktywności klinicznej wrzodziejącego zapalenia jelita grubego.

SZYMON PIETRUSZKA, PIOTR KULIG, RADOSŁAW PACH, MAREK SIERŻĘGA, PIOTR KOŁODZIEJCZYK

ANALIZA PARAMETRÓW KLINICZNYCH ZWIĄZANYCH Z RYZYKIEM NIESKUTECZNOŚCI PRZEZSKÓRNEGO DRENAŻU DRÓG ŻÓŁCIOWYCH U CHORYCH Z ŻÓŁTACZKĄ MECHANICZNĄ

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

Wstęp: Niedrożność przewodów żółciowych z następową żółtaczką mechaniczną jest częstym problemem klinicznym u chorych z zaawansowanym procesem nowotworowym. Dotyczy to szczególnie nowotworów dróg żółciowych i pęcherzyka żółciowego, wątroby oraz pola trzustkowo-dwunastniczego. Podstawowym celem terapeutycznym w leczeniu żółtaczki mechanicznej jest zapewnienie odpływu żółci do światła przewodu pokarmowego lub w postaci drenażu zewnętrznego. Po wyczerpaniu metod endoskopowych przezskórny, przezwątrobowy drenaż dróg żółciowych (ang. Percutaneous Transhepatic Biliary Drainage – PTBD) pozostaje jedyną procedurą z zakresu ultrasonografii i radiologii interwencyjnej stosowaną w celu odbarczenia żółtaczki mechanicznej.

Cel: Celem pracy była próba ustalenia parametrów klinicznych decydujących o skuteczności przezskórnego, przezwątrobowego drenażu dróg żółciowych u chorych z żółtaczką mechaniczną.

Materiał i metody: Retrospektywnej analizie poddano parametry kliniczne (wiek, płeć, średnica dróg żółciowych, lokalizacja przeszkody, pierwotne rozpoznanie, wyjściowe stężenie bilirubiny itp.) 100 kolejnych zabiegów PTBD wykonanych u 72 pacjentów z żółtaczką mechaniczną w okresie od sierpnia 2008 do kwietnia 2011 r. w jednym ośrodku specjalizującym się w chirurgicznym leczeniu nowotworów przewodu pokarmowego, wątroby i trzustki.

Wyniki: Istotnym i znamiennym statystycznie czynnikiem wpływającym na skuteczność PTBD jest średnica wewnątrzwątrobowych dróg żółciowych. W przypadkach procedur skutecznych średni wymiar wewnątrzwątrobowych dróg żółciowych wynosił 9,9 mm (SD 3,5), a w przypadkach nieskutecznych średnica wynosiła 8,3 mm (SD 3,1); (p=0,045). Nie stwierdzono, że inne czynniki mają istotny wpływ na skuteczność PTBD. Powikłania wczesne po zabiegu PTBD obserwowano w przypadku 6 procedur (6%).

Wnioski: PTBD jest skuteczną i relatywnie bezpieczną metodą odbarczenia żółtaczki mechanicznej u chorych z zaawansowanym procesem nowotworowym. Stopień poszerzenia wewnątrzwątrobowych dróg żółciowych decyduje o skuteczności PTBD.

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

CYTOMETRYCZNY TEST AKTYWACJI BAZOFILÓW W DIAGNOSTYCE NADWRAŻLIWOŚCI NA NIESTEROIDOWE LEKI PRZECIWZAPALNE

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.
Metody: Badanie zostało wykonane u 18 osób z potwierdzoną wywiadem lub testem prowokacji doustnej nadwrażliwością typu natychmiastowego na NLPZ oraz u 17 osób tolerujących te leki. Testowano 4 alergeny lekowe w trzech stężeniach: kwas acetylosalicylowy (1,2; 0,6; 0,06 mg/ml), ibuprofen (0,2; 0,1; 0,02 mg/ml), diklofenak (0,12; 0,06; 0,006 mg/ml), metamizol (0,5; 0,25; 0,0125 mg/ml). 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 (BD Biosciences). Jako markera aktywacji bazofilów użyto przeciwciała anty-CD63.

Wyniki: Indeks stymulacji (SI), oceniany jako 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. W grupie pacjentów 11 testów BAT było pozytywnych, 2 określono jako IgE-non responder. W grupie kontrolnej 14 testów było negatywnych. Czułość testu BAT równą 81,25% oraz swoistość 75% określono na podstawie krzywej ROC.

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

JOANNA PIOTROWSKA, JAN KRZEK

SPEKTROFOTOMETRYCZNE OZNACZANIE ANTYBIOTYKÓW PEPTYDOWYCH W POSTACI POCHODNYCH DABSYLOWYCH W ZAKRESIE ŚWIATŁA WIDZIALNEGO W SUROWCACH FARMAKOPEALNYCH I PREPARACIE ZŁOŻONYM

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

Opracowano szybką metodę spektrofotometrycznego oznaczenia antybiotyków peptydowych (bacytracyny, polimyksyny B i wiomycyny) po reakcji kondensacji z chlorkiem dabsylu. Dokonano określenia stosunku molowego reagentów i oceny stabilności barwy sulfonamidowych pochodnych w czasie. Dla każdego z antybiotyków metoda charakteryzuje się szerokim zakresem liniowości przy dobrej korelacji (średnie r=0,9972), dobrą precyzją (średni RSD=1,67 ±0,20%) i odzyskiem dla trzech poziomów zawartości (100,90 ±2,57%).

Przydatność metody wykazano poprzez oznaczenie zawartości antybiotyków w odpowiednich substancjach farmakopealnych i preparacie złożonym (dla bacytracyny i polimyksyny B), uzyskując zadowalające wyniki.

MONIKA POBIEGA, AGNIESZKA CHMIELARCZYK, PIOTR B. HECZKO

WIRULENCJA I OPORNOŚĆ NA FLUOROCHINOLONY SZCZEPÓW ESCHERICHIA COLI IZOLOWANYCH Z PRZYPADKÓW ZAKAŻEŃ NOWORODKÓW Z MAŁĄ MASĄ URODZENIOWĄ – BADANIA WSTĘPNE

Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Oporność bakterii na antybiotyki, w tym fluorochinolony, wzrosła znacząco w ostatnich latach, utrudniając leczenie zakażeń. Wyzwaniem jest też obecność licznych czynników wirulencji, niezbędnych do interakcji z gospodarzem, ułatwiających kolonizację i proliferację. Należą do nich białka biorące udział w adhezji i inwazji szczepów do komórek, w transporcie żelaza, enzymy i toksyny.

Celem pracy była analiza częstości występowania genów kodujących wybrane czynniki wirulencji Escherichia coli, przynależności do grup filogenetycznych ECOR i determinacji oporności na fluorochinolony.

Materiały kliniczne zostały pobrane od 205 noworodków. Izolaty hodowano na podłożu MacConkeya (24h, 37^{o}C), identyfikowano (PCR) i oznaczano wrażliwość na ciprofloksacynę (5μg). Określano obecność czynników wirulencji i przynależność filogenetyczną (PCR).

Spośród 85 izolatów zidentyfikowanych jako E. coli (41,5%) najwięcej pochodziło z dróg oddechowych (51,7%) i krwi (22,4%). 12 szczepów było opornych/średniowrażliwych na ciprofloksacynę (14,1%). Do grupy filogenetycznej B2 należało 69,4% izolatów, do D – 18,8%. Potencjalna zdolność do produkcji hemolizyn (gen hlyA) cechowała 8 szczepów (9,4%). Gen papC, kodujący białko będące czynnikiem inicjującym proces formowania fimbrii P na błonie zewnętrznej, był obecny w 42 szczepach (w tym 6 z moczu). Gen fimH (kodujący adhezynę) obecny był w 63 szczepach, zaś gen kodujący aerobaktynę zaangażowaną w transport żelaza iucC – w 38.

Nie wykazano, że szczepy z grupy filogenetycznej B2 były bardziej oporne na fluorochinolony. Nie stwierdzono, by geny papC występowały częściej wśród izolatów z moczu. Zidentyfikowano duży odsetek szczepów z genem fimH, którego obecność nie zawsze świadczy o zdolności do produkcji fimbrii (ich obecność zależy od stanu komórki), jednak jego ekspresja zwiększa możliwość adhezji i kolonizacji tkanek.

BARTŁOMIEJ POCHWAT, GABRIEL NOWAK, MARIUSZ PAPP

MAGNEZ A MECHANIZMY DEPRESJI

Pracownia Badań Radioreceptorowych, Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zakład Neurobiologii, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

Zakład Farmakologii Behawioralnej, Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków

Depresja jest jednym z najcięższych i najczęściej występujących schorzeń psychicznych w XXI wieku. Mimo dostępności szerokiej gamy metod farmakologicznych u znaczącego odsetka pacjentów występuje depresja lekooporna na obecnie dostępne leki. Ponadto w wielu przypadkach ze zmniejszeniem objawów depresji po zastosowaniu leków idzie w parze występowanie szeregu działań niepożądanych, nierozerwalnie związanych z zastosowaną farmakoterapią. Dlatego też poszukiwanie nowych rozwiązań koncentruje się na próbach syntezy nowych leków oraz zmniejszeniu działań niepożądanych medykamentów o uznanej renomie. Przyczynkiem do zgłębienia roli jonów magnezu w patofizjologii depresji były pewne doniesienia naukowe, świadczące o skuteczności tych jonów w zwierzęcych testach depresyjnych i przeciwlękowych. Bezpośrednim tematem pierwszej części tego sprawozdania jest ocena dawkozależności dla jonów magnezu w najlepiej zwalidowanym zwierzęcym (szczury) modelu depresji, tzw. chronicznym łagodnym stresie. Jak wykazują przeprowadzone badania, jony magnezu (podawane w postaci wodoroasparginianu) w pewnej dawce działają podobnie do leku referencyjnego. Druga część tej pracy to ocena dawkozależności dla jonów magnezu w jednym z najbardziej wiarygodnych modeli zwierzęcych (szczury) depresji agitowanej, tzw. modelu bulbektomii. Przeprowadzone eksperymenty pokazują skuteczność określonej dawki magnezu (w postaci wodoroasparginianiu magnezu) podobną do skuteczności leku referencyjnego dla tego modelu. W obydwu modelach do oceny skuteczności dawek jonów magnezu stosowano odpowiednie testy behawioralne.

WIOLETTA POLAK

OCENA EFEKTYWNOŚCI KOSZTÓW PROWADZENIA OPIEKI FARMACEUTYCZNEJ NAD PACJENTAMI Z NADCIŚNIENIEM TĘTNICZYM W POLSCE

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

Cel pracy: Ocena efektywności kosztów prowadzenia opieki farmaceutycznej nad pacjentami z nadciśnieniem tętniczym w Polsce.

Metody: Analiza farmakoekonomiczna z wykorzystaniem metod modelowania (drzewo decyzyjne, model Markova). Oceniane alternatywy: opieka farmaceutyczna, standardowa opieka zdrowotna.

Dane dotyczące efektów i kosztów prowadzenia opieki farmaceutycznej pochodzą z projektu naukowego FONTiC (Opieka Farmaceutyczna w Nadciśnieniu Tętniczym i Cukrzycy). Dane dotyczące efektów i kosztów standardowej opieki zdrowotnej zebrane zostały w przychodniach ogólnodostępnych podstawowej opieki zdrowotnej na terenie województwa małopolskiego (2 przychodnie) i śląskiego (1 przychodnia). Populacja badana: pacjenci dorośli, chorujący na nadciśnienie, stosujący leki hipotensyjne. Wykluczano pacjentów ze zdiagnozowaną schizofrenią, leczonych na depresję, u których w ciągu ostatnich 6 miesięcy wystąpił zawał serca lub udar mózgu, a także pacjentów z uzależnieniem od alkoholu, narkotyków lub leków, po przeszczepach, dializowanych oraz niewidomych. Perspektywa analizy: społeczna. Horyzont czasowy: 12 miesięcy. Długość cyklu: 1 miesiąc. Oceniane efekty: ciśnienie tętnicze krwi, koszty.

Dotychczasowe wyniki: W przychodniach ogólnodostępnych zgromadzono dane dotyczące 233 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (niezależnie od występowania innych schorzeń poza chorobami stanowiącymi kryterium wykluczenia). Wśród pacjentów programu FONTiC pomiary ciśnienia odnotowano w przpadku 13 pacjentów. W modelu Markova, uwzględniającym stany: ‘ciśnienie prawidłowe’ (‘P’), ‘ciśnienie nieprawidłowe’ (‘N’), uzyskano prawdopodobieństwa przejść dla 53 przejść dla grupy badanej oraz 84 przejść dla grupy kontrolnej. Prawdopodobieństwo pozostania w stanie ‘P’ wynosi dla grupy badanej 0,83, dla grupy kontrolnej 0,59. Prawdopodobieństwo przejścia ze stanu ‘N’ do ‘P’ wynosi dla grupy badanej 0,20, dla grupy kontrolnej 0,38.

AGNIESZKA POLCZAK

SWOISTE BIAŁKO WIĄŻĄCE PODJEDNOSTKĘ REGULACYJNĄ KWASÓW NUKLEINOWYCH (PARK7) JAKO POTENCJALNY BIOMARKER W DIAGNOSTYCE UDARÓW NIEDOKRWIENNYCH

Klinika Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Obecnie uznanymi czynnikami prognostycznymi udaru niedokrwiennego mózgu są wiek oraz stopień deficytu neurologicznego. Konieczne jest poszukiwanie nowych biomarkerów przydatnych w ocenie rokowania i efektów leczenia. PARK7 jest białkiem, którego stężenie jest podwyższone w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z zawałem mózgu. PARK7 to produkt genu PARK7, zlokalizowanego na chromosomie pierwszym, w pozycji 36.23. Funkcje tego białka nie są dokładnie poznane, wiadomo jednak, iż chroni ono neurony przed skutkami stresu oksydacyjnego. Celem badania jest sprawdzenie, czy stężenie PARK7 jest czynnikiem prognostycznym u pacjentów z udarem niedokrwiennym. Badanie przewiduje udział trzech grup badawczych: pacjentów z pierwszym w życiu udarem, grupę kontrolną osób, które nie miały udaru mózgu, oraz pacjentów z chorobą Alzheimera, u których dochodzi do uszkodzenia neuronów w mechanizmie innym niż niedokrwienny. U pacjentów krew żylna zostanie pobrana w pierwszej, trzeciej i siódmej dobie od momentu wystąpienia objawów udaru. Stężenie białka zostanie oznaczone w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Rokowanie funkcjonalne zostanie ocenione po trzech miesiącach od zachorowania przy użyciu zmodyfikowanej skali Rankina. Wielkość ogniska niedokrwiennego oceniana będzie w tomografii komputerowej pomiędzy trzecią a piątą dobą. Stopień deficytu neurologicznego zostanie oceniony przy pomocy Skali Udarowej Narodowego Instytutu Zdrowia. Stężenie białka w badanych grupach zostanie porównane za pomocą testu Manna-Whitneya, zaś związek białka z rokowaniem określony będzie przy użyciu regresji logistycznej. Przypuszcza się, że spodziewany wzrost stężenia będzie korelował z wielkością ogniska, a tym samym wpływał na rokowanie. Uzyskane wyniki badań powinny odpowiedzieć na pytanie, czy pomiar stężenia PARK7 we krwi wnosi dodatkową informację dotyczącą prognozy w udarze niedokrwiennym w porównaniu ze standardowymi wskaźnikami.

KAROLINA PYTKA, BARBARA FILIPEK

HBK-14 – PRESYNAPTYCZNY AGONISTA RECETORÓW 5-HT1A JAKO POTENCJALNY LEK PRZECIWDEPRESYJNY

Katedra Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zwiększająca się liczba przypadków depresji oraz ograniczona skuteczność i liczne działania niepożądane leków przeciwdepresyjnych stanowią przesłankę do poszukiwania nowych struktur chemicznych jako potencjalnych leków przeciwdepresyjnych.

Celem pracy było oznaczenie aktywności przeciwdepresyjnej nowej pochodnej fenylopiperazyny o symbolu HBK-14 i wyjaśnienie mechanizmu jej działania. Wykorzystane metody badawcze to: test Porsolta (FST), test czterech płytek, test uniesionego labiryntu krzyżowego, wpływ na temperaturę ciała, test opadania dolnej wargi, ocena ruchliwości spontanicznej, test komina i rotarod, toksyczność ostra.

HBK-14 istotnie statystycznie skracał czas bezruchu myszy w FST w zakresie dawek 2,5–10 mg/kg. Badania radioreceptorowe wykazały istotne powinowactwo HBK-14 do receptora 5-HT1A serotoninergicznego (Ki=23,6 nM). Związek nie wykazał aktywności w FST w obecności WAY-100635 (antagonisty receptora 5-HT1A). HBK-14 znamiennie statystycznie obniżał temperaturę ciała u myszy, a efekt ten nie występował po uprzednim podaniu WAY-100635. Związek wykazał aktywność w teście czterech płytek oraz teście uniesionego labiryntu krzyżowego w dawkach 2,5 i 5 mg/kg. Ponadto HBK-14 nie wpływał na ruchliwość spontaniczną i nie upośledzał koordynacji ruchowej myszy w dawkach aktywnych w FST. Rozpiętość pomiędzy kalkulowaną dawką LD50= 95,2 mg/kg a dawkami aktywnymi w FST może świadczyć o bezpieczeństwie stosowania tego związku.

Otrzymane wyniki sugerują, iż związek HBK-14 wykazuje potencjalną aktywność przeciwdepresyjną, przewyższającą dobrze znane leki przeciwdepresyjne, jak escitalopram i imipramina. Związek posiada również istotną aktywność anksjolityczną. Wstępna ocena profilu farmakodynamicznego HBK-14 wskazuje, iż mechanizm działania HBK-14 może być związany z układem serotoninergicznym, a dokładnie z agonizmem w stosunku do presynaptycznych receptorów 5-HT1A. Otrzymane wyniki stanowią mocną przesłankę do podjęcia dalszych, poszerzonych badań farmakologicznych.

AGNIESZKA ROSŁAWIECKA, TADEUSZ PRZEWŁOCKI

ANGIOPLASTYKA TĘTNIC NERKOWYCH

Instytut Kardiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Klinika Chorób Serca i Naczyń Krakowskiego Szpitala Specjalistycznego im. Jana Pawła II

Zwężenie tętnicy nerkowej (RAS) to ważna przyczyna dializoterapii i najczęstsza przyczyna wtórnego nadciśnienia tętniczego.

Cel badania: Ocena wpływu przezskórnej angioplastyki tętnic nerkowych (PTA) na funkcję nerek i kontrolę ciśnienia tętniczego (HA).

Metody: 117 chorych (61M) w wieku 63,3 ±11,6 (20–82) lat ze 139 istotnymi zwężeniami tętnic nerkowych. Wszyscy leczeni z powodu HA; 46 przebyło kryzę HA (39,3%), 6 (5,1%) obrzęk płuc; eGFR<60 ml/min u 59 (50,4%). Wskazaniem do PTA była zła kontrola HA i/lub upośledzona funkcja nerek. Wyjściowo oraz 6 i 12 miesięcy po PTA wykonano holter ciśnieniowy; kontrolowano poziom kreatyniny w surowicy (SCC) i wskaźnik eGFR.

Wyniki: Wszystkie zabiegi PTA były skuteczne. Obustronną PTA wykonano u 22 (18,8%) chorych, PTA tętnicy jedynej czynnej nerki u 11 (9,4%). Poważne komplikacje wystąpiły u 3 (2,5%): 2 ostre niedokrwienia kończyny, 1 krwiak okołonerkowy. W średnim czasie obserwacji 5,2 ±15,7 miesięcy stwierdzono: zgon u 8 chorych, zawał serca u 7, udar u 4, TIA u 2, obrzęk płuc u 1, przełom HA u 3, restenozę u 12, dializoterapię rozpoczęło w trzech przypadkach. PTA innego obszaru naczyniowego wykonano u 6 pacjentów. Po roku w całej grupie średnie dobowe wartości ciśnienia skurczowego spadły z 133 ±17,7 do 128,4 ±13,9 mHg (p=0.048), rozkurczowego z 76,1 ±10,3 do 7,8 ±8.8 mmHg (p=0.07), a wartość SCC spadła ze 126 ±62,4 do 114 ±65,6 umol/l (p=0.05). Wykazano wpływ wyjściowego eGFR na przyrost eGFR (p=0,003, r=-0.37).

Wnioski: PTA jest skuteczną metodą leczenia RAS. Umożliwia poprawę funkcji nerek oraz kontroli HA u około połowy chorych (efekty niezależne). Największą szansę na poprawę funkcji nerek stwierdzono u chorych z wyjściowym eGFR<30 ml/min. Poważne zdarzenia sercowo-naczyniowe wystąpiły u 13% chorych w 3-letniej obserwacji.

PIOTR ROZPONDEK

WYSTĘPOWANIE ANTYGENU HLA-G I WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW ZAPALNYCH U CHORYCH NA NIESWOISTE ZAPALENIA JELIT

Katedra Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: HLA-G jest antygenem HLA klasy I charakteryzującym się ograniczoną dystrybucją w tkankach oraz obecnością izoformy rozpuszczalnej i komórkowej. Udokumentowano zróżnicowaną prezencję HLA-G w chorobach autoimmunologicznych, nowotworowych i innych. W ostatnim czasie pojawiły się pojedyncze doniesienia na temat odmiennej ekspresji antygenu HLA-G w chorobie Leśniowskiego-Crohna (ChL-C) i wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego (WZJG). Stwarza to nadzieję na zbadanie związku HLA-G z tymi chorobami i potencjalne wykorzystanie oznaczania HLA-G w różnicowaniu tych niekiedy trudnych diagnostycznie chorób.

Założenia i cel pracy: Celem pracy będzie ocena występowania w surowicy krwi rozpuszczalnego antygenu HLA-G u chorych na ChL-C i WZJG oraz próba wykorzystania go do różnicowania nieswoistych zapaleń jelit.

Metody: Badanie przeprowadzono u 150 chorych, których podzielono na 3 grupy: (1) 57 chorych z ChL-C, (2) 51 chorych z WZJG, (3) 42 chorych z zespołem jelita nadwrażliwego (grupa kontrolna). Badania obejmowały: ocenę aktywności klinicznej i endoskopowej ChL-C i WZJG, morfologię krwi, CRP, żelazo, białko całkowite, albuminy, oznaczenie w surowicy krwi sHLA-G metodą ELISA (BioVendor, Cz).

Wyniki: Stężenie sHLA-G w surowicy pacjentów z ChL-C wynosiło 52,24 ±39,4 U/ml, z WZJG 61,83 ±58,77 U/ml, natomiast w grupie kontrolnej 55,26 ±51,25 U/ml. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu sHLA-G pomiędzy badanymi grupami. Nie udowodniono również związku pomiędzy stężeniem sHLA-G a czasem trwania choroby, jej aktywnością oraz stosowanym leczeniem.

Wnioski: Stężenie sHLA-G w surowicy pacjentów chorych na nieswoiste zapalenia jelit nie może być wykorzystane do diagnostyki i oceny skuteczności leczenia. Z uwagi na sprzeczne wyniki dotychczasowych doniesień wskazane są dalsze badania, zmierzające do ustalenia roli sHLA-G w tych chorobach.

MAGDALENA RUTKOWSKA, MACIEJ SIEDLAR

OCENA WYSTĘPOWANIA MUTACJI W GENACH TGFBR1 I TGFBR2 U DZIECI Z USTALONYM ROZPOZNANIEM PRZEJŚCIOWEJ HIPOGAMMAGLOBULINEMII WIEKU DZIECIĘCEGO.

Zakład Immunologii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Przejściowa hipogammaglobulinemia wieku dziecięcego (transient hypogammaglobulinemia of infancy, THI) jest jednym z najczęściej występujących pierwotnych niedoborów odporności humoralnej u dzieci, a jej przyczyny ciągle pozostają nieznane. Dotychczasowe badania własne prowadzone w grupie dzieci z THI sugerują prawdopodobny udział limfocytów T regulatorowych o fenotypie CD4+CD25highFoxp3+ w patomechanizmie THI. Uwzględniając kluczową rolę receptorów wiążących czynnik TGF-β (transforming growth factor-β) w przekazywaniu sygnału niezbędnego do syntezy czynnika transkrypcyjnego Foxp3, przeprowadzono analizę ewentualnych nieprawidłowości genów kodujących receptory TβRI i TβRII, odpowiednio TGFBR1 oraz TGFBR2, w grupie dzieci z ustalonym rozpoznaniem THI (n=20). Grupę odniesienia utworzyły dzieci, u których wykluczono niedobór odporności (n=20), oraz dzieci z innym zdefiniowanym niedoborem odporności humoralnej, tj. pospolitym zmiennym niedoborem odporności (common variable immunodeficiency, CVID) (n=10). Analizę sekwencji badanych genów przeprowadzono metodą sekwencjonowania bezpośredniego. W grupie pacjentów THI nie stwierdzono żadnego defektu genu TGFBR1. Z kolei w grupie dzieci z CVID u 3 spośród 10 pacjentów wykryto obecność polimorfizmu A1125C w obrębie genu TGFBR1, we wszystkich przypadkach w postaci heterozygotycznej. Zmiany tej nie obserwowano w grupie dzieci z THI ani w grupie kontrolnej. Częstość występowania tego polimorfizmu (30%) u dzieci z CVID nie może być odniesiona do danych literaturowych, gdyż jak dotąd nie prowadzono tego typu badań na grupie chorych z pierwotnymi niedoborami odporności. W przypadku genu TGFBR2 nie stwierdzono żadnych zmian w jego obrębie zarówno w grupie badanej (THI, CVID), jak i w grupie kontrolnej. Uzyskane wyniki sugerują, iż patomechanizm zaburzonej immunoregulacji u dzieci z THI nie ma związku z występowaniem mutacji w genach kodujących receptory dla czynnika TGF-β.

AGNIESZKA SAGAN, WOJCIECH MROWIECKI, TOMASZ MIKOŁAJCZYK, RYSZARD KORBUT, TOMASZ J. GUZIK

CHARAKTERYSTYKA LIMFOCYTÓW T W TĘTNIAKACH AORTY BRZUSZNEJ (AAA) – OBSERWACJE WSTĘPNE

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

Oddział Chirurgii Naczyniowej Szpitala J. Grandego w Krakowie

Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Tętniak aorty brzusznej (abdominal aortic aneurysm – AAA) jest nieodwracalnym patologicznym poszerzeniem światła aorty o przynajmniej 50% w jednym segmencie. Dotyka około 3–4% osób powyżej 50. roku życia. Odsetek chorych wzrasta nawet do 7% w grupie osób powyżej 60. roku życia. Przyjmuje się, że rozwój procesu zapalnego jest kluczowy w patomechanizmie powstawania AAA.

Celem badania jest poznanie charakterystyki limfocytów T w AAA.

Metody: Komórki izolowane metodą trawienia enzymatycznego pozyskano ze ściany i tkanki okołonaczyniowej tętniaka pobranej z (I) fragmentu w pobliżu szyi tętniaka, (II) części przejściowej (tzw. *thin thrombus*) i (III) części o najgrubszej średnicy tętniaka (tzw. *thick thrombus*). Wyizolowane komórki poddano analizie przy pomocy cytometrii przepływowej.

Wyniki: Stwierdzono ponad 10-krotnie większy naciek limfocytów T w obrębie ściany tętniaka, który wynosi odpowiednio dla części (I) 236 ±178, (II) 202 ±131, (III) 255 ±205 komórek/mg tkanki w porównaniu z kontrolą (fragment niezmienionej patologicznie aorty wstępującej): 23 ±16. Także naciek limfocytów T w tkance okołonaczyniowej tętniaka jest zwiększony i wynosi odpowiednio dla części (I) 317 ±156, (II) 480 ±370, (III) 547 ±565 komórek/mg tkanki, w porównaniu z kontrolą (tkanka okołonaczyniowa niezmienionego fragmentu aorty zstępującej): 154 ±241 komórek/mg tkanki.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują na obecność zwiększonej ilości limfocytów T w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu do niezmienionej patologicznie ściany aorty.

MAŁGORZATA SEKUŁA, KATARZYNA MIĘKUS, MARCIN MAJKA

RECEPTORY CHEMOKINOWE CXCR4 I CXCR7 JAKO POTENCJALNE MIEJSCA TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wprowadzenie: Receptory chemokinowe należą do rodziny siedmiotransbłonowych receptorów, których aktywność jest zależna od białek G. Do tej grupy zaliczają się m.in. receptory CXCR4 i CXCR7, które aktywnie uczestniczą zarówno w procesach fizjologicznych, jak i w procesie kancerogenezy – szczególnie w angiogenezie, przerzutowaniu oraz wzroście guzów nowotworowych. Obniżenie aktywności badanych receptorów, przy wykorzystaniu techniki interferencji RNA, umożliwia badanie funkcji tych genów oraz śledzenie szlaków sygnalizacyjnych związanych z ich aktywacją.

Cel pracy: Celem pracy jest zbadanie roli receptorów chemokinowych CXCR4 i CXCR7 w biologii komórek raka szyjki macicy na przykładzie linii komórkowej HTB-35.

Materiały i metody: Linia komórek raka szyjki macicy z trwale obniżoną ekspresją receptorów CXCR4 i CXCR7 (HTB-35 shCXCR4/shCXCR7) oraz linia kontrolna HTB-35 shCONTROL/shLacZ zostały wyprowadzone przy wykorzystaniu wektorów lentiwirusowych. W celu oceny udziału obu receptorów w proliferacji komórek przeprowadzono test proliferacji oraz test MTT. Ekspresję genów związanych z przerzutowaniem i angiogenezą oceniono przy użyciu reakcji Real-Time PCR. Wpływ obniżenia ekspresji receptorów CXCR4 i CXCR7 na wzrost guzów nowotworowych oceniono również w warunkach *in vivo* na modelu mysim.

Wyniki: Potwierdzono obniżenie ekspresji receptorów CXCR4 i CXCR7 na poziomie mRNA. W przypadku komórek linii HTB-35 shCXCR4/shCXCR7 zaobserwowano spadek tempa proliferacji w porównaniu z grupami kontrolnymi oraz modulację ekspresji genów związanych z procesem nowotworzenia. Przypuszcza się, że osie SDF-1/CXCR7, I-TAC/CXCR7 oraz SDF-1/CXCR4 są potencjalnymi miejscami terapii przeciwnowotworowej, a ich zahamowanie pozwoli opracować nowe strategie leczenia kobiet cierpiących na raka szyjki macicy.

EMILIA SIKORA, KRZYSZTOF BRYNIARSKI

BADANIA STRUKTURY I FUNKCJI CZYNNIKA SUPRESYJNEGO SWOISTEGO DLA NADWRAŻLIWOŚCI KONTAKTOWEJ WYWOŁANEJ PRZEZ OKSAZOLON (OX-TSF) U MYSZY

Katedra Immunologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Cel: Celem pracy było określenie struktury i funkcji czynnika supresyjnego (OX-TsF) wydzielanego przez limfocyty T i wykazującego zdolność zahamowania reakcji nadwrażliwości kontaktowej (CS) na oksazolon u myszy szczepu CBA/J.

Metody: Czynnik supresyjny indukowany jest dożylnie syngenicznymi erytrocytami znakowanymi oksazolonem i immunizacją naskórną tym samym haptenem. OX-TsF uzyskano w nadsączu z hodowli komórek supresyjnych i izolowano jako frakcję mieszaniny DNA/RNA (OX-TsF PCE) metodą Chomczyńskiego lub metodą chromatografii jako frakcję czystego RNA (OX-TsF QRNA), którego wielkość oceniono elektroforetycznie. Alternatywnie, z nadsączy hodowli limfocytów supresyjnych metodą ultrawirowania izolowano egzosomy. Biologiczna aktywność czynnika testowano w mysim modelu CS. Wpływ OX-TsF na indukcję apoptozy komórek efektorowych CS *in vitro* oceniono cytofluorymetrycznie.

Wyniki: Wykazano, że funkcjonalnie aktywną składową OX-TsF jest regulacyjny RNA. Regulacyjną funkcję obserwowaną dla PCE i QRNA OX-TsF charakteryzuje efekt dawki, a rozdział czynnika w żelu agarozowym dowodzi, że frakcja rybonukleinowa zawiera odcinki o długości 10–90 nukleotydów. Badania z wykorzystaniem myszy pozbawionych genu dla miRNA-150 dowodzą, że cząstka ta może odpowiadać za supresyjną aktywość OX-TsF.

Aktywność OX-TsF realizuje się w sposób antygenowo swoisty. Właściwość tę warunkuje wydzielanie OX-TsF do *nadsącza* hodowli limfocytów supresyjnych w postaci egzosomów. Stanowią one mechanizm transportujący supresyjne RNA od komórek regulacyjnych do efektorowych, a błona mikropęcherzyka zapewnia miejsca wiążące fragmenty przeciwciał, umożliwiające dostarczenie sygnału w sposób antygenowo swoisty do ściśle określonej komórki efektorowej. Wywołanie supresji przez OX-TsF zachodzić może na drodze indukcji apoptozy komórek efektorowych CS.

Podsumowanie: Praca opisuje nowy mechanizm regulacji nadwrażliwości kontaktowej przez egzosomy transportujące cząstki interferującego RNA w sposób antygenowo-specyficzny od komórek supresyjnych do efektorowych CS.

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

FEMME FATALE, CZYLI PATOGENEZA CHOROBY HASHIMOTO

Katedra i Klinika Endokrynologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

O/K Kliniki Endokrynologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Częstość występowania autoimmunologicznego zapalenia tarczycy typu Hashimoto (HT) szacuje się wśród rasy kaukaskiej na około 5%, przy czym 10 razy częściej chorują kobiety. W ostatnich latach obserwuje się zdecydowany wzrost liczby nowo rozpoznawanych przypadków. Choroba rozwija się w wyniku współwystępowania czynników genetycznych i środowiskowych. Ponieważ ma ona charakter wielogenowy, jednoznaczne wskazanie istotnych w diagnostyce czynników predysponujących do jej rozwinięcia nastręcza wielu problemów. Uzyskane dotychczas wyniki są rozbieżne, a przyczyny genetyczne pozostają wciąż niejasne, choć wiadomo, że odgrywają one główną rolę w rozwoju choroby.

Opisane dotychczas geny o potencjalnie istotnym znaczeniu w patogenezie HT to geny kodujące białka biorące udział w inicjowaniu i regulacji odpowiedzi immunologicznej (HLA-DR – główny układ zgodności tkankowej, klasa II; CTLA4 – cytotoksyczne białko 4 limfocytów T; PTPN22 – niereceptorowa fosfataza tyrozynowa 22) oraz gen antygenu swoistego dla tarczycy (Tg – tyreoglobulina).

Celem projektu realizowanego w Katedrze i Klinice Endokrynologii Collegium Medicum UJ jest potwierdzenie roli czynników genetycznych w rozwoju HT przez udowodnienie, że postać kliniczna choroby zależy od specyficznego wzoru dziedziczenia pojedynczych mutacji w wyżej wymienionych genach oraz genie PDS, które wybrane zostały przez nasz zespół na podstawie literatury.

Badanie typu *case-control* zostanie przeprowadzone na 400 niespokrewnionych ze sobą pacjentach z chorobą Hashimoto oraz odpowiedniej grupie kontrolnej. Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (ang. single nucleotide polymorphism, SNP) w genach Tg, PTPN22 i CTLA4 zostaną zbadane metodą OpenArray, natomiast badanie drugiego egzonu genu HLA-DRB1 i wszystkich rejonów kodujących genu PDS planuje się przeprowadzić metodą elektroforezy kapilarnej. Wyniki badań genetycznych zostaną skorelowane z odpowiedziami udzielonymi przez uczestników w ankiecie środowiskowej.

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

PRZECIWMIAŻDŻYCOWY EFEKT AGONISTY ANGIOTENSYNY 1-7 NA WCZESNYM ETAPIE ROZWOJU MIAŻDŻYCY. WPŁYW NA INFILTRACJĘ KOMÓREK T DO TKANKI TŁUSZCZOWEJ OKOŁOAORTALNEJ

Katedra Chorób Wewnętrznych i Medycyny Wsi, 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-/- (Taconic) żywionych *ad libitum* paszą standardową (chow diet), służących jako model wczesnej miażdżycy. Zarówno myszom ApoE-/-, jak i myszom z grupy kontrolnej (C57BL/6) podawano placebo lub substancję AVE0991 zmieszaną z paszą. Poziom infiltracji limfocytów T do tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej został zmierzony przy użyciu 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+) infiltrująca tkankę tłuszczową okołonaczyniową była wyższa w grupie myszy ApoE -/- (639 ±153 komórek/mg) niż w grupie kontrolnej (310 ±111 komórek/mg, $p<0.05$). Natomiast w grupie myszy ApoE-/- 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+ wyizolowanych z tłuszczu okołoaortalnego była wyższa w grupie myszy ApoE-/- (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+ i DN (CD4-/CD8-). Liczba limfocytów T CD4+ i limfocytów T CD4-/CD8- w grupie leczonej AVE0991 była niższa (130 ±35, 28 ±14 komórek/mg odpowiednio) niż w grupie myszy ApoE-/- (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-/- szesnastotygodniowych). Agonizm receptora Mas dla Ang 1-7 przy pomocy AVE0991 efektywnie hamuje mechanizm rozwoju miażdżycy.

AGNIESZKA SŁOWIK, ELŻBIETA SZCZYGIEŁ

CZY POLIMORFIZMY NA CHROMOSOMIE 9P21.3 ZWIĄZANE Z RYZYKIEM ZAWAŁU SERCA MAJĄ WPŁYW NA RYZYKO UDARU NIEDOKRWIENNEGO MÓZGU W POPULACJI POLSKIEJ

Katedra i Klinika Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wprowadzenie: Udar mózgu stanowi trzecią co do częstości przyczynę zgonów i jest najczęstszym powodem niesprawności w krajach rozwiniętych. Charakteryzuje się nagłym wystąpieniem ogniskowego lub uogólnionego zaburzenia czynności mózgu, którego objawy (jeżeli wcześniej nie doprowadzą do śmierci) trwają dłużej niż 24 godziny i wynikają wyłącznie z przyczyny naczyniowej.

Ryzyko zachorowania na udar wzrasta wraz z wiekiem i jest większe u osób z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą, migotaniem przedsionków. Badania epidemiologiczne u członków rodzin chorych na udar oraz u bliźniąt udokumentowały, że istotny wpływ na ryzyko choroby mają również czynniki genetyczne. Stwierdzono, że 2/3 populacyjnego wskaźnika ryzyka udaru mózgu jest zależne od czynników genetycznych.

Cel pracy: Zbadanie, czy polimorfizmy na chromosomie 9p 21.3, zwiększające ryzyko zawału serca, wykryte podczas przeszukiwania całego genomu ludzkiego (ang. genome-wide – assotiation study) mają wpływ na ryzyko udaru niedokrwiennego mózgu bez uwzględniania jego etiologii, czy na ryzyko specyficznej etiologii udaru niedokrwiennego mózgu w populacji polskiej.

Metody: Badania wybranych polimorfizmów u pacjentów i w grupie kontrolnej wykonano za pomocą aparatu Real Time PCR (TaqMan7900) w Laboratorium Genetyki Kliniki Neurologii.

Wyniki: Analiza wykazała, że polimorfizm rs7044859 jest czynnikiem ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu spowodowanego chorobą dużych naczyń w modelu regresji logistycznej uwzględniającej wiek, płeć, występowanie choroby niedokrwiennej i zawału serca, natomiast polimorfizm rs496892 jest czynnikiem ryzyka udaru niedokrwiennego mózgu spowodowanego chorobą małych naczyń.

EMILIA STANISZEWSKA, KAMILLA MAŁEK

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII OSCYLACYJNEJ DO MONITOROWANIA PROFILI BIOCHEMICZNYCH HOMOGENATÓW POCHODZĄCYCH Z ORGANÓW SZCZURZYCH

Zespół Obrazowania Ramanowskiego, Zakład Fizyki Chemicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Spektroskopia rozpraszania Ramana i spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni, jako komplementarne względem siebie metody spektroskopii oscylacyjnej, umożliwiają badanie materiałów biologicznych, takich jak komórki, tkanki, płyny ustrojowe. Na uzyskanych widmach oscylacyjnych można zaobserwować pasma charakterystyczne dla takich biokomponentów, jak białka, kwasy nukleinowe, lipidy czy węglowodany. Dlatego zarejestrowane profile spektralne próbek biologicznych niosą z sobą dokładną informację o ich składzie chemicznym. Spektroskopia oscylacyjna umożliwia pomiary z dużą selektywnością i rozdzielczością, dlatego nawet pojedyncze pomiary mogą charakteryzować badaną próbkę.

Celem prezentowanej pracy było zarejestrowanie zmian profili biochemicznych organów szczurzych: mózgu, płuc, serca, jelit, wątroby oraz nerek. Badane próbki były przygotowane jako homogenaty z PBS (zbuforowany roztwór soli fizjologicznych o pH 7,4) w stosunku objętościowym 9:1. Następnie wysuszono 20-30 ml otrzymanego homogenatu i zarejestrowano zestaw widm: Ramana oraz ATR FT-IR (spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni z transformatą Fouriera). Widma Ramana uzyskano przy użyciu spektrometru Witec alpha 300, wyposażonego w mikroskop konfokalny i laser o linii wzbudzającej 785 nm. Widma FT-IR otrzymano za pomocą spektrometru Alpha BRUKER w trybie ATR FT-IR.

Badania podsumowano, wskazując na możliwości i ograniczenia zastosowania obu spektroskopii oscylacyjnych do badań homogenatów. Na widmach Ramana możemy zidentyfikować białka (1650–1670 cm-1) z ich wiązaniami disiarczkowymi (ok. 500–550 cm-1), lipidy (w zakresie 1400–1500 cm-1), kwasy nukleinowe (700–900 cm-1). Natomiast analiza widm absorpcyjnych w podczerwieni pozwala na identyfikację między innymi białek (1540–1650 cm-1) czy lipidów (1730–1740 cm-1). Celem niniejszej pracy jest ocena profili biochemicznych poszczególnych narządów w widmach Ramana i w podczerwieni oraz znalezienie zespołów markerów dla każdego z nich.

DOMINIKA STETTNER

ZASTOSOWANIE ELEKTROKARDIOGRAFII PŁODOWEJ W ODPROWADZENIACH POŚREDNICH W MONITOROWANIU DOBROSTANU PŁODU

Katedra Ginekologii i Położnictwa, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Prawidłowa ocena dobrostanu płodu od lat stanowi ogromne wyzwanie. Badanie stanu ogólnego płodu może dać wynik zupełnie prawidłowy, podczas gdy płód obarczony jest wadą uniemożliwiającą samodzielne życie zewnątrzmaciczne. Istnieją metody oceny budowy i wewnątrzmacicznego rozpoznania wad rozwojowych płodu (ultrasonografia, badanie dopplerowskie płodu), jednak ultrasonografia nie jest w stanie udzielić odpowiedzi na wszystkie pytania dotyczące dobrostanu płodu.

Elektrokardiografia pośrednia polega na rejestracji potencjałów serca płodu z użyciem elektrod umieszczonych na skórze brzucha ciężarnej. W celu ujednolicenia odczytów zapisów pomiędzy rożnymi ośrodkami przyjęto standardy dotyczące pozycji ciężarnej podczas zapisu, jak również rozmieszczenia elektrod. W czasie stosowania odprowadzeń pośrednich pojawiają się zakłócenia, których źródłem są potencjały elektryczne mięśni brzucha, tułowia, macicy oraz interferujące zespoły QRS matki, jednak w ostatnich latach wprowadzone zostały liczbowe analizy elektrokardiogramów płodowych z wykorzystaniem technik komputerowych. Nasz elektrokardiograf wyposażony jest w system KOMPOREL przeznaczony do monitorowania płodu w oparciu o rejestrację, wizualizację i bieżącą analizę sygnałów bioelektrycznych. Algorytmy przetwarzania sygnałów umożliwiają uzyskanie czytelnego zapisu pEKG oraz elektrohisterogramu z powłok brzusznych matki. Jest to metoda nieinwazyjna, którą można stosować przed ukończeniem 30. tygodnia ciąży. Mimo niedoskonałości, jak chociażby brak możliwości dokładnej analizy morfologii zapisu pEKG, niektórzy badacze uważają, że system przezbrzusznej elektrokardiografii w połączeniu z technikami telemetrycznymi może być najlepszym rozwiązaniem dla długotrwałego monitorowania oraz prognozowania stanu ciężarnej i płodu.

Porównując zapis pEKG ze standardowo wykonanym zapisem kardiotokograficznym i ultrasonografią, spodziewamy się uściślić kryteria rozpoznania wewnątrzmacicznego zagrożenia dziecka, co może pozwolić na wprowadzenie leczenia poprawiającego jego komfort i umożliwić uściślenie kryteriów odnośnie czasu i sposobu rozwiązania ciąży patologicznej.

JAKUB STĘPNIEWSKI, ANNA TYRKA, GRZEGORZ KOPEĆ,
HANNA DZIEDZIC- OLEKSY, PIOTR PODOLEC

ŚREDNIA DOBOWA SATURACJA KRWI TĘTNICZEJ A WYDOLNOŚĆ WYSIŁKOWA U CHORYCH Z TĘTNICZYM NADCIŚNIENIEM PŁUCNYM – BADANIE Z ZASTOSOWANIEM 24-GODZINNEJ PULSOKSYMETRII

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

Wprowadzenie: Ograniczenie tolerancji wysiłku jest głównym objawem tętniczego nadciśnienia płucnego (PAH). Celem badania było określenie roli 24-godzinnego monitorowania saturacji krwi tętniczej (SpO2) w ocenie wydolności wysiłkowej chorych z PAH mierzonej testem 6-minutowego marszu (6MWT). Jest to pierwsze badanie z wykorzystaniem 24-godzinnej pulsoksymetrii u chorych z PAH.

Metody: Włączono 20 chorych z idiopatycznym PAH (IPAH) (11 osób) oraz z PAH w przebiegu wrodzonej wady serca (CHD-PAH). Wykonano badania laboratoryjne krwi, badanie echokardiograficzne, 6MWT, cewnikowanie prawego serca oraz 24-godzinne monitorowanie SpO2 przy pomocy systemu MIR Oxi®. Oceniono wyjściową wartość SpO2, średnią dobową wartość SpO2 oraz procent czasu monitorowania z wartością SpO2 poniżej 90% (T90). Dokonano analizy zależności pomiędzy pomiarami SpO2 a dystansem 6MWT.

Wyniki: Wyjściowe SpO2 w grupie chorych z IPAH było wyższe niż w grupie z CHD-PAH (94,8% ±4,1 v. 87,7% ±7,4; p=0,01), podobnie jak SpO2 średnie (92,5% ±3,8 v. 86,6% ±7,0; p=0,03) oraz T90 (25,3 ±33,9% v. 56,6 ±37,7; p=0.06). Dystans 6MWT był porównywalny w obu grupach (IPAH – 341,3 m ±124,7; CHD-PAH – 389,8 ±145,5; p=0,44). SpO2 średnie oraz T90 korelowały z dystansem 6MWT (r=0,44, p=0,04; r=-0,43, p=0,04) również po standaryzacji na wiek, rzut sercowy oraz poziom hemoglobiny. Nie stwierdziliśmy zależności pomiędzy wyjściowym SpO2 a dystansem 6MWT (r=0,28, p=0,2).

Wnioski: Średnie dobowe SpO2, a nie wynik pojedynczego pomiaru, koreluje z dystansem 6MWT u chorych z PAH. 24-godzinna pulsoksymetria może być użyteczna do oceny wydolności wysiłkowej w tej grupie.

MARCIN SURMIAK, MARCIN KACZOR, MAREK SANAK

PROFIL EKSPRESJI GENÓW PROZAPALNYCH I ZWIĄZANYCH Z ZAPALENIEM AKTYWOWANYCH W GRANULOCYTACH OBOJĘTNOCHŁONNYCH POD WPŁYWEM STYMULACJI PRZECIWCIAŁAMI IGG ANTY-PR3

Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Ziarniak Wegenera to pierwotne martwicze zapalenie naczyń krwionośnych, charakteryzujące się występowaniem u chorych autoprzeciwciał skierowanych przeciwko cytoplazmie neutrofilów (anti-neutrophil cytoplasmatic antibodies – ANCA). Obecnie niewiele wiadomo na temat molekularnych mechanizmów aktywacji granulocytów obojętnochłonnych.

Cel pracy: Celem pracy była ocena wpływu stymulacji przeciwciałami IgG anty-PR3 na profil ekspresji genów prozapalnych i związanych z zapaleniem w granulocytach obojętnochłonnych.

Materiał i metody: Neutrofile izolowano z krwi pobranej od 12 zdrowych ochotników metodą wirowania separującego w gradiencie Ficollu, a następnie poddano stymulacji przeciwciałami IgG anty-PR3 (200 μg/ml, 4h, 37^{o}C). Oceny ekspresji mRNA 150 genów dokonano za pomocą techniki amplifikacji PCR w czasie rzeczywistym oraz macierzy ekspresji genetycznej dla genów zapalenia (TLDA).

Wyniki: W wyniku prowadzonych badań zwiększoną ekspresję wykazano w przypadku 24 genów, z czego zwiększoną ekspresję 13 z nich (CCL2, CXCL2, VCAM1, MMP9, PLCB4, PDE4C, PLA2G4C, RAC1, RHOA, IRAK1, CACNA1D, CACNB2, PTGDR) zaobserwowano w granulocytach izolowanych od wszystkich badanych, a 11 pozostałych (IL13, PF4, IL2RG, ITGB1, CD83, PLA2G7, ALOX12, AXNA1, AXNA5, LTA4H, MCR2) jedynie w przypadku komórek izolowanych od kilku dawców.

Podsumowanie: Uzyskane wynik wskazują, że stymulacja neutrofilów przez przeciwciała c-ANCA prowadzi do uruchomienia szeregu szlaków sygnalizacyjnych związanych z aktywacją receptórów Fcγ (aktywacja kanałów wapnio-

wych, kinaz AKT i MAPK), ale także uruchamia inne, jak choćby związane z białkami G. Ponadto wydaje się, że obserwowana pomiędzy poszczególnymi dawcami zmienność w profilu genów aktywowanych w granulocytach pod wpływem przeciwciał c-ANCA może być związana z osobniczo swoistą podatnością neutrofilów na aktywację. Jej poznanie może przyczynić się do zrozumienia mechanizmu powodującego rozwój ziarniniaka Wegenera.

KATARZYNA SZEWCZYK, WALENTYNA BALWIERZ, GRAŻYNA DRABIK

CYTOGENETYCZNA I MOLEKULARNA ANALIZA PROFILU GENETYCZNEGO KOMÓREK NEUROBLASTOMA

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

Zakład Patologii, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

Neuroblastoma (NBL) to złośliwy nowotwór wieku dziecięcego. Pomimo poprawy wyników leczenia obserwuje się nadal zbyt dużo niepowodzeń terapii. Niekorzystne znaczenie rokownicze mają amplifikacja genu MYCN i strukturalne aberracje chromosomowe (SCA), w tym delecja 1p36 lub 11q23 i naddatek 17q21-qter. Obecnie istnieje wiele technik umożliwiających analizę profilu genetycznego komórek NBL, m.in. CGH, FISH, MLPA.
Celem badań było wdrożenie i porównanie wybranych metod oceny SCA o znaczeniu rokowniczym w NBL.

Analizą objęto 17 pacjentów, u których w okresie od czerwca 2010 do grudnia 2011 r. rozpoznano NBL. Badania cytogenetyczne wykonano na preparatach odciskowych tkanki guza techniką I-FISH. U wszystkich pacjentów równocześnie wykonano analizę amplifikacji genu MYCN w europejskim laboratorium referencyjnym (CCRI, Wiedeń). Badania molekularne na DNA izolowanym z tkanki guza wykonano u 3 pacjentów techniką MLPA dzięki współpracy z CCRI.

U 2 na 17 pacjentów ocena nie była możliwa. U 7 pacjentów łącznie stwierdzono następujące nieprawidłowości: amplifikację genu MYCN (n=2), naddatek 2p (n=3), delecję 1p36 (n=2), LOH 1p36 (n=2), delecję 11q23 (n=1), naddatek 17q21-qter (n=4). Uzyskano zgodność wyników dla genu MYCN pomiędzy laboratorium krakowskim i wiedeńskim. Uzyskano wysoką (98%) zgodność wyników pomiędzy metodą cytogenetyczną i molekularną.

Technika I-FISH jest obecnie złotym standardem dla nowych metod mających zastosowanie w oznaczaniu SCA w NBL, ponieważ daje możliwość identyfikacji genetycznej heterogenności komórek. Istnieje jednak potrzeba wdrażania nowych metod diagnostycznych, aby uzyskać większą ilość informacji o profilu genetycznym pacjenta, a być może wyłonić nowe markery rokownicze. Ważną rolę odgrywa obecnie technika MLPA, która jest wysoce kompatybilna z FISH.

MICHAŁ SZUBIGA, MONIKA RUDZIŃSKA, PIOTR JANIK, MIROSŁAW BIK-MULTANOWSKI, JACEK J. PIETRZYK, ANDRZEJ SZCZUDLIK

SPEKTRUM MUTACJI W GENIE EPSILON-SARKOGLIKANU U CHORYCH Z ZESPOŁEM DYSTONIA-MIOKLONIA

Zakład Genetyki Medycznej, Katedra Pediatrii, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Katedra i Klinika Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Katedra i Klinika Neurologii, I Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Zespół dystonia-mioklonia (ang. myoclonus-dystonia syndrome, MDS, DYT11) jest jednym z zespołów dystonia plus. Charakteryzuje się dużą różnorodnością fenotypową oraz objawami dystonii i mioklonii w górnej połowie ciała, występującymi najczęściej przed 20. rokiem życia i zmniejszającymi się po alkoholu. MDS dziedziczony jest autosomalnie, dominująco z niepełną penetracją genu (40%) i spowodowany jest heterozygotycznymi mutacjami występującymi w genie epsilon sarkoglikanu (SGCE) na chromosomie 7q21.

Cel badania: Ocena występowania i rodzaju mutacji w eksonach 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 genu SGCE u chorych z MDS.

Materiał i metody: Do badania włączono 40 chorych (17 kobiet oraz 23 mężczyzn) z 4 polskich ośrodków, w tym 15 przypadków rodzinnych i 25 sporadycznych. Pacjenci zostali włączeni do badania na podstawie kryteriów klinicznych: początek przed 20. rokiem życia, mioklonie górnej połowy tułowia (izolowane lub z towarzyszącą dystonią), pozytywny wywiad rodzinny, prawidłowy obraz MRI. Analizę genetyczną wykonano w oparciu o bezpośrednie sekwencjonowanie eksonów 2–9 genu SGCE, mających znaczenie kliniczne.

Wyniki: Mutacje w genie SGCE stwierdzono u 20% chorych, w 4 przypadkach rodzinnych i 4 sporadycznych. Badania genetyczne ujawniły 2 mutacje dotąd nieopisane. U 4 osób z rodzinną formą choroby stwierdzono mutację c.917-920del w obrębie 6 eksonu genu SGCE, powodującą brak kwasu asparaginowego oraz tryptofanu w strukturze białka. Natomiast u 4 chorych ze sporadyczną formą choroby stwierdzono nową mutację w egzonie 3, tranzycję A->G, która powoduje zmianę kwasu asparaginowego na asparaginę w kodonie 96 (D96N).

Wnioski: Mutacje w genie SGCE występują tylko u niektórych chorych z zespołem MDS i sugerują istnienie innych prawdopodobnych czynników genetycznych odpowiedzialnych za patogenezę choroby.

AGNIESZKA ŚLIWA, JOANNA GÓRALSKA, ANNA GRUCA, URSZULA CZECH, ANNA KNAPP, ANNA POLUS, ALDONA DEMBIŃSKA-KIEĆ

WPŁYW WYBRANYCH SKŁADNIKÓW DIETY (EGZOGENNYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH ORAZ ANTYOKSYDANTU KWERCETYNY) NA FUNKCJĘ MITOCHONDRIÓW ORAZ RÓŻNICOWANIE LUDZKICH PREADIPOCYTÓW

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

Wstęp: Dysfunkcja mitochondriów leży u podstawy wielu chorób, np. cukrzycy typu 2 i jej powikłań, wynikających z zachwiania równowagi między produkcją wolnych rodników a zdolnościami antyoksydacyjnymi komórki. Kwasy tłuszczowe są znanymi rozprzęgaczami procesu fosforylacji oksydacyjnej. Kwercetyna natomiast wykazuje aktywność antyoksydacyjną. Wpływ tych nutrientów na funkcje mitochondriów ludzkich preadipocytów jest nadal słabo poznany.

Celem pracy było zbadanie, jaki wpływ na funkcję mitochondriów oraz różnicowanie preadipocytów mają wybrane kwasy tłuszczowe oraz kwercetyna.

Metody: Do badań wykorzystano unieśmiertelnioną linię ludzkich preadipocytów (CHUB-S7). Funkcje mitochondriów monitorowane były przez pomiar zużycia tlenu (OROBOROS® Oxygraph-2k), ilości ATP w komórkach (ATP Lite Parkin Elmer), zmiany potencjału błony mitochondrialnej (cytometr przepływowy BD; mikroskop fluorescencyjno-konfokalny BD Bioimager 855) oraz aktywność kaspazy 9 (R&D Systems). Komórki inkubowane były przez 24 godziny z 30μM FFA (PA, OA, AA, EPA, TTA) lub kwercetyną (10-100μM). Proces różnicowania komórek CHUB-S7 trwał 21 dni (czynniki różnicujące – deksametazon 1μM, IBMX 500μM, rosiglitazon 1μM), gromadzenie kropli lipidowych obrazowane było za pomocą barwienia czerwienią olejową.

Wyniki: Kwasy EPA i TTA obniżały zużycie tlenu oraz ilość ATP w komórkach, nasilały natomiast gromadzenie kropli lipidowych. PA zwiększał potencjał błony mitochondrialnej. Kwas OA nasilał aktywność kaspazy 9, podobnie jak AA, który ponadto zwiększał oddychanie komórkowe. Kwercetyna, zależnie od stężenia, zwiększała potencjał, obniżała zużycie tlenu oraz hamowała różnicowanie.

Wnioski: Badane nutrienty wykazywały raczej hamujący efekt na funkcję mitochondriów, promując adipogenezę (EPA,TTA). Kwercetyna natomiast zmniejszała różnicowanie się ludzkich preadipocytów. Badania podkreślają rolę mitochondriów w remodelingu tkanki tłuszczowej.

Współfinansowane przez EU FW7 LIPIDOMICNET 202272, K/ZBW/000577.

LUCYNA TOMASZEK

OCENA SKUTECZNOŚCI I BEZPIECZEŃSTWA ANALGEZJI ZEWNĄTRZOPONOWEJ W ODCINKU PIERSIOWYM U DZIECI PO OPERACJACH TORAKOCHIRURGICZNYCH

Zakład Ratownictwa Medycznego, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Klinika Chirurgii Klatki Piersiowej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, Oddział Terenowy im. Jana i Ireny Rudników w Rabce-Zdroju

Cel pracy: Celem pracy była ocena skuteczności i bezpieczeństwa ciągłej analgezji zewnątrzoponowej w odcinku piersiowym u dzieci w pierwszej dobie po zabiegach torakochirurgicznych poprzez porównanie ze standardowo stosowaną ciągłą analgezją dożylną.

Materiał i metody: Prospektywne badanie obserwacyjne przeprowadzono u 145 dzieci w wieku 7–18 lat podzielonych na 2 grupy. W grupie badanej podawano zewnątrzoponowo 0,25-procentową bupiwakainę z morfiną, a w grupie kontrolnej ciągły dożylny wlew morfiny. W razie potrzeby stosowano perfalgan i metamizol. Monitorowano nasilenie bólu, parametry hemodynamiczne, poziom sedacji, występowanie i rodzaj objawów niepożądanych, subiektywną ocenę jakości analgezji przez pacjenta.

Wyniki: Spośród 149 zakwalifikowanych chorych 145 ukończyło badania. Czterech chorych z grupy znieczulenia zewnątrzoponowego wykluczono z analizy ze względu na wystąpienie takich powikłań jak niezamierzone całkowite znieczulenie rdzeniowe, samoistne przemieszczenie cewnika do żyły w przestrzeni zewnątrzoponowej, wyciek krwi z miejsca założenia cewnika oraz samoistne wysunięcie cewnika przed ukończeniem okresu obserwacji. W grupie badanej odnotowano istotnie mniejsze nasilenie bólu, niższe wartości częstości tętna oraz ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego niż w grupie kontrolnej. Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy grupami w poziomie sedacji, podaży dawek leków nieopioidowych, częstości nudności i wymiotów, świądu skóry, retencji moczu oraz ocenie jakości analgezji. Prowadzenie analgezji dożylnej wymagało 4-krotnie częstszej modyfikacji leczenia niż w przypadku metody zewnątrzoponowej.

Wnioski: U dzieci po operacjach torakochirurgicznych analgezja zewnątrzoponowa w odcinku piersiowym za pomocą bupiwakainy z morfiną jest skuteczniejsza niż analgezja ciągłym dożylnym wlewem morfiny. Może być bezpiecznie prowadzona przez pielęgniarki pod nadzorem lekarza pod warunkiem ciągłego monitorowania chorego, pozwalającego na wczesne wykrycie potencjalnych powikłań i wdrożenie odpowiedniego leczenia.

JUSTYNA TOTOŃ-ŻURAŃSKA, JACEK JAWIEŃ

BADANIA NAD MOŻLIWOŚCIĄ FARMAKOLOGICZNEGO HAMOWANIA PROGRESJI MIAŻDŻYCY POPRZEZ REGULACJĘ FUNKCJI RECEPTORA DLA ANGIOTENSYNY (1-7)

Katedra Farmakologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Hipoteza robocza pracy zakładała, że niepeptydowy agonista receptora dla angiotensyny 1-7 (AVE 0991) może hamować rozwój zmian miażdżycowych. Badanie przeprowadzono na modelu zwierzęcym miażdżycy: myszach z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E (myszy apoE-knockout).

Pięćdziesiąt samic myszy apoE-knockout w wieku 8 tygodni podzielono na grupy o liczebności n=10. Grupy eksperymentalne otrzymywały tę samą dietę co grupa kontrolna, wzbogaconą o AVE 0991, peryndopryl, tiorfan oraz związek A-779 [(D-Alanina)-Angiotensyna (1-7)].

Mierzony metodą *en face* procent całkowitej powierzchni aorty zajętej przez wybarwione Sudanem IV zmiany był istotnie mniejszy w grupach leczonych AVE 0991 oraz peryndoprylem, zaś w grupie otrzymującej A-779 był większy niż w grupie kontrolnej. *Cross-section* korzeni aorty wykazał, że w grupie leczonej AVE 0991 oraz z podawanym peryndoprylem blaszka miażdżycowa była mniejsza niż w grupie kontrolnej. Mierzona metodą *real time* PCR relatywna ekspresja podjednostki p22phox NADPH oksydazy była istotnie mniejsza w grupie leczonej AVE 0991 niż w grupie kontrolnej. Przy zastosowaniu cytometrii przepływowej zbadano ekspresję cząsteczek CD 86, CD80, CD40 na makrofagach i komórkach dendrytycznych – była ona istotnie mniejsza w grupie leczonej AVE 0991 niż w grupie kontrolnej.

Jest to pierwsze doniesienie, w którym na zwierzęcym modelu miażdżycy wykazano hamujący wpływ farmakologicznego stymulowania receptora dla AT 1-7 na proces aterogenezy.

ANNA WASIELEWSKA, MONIKA RUDZIŃSKA, TOMASZ TOMASZEWSKI,
KRZYSZTOF BANASZKIEWICZ, MAŁGORZATA DEC-ĆWIEK,
MAGDALENA WÓJCIK, ANNA ZASTAWNA, ANDRZEJ SZCZUDLIK

DRŻENIE W NEUROPATIACH O RÓŻNEJ ETIOLOGII

Klinika Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp i cel pracy: Drżenie towarzyszy niektórym neuropatiom obwodowym, ale jego charakterystyka jest słabo poznana. Celem pracy było określenie częstości występowania i charakterystyki drżenia kończyn górnych w polineuropatiach o różnej etiologii oraz zbadanie zależności między występowaniem drżenia a klinicznymi i elektrofizjologicznymi cechami neuropatii.

Materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 89 chorych z rozpoznaniem polineuropatii o określonej etiologii oraz 50 osobową grupę kontrolną, dobraną pod względem płci i wieku. Zebrano szczegółowy wywiad dotyczący drżenia kończyn górnych oraz wykonano kliniczną i aparaturową ocenę drżenia za pomocą akcelometru trójosiowego oraz EMG. Na podstawie testu obciążenia różnicowano typ drżenia samoistnego i nasilonego drżenia fizjologicznego.

Wyniki: U chorych z polineuropatią znamiennie częściej stwierdzono występowanie drżenia, zarówno o ocenie klinicznej (59,5%), jak i aparaturowej (74%), w porównaniu z grupą kontrolną (12%). Obecność drżenia obserwowano we wszystkich badanych neuropatiach z wyjątkiem polineuropatii z paraproteinemią IgM. Drżenie towarzyszące polineuropatii, niezależnie od jej etiologii, było najczęściej posturalne (70%), rzadziej spoczynkowe (51%) lub kinetyczne (32%), i miało niewielkie nasilenie. We wszystkich polineuropatiach dominowało drżenie typu samoistnego, a nie nasilone drżenie fizjologiczne. Występowanie drżenia nie zależało od dominacji uszkodzenia aksonalnego czy demielinizacyjnego ani od zwolnienia szybkości przewodzenia czy innych parametrów oceny elektrofizjologicznej nerwów obwodowych kończyn górnych.

Wniosek: Drżenie kończyn górnych występuje u 60–70% chorych z polineuropatiami o różnej etiologii, jest najczęściej posturalne, typu drżenia samoistnego, ma niewielkie nasilenie i nie zależy od rodzaju polineuropatii i zwolnienia szybkości przewodzenia w nerwach.

JOANNA WIATR, ANNA JĘDRZEJCZYK

ROLA CZYNNIKÓW INFEKCYJNYCH W PATOGENEZIE ENDOMETRIOZY – AKTYWACJA I BLOKOWANIE GENÓW ZALEŻNE OD LOKALIZACJI NARZĄDOWEJ

Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Endometrioza głęboko naciekająca jest dewastującym narządy i powodującym silne dolegliwości bólowe schorzeniem ginekologicznym, trudnym, a niekiedy niemożliwym do radykalnego wyleczenia, nawet przy użyciu zaawansowanych technik chirurgicznych. Trudność leczenia wynika z niedostatecznej wiedzy o patogenezie tego schorzenia mimo ogromnego zaangażowania naukowego wielu ośrodków medycznych na świecie.

Szczególną rolę w patogenezie tej postaci endometriozy pełni zmieniona aktywność szlaku komórkowego RAS/RAF/MAPK z nadmierną aktywnością PDGFR α, PKCβ 1 i JAKI oraz obniżoną aktywnością MKK 7 i Sprouty 2 w komórkach ECM. Dodatkowo obniżeniu ulega aktywność COUP-TF2 i PGE2EP3 z lokalną nadprodukcją estrogenów. Nadmierna percepcja bólu powodowana jest przez wzrost aktywności TRkB w komórkach nabłonkowych, a 5HTT i MOR w komórkach tkanki łącznej. MOR byłby też odpowiedzialny za zmiany immunologiczne w tej chorobie. Dodatkowym czynnikiem jest możliwość procesu infekcyjnego leżącego u podłoża nadmiernej stymulacji łącznotkankowej.

Celem badania jest ocena wpływu infekcji na ekspresję wybranych genów i aktywność enzymów w endometriozie pozagenitalnej o różnej lokalizacji, a w konsekwencji ewentualna możliwość przewidywania wrażliwości na odpowiedni rodzaj leczenia farmakologicznego.

ALEKSANDRA WIECZOREK

WPŁYW PSYCHOTERAPII WGLĄDOWEJ NA POSTRZEGANIE WIĘZI WCZESNODZIECIĘCEJ U PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI OSOBOWOŚCI

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

OLZOiN Szpitala im. J. Babińskiego w Krakowie

Głównym problemem badawczym prezentowanego opracowania jest ocena wpływu leczenia z zastosowaniem psychoterapii wglądowej na sposób postrzegania przez pacjentów wczesnych relacji ze swoimi rodzicami i ewentualnych powiązań tego postrzegania z występowaniem różnych traumatycznych doświadczeń z okresu dzieciństwa oraz z używanymi przez nich mechanizmami obronnymi. Obraz tych wczesnych relacji pozwala na ocenę więzi i przywiązania, które rzutują na wszystkie relacje tworzone w późniejszym życiu i uważane są za względnie trwałe. W literaturze światowej zaczęły się jednak pojawiać doniesienia o możliwości uzyskania korzystnej zmiany w wyniku stosowania psychoterapii wglądowej u pacjentów z zaburzeniami osobowości, co może wiązać się z możliwością poprawy w kwalifikowaniu pacjentów do leczenia. Brak podobnych badań w populacji polskiej stał się inspiracją dla autorów omawianego projektu.

Dodatkowo badanie ma odpowiedzieć na pytania związane ze skutecznością samej metody leczenia poprzez ocenę jej wpływu na występowanie różnych objawów psychopatologicznych i somatycznych.

Badanie będzie prowadzone przy użyciu kilku narzędzi kwestionariuszowych. Porównywane będą wyniki uzyskane przez pacjentów z dwóch ośrodków, w których prowadzone jest badanie, tj. z Ośrodka Terapii Dorosłych Dzieci Alkoholików Krakowskiego Centrum Terapii Uzależnień i z Oddziału Leczenia Zaburzeń Osobowości i Nerwic Szpitala Specjalistycznego im. J. Babińskiego w Krakowie.

Otrzymane dane analizowane będę również pod kątem potencjalnych różnic, jakie mogą wystąpić pomiędzy pacjentami z różnymi rozpoznaniami z zakresu zaburzeń osobowości. Aktualnie projekt jest na etapie realizacji.

ANNA JULIA WŁODARCZYK, KELLY BERUBE, ANETTA UNDAS

OCENA TOKSYCZNOŚCI PYŁU PM2.5 NA NABŁONEK OSKRZELOWY CZŁOWIEKA

Zakład Kardiochirurgii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej, Instytut Kardiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

School of Biosciences, Cardiff University, Museum Avenue Cardiff, CF10 3AX, Wales, UK

Cząstki pyłu zawieszonego, których średnica aerodynamiczna nie przekracza 2,5 μm (PM2.5) są obecnie podstawowym wskaźnikiem jakości powietrza w krajach Unii Europejskiej. Badania epidemiologiczne wskazują, że mogą one przyczyniać się rozwoju chorób układu oddechowego człowieka, chociaż mechanizm ich działania pozostaje nadal niejasny. Jednym z celów pracy było oszacowanie cytotoksyczności rzeczywistego pyłu PM2.5 na nabłonek oskrzelowy.

Na przełomie grudnia 2010 i stycznia 2011 r., kiedy dobowe stężenie pyłu zawieszonego w Krakowie przekraczało dopuszczalną wartość, dokonano zbioru PM2.5 w dwóch lokalizacjach: A – przy ruchliwej drodze oraz B – na osiedlu domów jednorodzinnych oddalonym od miejsca A o 1 km. Morfologię oraz rozmiary cząstek zebranego pyłu określono za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), a skład pierwiastków oznaczono metodą spektrometrii mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS). Cytotoksyczność cząstek PM2.5 oceniono na podstawie testów żywotności i analizy ekspresji genów trójwymiarowych hodowli nabłonka oskrzelowego (EpiAirway). Po 4-godzinnej inkubacji cząstek PM2.5 dokonano pomiaru oporu nabłonka, pozwalającego sprawdzić jego spójność, wykonano test żywotności ATP, a także analizę ekspresji genów związanych z zapaleniem i stresem oksydacyjnym. Zastosowanie najbardziej zbliżonego do sytuacji *in vivo* modelu hodowli nabłonka oskrzelowego oraz rzeczywistej mieszaniny PM2.5 pozwoliło otrzymać wiarygodne dane na temat oddziaływania cząstek miejskiego pyłu zawieszonego na drogi oddechowe człowieka.

KATARZYNA WOJNAR-GRUSZKA

JAKOŚĆ ŻYCIA PACJENTÓW PO AUTOLOGICZNYM PRZESZCZEPIE KRWIOTWÓRCZYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH W PRZEBIEGU CHOROBY NOWOTWOROWEJ

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

Katedra Hematologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Cel: Ocena jakości życia (QOL) osób po autologicznym przeszczepie krwiotwórczych komórek macierzystych (ASCT) w przebiegu choroby nowotworowej minimum rok po zabiegu.

Hipoteza badawcza: Średnia ocena jakości życia pacjentów po ASCT nie różni się od średniej oceny jakości życia osób w grupie kontrolnej.

Metody: Badanie przeprowadzono w grupie 55 osób po ASCT w Klinice Hematologii UJ CM w Krakowie oraz w grupie 112 osób z populacji generalnej w latach 2010–2011. Zastosowaną metodą badawczą był sondaż diagnostyczny. W badaniu wykorzystano następujące narzędzia: kwestionariusz poczucia koherencji (SOC-29) Aarona Antonovsky'ego, skalę przystosowania psychicznego do choroby nowotworowej (Mini-MAC) Watson et al. oraz autorski kwestionariusz.

Wyniki: Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy w zakresie średniej oceny QOL pomiędzy kobietami (x=81,0, sd=16,8) i mężczyznami (x=84,2, sd=13,3) po zabiegu ASCT oraz kobietami i mężczyznami w grupie kontrolnej (odpowiednio x=80,8, sd=14,8; x=81,8, sd=14).

Występujące problemy zdrowotne w wyniku zastosowanego leczenia obniżały QOL osób po autotransplantacji ($p<0,001$). Stwierdzono istotny statystycznie związek składników poczucia koherencji z QOL w badanych grupach ($p<0,001$). Stwierdzono statystycznie istotny związek pomiędzy przyjmowaniem przez osoby po ASCT postawy destruktywnej w walce z chorobą a poczuciem koherencji. W przypadku mężczyzn związek ten był silniejszy ($r=0,68$, $p<0,001$) niż

u kobiet ($r=0,40$, $p<0,05$). Czas od zabiegu oraz zmienne społeczno-demograficzne i psychospołeczne nie miały związku z oceną przez osoby po zabiegu ASCT stopnia poczucia jakości życia.

Konkluzja: Wyniki badania potwierdziły hipotezę zerową o braku różnicy w średniej ocenie jakości życia pomiędzy osobami po ASCT i osobami z grupy kontrolnej.

MARTA WOŁEK, MAGDALENA PODOLEC-RUBIŚ, ANNA WOJAS-PELC

PEMFIGOID CIĘŻARNYCH

Katedra i Klinika Dermatologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wprowadzenie: Pemfigoid ciężarnych (PG) jest rzadkim schorzeniem, najczęściej dotyczącym kobiet w trzecim trymestrze ciąży. Charakteryzuje się intensywnie swędzącą osutką o polimorficznym charakterze. Nasilenie zmian chorobowych następuje najczęściej po porodzie, a ustępuje w większości przypadków w ciągu 6 miesięcy.

Cel pracy: Przedstawienie przypadku pacjentki z pemfigoidem ciężarnych, u której pierwsze zmiany skórne pojawiły się w trzecim trymestrze ciąży, po przebytej infekcji wirusem Herpes simplex.

Opis przypadku: Trzydziestodwuletnia kobieta w 36. tygodniu ciąży pierwszej została przyjęta do Kliniki Dermatologii z powodu nasilających się od trzech tygodni zmian skórnych o charakterze erythema iris z towarzyszącym świądem. Z wywiadu wiadomo, że 4 tygodnie wcześniej pacjentka miała opryszczkę wargi górnej. W leczeniu zastosowano miejscowe i systemowe glikokortykosteroidy, leki przeciwhistaminowe oraz leki przeciwwirusowe, uzyskując poprawę stanu klinicznego. Po porodzie siłami natury w 37. tygodniu u pacjentki doszło do nasilenia zmian skórnych o charakterze polimorficznym z towarzyszącymi licznymi pęcherzami. W badaniu immunofluorescencyjnym bezpośrednim oraz pośrednim potwierdzono rozpoznanie PG. W terapii stosowano leki przeciwhistaminowe, glikokortykosteroidy systemowe przerwane okresowo z uwagi na podejrzenie incydentu zakrzepowo-zatorowego, po wykluczeniu którego leczenie to kontynuowano przez 12 tygodni, stopniowo redukując dawki. Ponadto farmakologicznie zahamowano laktację.

Wnioski: Mimo że pemfigoid jest schorzeniem samoograniczającym się po porodzie, z uwagi na okres pojawienia się zaostrzenia (połóg) leczenie może sprawiać trudności (zwiększone ryzyko incydentów zakrzepowo-zatorowych). Leczenie powinno być ukierunkowane na kontrolę świądu oraz zahamowanie tworzenia się pęcherzy. W części przypadków wystarczające jest leczenie systemowe lekami antyhistaminowymi oraz miejscowe steroidami, natomiast w razie niepowodzenia skuteczne są kortykosteroidy podawane systemowo.

KATARZYNA ANNA WÓJCIK, PAULINA KOCZURKIEWICZ,
MARTA MICHALIK, MAREK SANAK

FIBROBLASTY OSKRZELOWE POCHODZĄCE OD ASTMATYKÓW SĄ ZDOLNE DO ZWIĘKSZONEJ EKSPRESJI CZYNNIKA WZROSTOWEGO TKANKI ŁĄCZNEJ POD WPŁYWEM TGF- Β 1

Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, II Katedra Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Zakład Biologii Komórki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

Wprowadzenie: Astma oskrzelowa jest przewlekłą chorobą zapalną dróg oddechowych, której towarzyszą wieloetapowe procesy przebudowy ściany oskrzeli. Ostatnie doniesienia wskazują, że wydzielanie czynnika wzrostowego tkanki łącznej (CTGF) jest zwiększone w wielu chorobach zwłóknieniowych. Co więcej, cytokina ta może odgrywać istotną rolę w trakcie procesów remodelingu dróg oddechowych w przebiegu astmy oskrzelowej.

Cel: Celem pracy było zbadanie, czy ludzkie fibroblasty oskrzelowe (HBFs) mogą wykazywać ekspresję CTGF pod wpływem stymulacji TGF-β1.

Materiał i metody: Eksperymenty przeprowadzono w warunkach hodowli ludzkich fibroblastów oskrzelowych (HBFs) *in vitro*. Komórki wyizolowano z biopsji oskrzela uzyskanych od pacjentów ze zdiagnozowaną astmą (AS) oraz od osób, u których nie stwierdzono astmy (NA). Przeprowadzono analizę ekspresji CTGF i α-SMA (jednej z izoform aktyny) metodą Real-Time w czasie rzeczywistym oraz analizę ekspresji białka.

Wyniki: Wykazano po raz pierwszy, że HBFs pochodzące od astmatyków charakteryzują się większą ekspresją CTGF pod wpływem TGF-β1 niż HBFs pochodzące od osób zdrowych. Co więcej, aktywacja ścieżki sygnalizacyjnej WNT powoduje wyraźne zmniejszenie tego efektu.

Podsumowanie: Uzyskane wyniki świadczą o plejotropowym działaniu TGF-β1, którego podwyższony poziom stwierdza się w płynie oskrzelikowo-płucnym chorych na astmę. Fibroblasty rezydujące w tkance łącznej oskrzeli pod wpływem tej cytokiny podejmują syntezę CTGF. Wcześniej opisano już zwiększoną

zdolność do różnicowania fibroblastów pochodzących od astmatyków w miofibroblasty pod wpływem TGF-β1. Model oparty na pierwotnych hodowlach 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.

PATRYCJA WRĘCZYCKA-CEGIELNY, ROMAN M. HERMAN

DIAGNOSTYKA CZYNNOŚCIOWA ANOREKTUM U PACJENTEK Z PRZETOKĄ ODBYTNICZO-POCHWOWĄ PO RADIOTERAPII Z POWODU RAKA SZYJKI MACICY

Zakład Chirurgii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Centrum Onkologii, Instytut M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Wprowadzenie: Popromienna przetoka odbytniczo-pochwowa (RVF) należy do najpoważniejszych powikłań radioterapii raka szyjki macicy (CCU). Częstość takich przetok szacuje się na 0,2–7%. Wykazują one znaczącą odmienność od RVF o innej etiologii. U pacjentek po przebytej radioterapii z powodu nowotworów w obrębie miednicy mniejszej stwierdza się czynnościowe zaburzenia kompleksu zwieraczy odbytu.

Cel: Ocena funkcji czynnościowej kompleksu zwieraczy odbytu u pacjentek z popromiennymi przetokami odbytniczo-pochwowymi.

Materiał i metody: W latach 2010–2012 do badania zakwalifikowano 16 pacjentek z RVF po radioterapii z powodu CCU. Wykonano badanie proktologiczne z rektoskopią i badanie ginekologiczne z USG transwaginalnym. Funkcje czynnościowe anorektum oceniono, wykonując sfinktomanometrię – z pomiarem ciśnienia spoczynkowego (MRP) i maksymalnego ciśnienia skurczowego zwieracza odbytu (MSP) oraz odruchów: odbytniczo-odbytowego hamowania (RAIR) i kaszlowego (RSCC). Ponadto oceniono i sklasyfikowano rodzaj, wymiar i wysokość/lokalizację RVF w badanej grupie pacjentek. Badania diagnostyczne wykonano celem kwalifikacji pacjentek do leczenia operacyjnego RVF.

Wyniki: W badanej grupie pacjentek po wykonaniu badań diagnostycznych stwierdzono popromienne RVF, które sklasyfikowano głównie jako przetoki: złożone, wysokie i duże. W wykonanej sfinktomanometrii anorektalnej średnie wartości MRP wyniosły 33,7 ±11,9 mmHg, a MSP 75,5 ±23,7 mmHg. U wszystkich pacjentek stwierdzono obecność prawidłowego odruchu RAIR, a u 13/16 pacjentek (81,2%) prawidłowego odruchu RSCC. U pozostałych odruch oceniono jako paradoksalny.

Wnioski: Radioterapia stosowana w leczeniu CCU powoduje istotne zmiany czynnościowe anorektum, wyrażone w wynikach badań czynnościowych. Ocena funkcji kompleksu zwieracza odbytu jest konieczna przed kwalifikacją pacjentek do leczenia chirurgicznego i warunkuje dobór techniki operacyjnej.

AGNIESZKA WRÓBEL, JACEK SKŁADZIEŃ

PSEUDOGUZY ZAPALNE NA TLE GUZÓW OCZODOŁU W MATERIALE KLINIKI OTOLARYNGOLOGII W KRAKOWIE W LATACH 2010–2011

Katedra i Klinika Otolaryngologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Pseudoguz zapalny jest jednostką chorobową charakteryzującą się jednostronnością, obecnością masy patologicznej w oczodole oraz objawami klinicznymi wynikającymi z lokalizacji. Zmiany te wykazują włóknisto-zapalny charakter w badaniu histopatologicznym. Etiologia guza rzekomego narządu wzroku nie jest znana. W patogenezie bierze się pod uwagę czynniki infekcyjne, zaburzenia autoimmunologiczne czy nieprawidłowy proces gojenia.

Cel pracy: Ustalenie częstości występowania pseudoguzów zapalnych oczodołu u pacjentów Kliniki Otolaryngologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Porównanie aktualnych danych z przypadkami zarejestrowanymi 10 i 15 lat temu. Określenie najczęstszych objawów, lokalizacji oraz grupy osób o największym ryzyku zachorowalności.

Materiały i metody: Przeprowadzono retrospektywną analizę dokumentacji medycznej chorych operowanych z powodu guzów oczodołu w Klinice Otolaryngologii w Krakowie w latach 2010–2011. W grupie badanej było 46 pacjentów, w tym 11 pacjentów z pseudoguzami zapalnymi. Grupę badaną porównano z grupą 84 chorych operowanych w Klinice Otolaryngologii 10 lat wcześniej oraz grupą 70 pacjentów operowanych 15 lat wcześniej.

Wyniki i wnioski: Pseudoguzy zapalne stanowią największy odsetek guzów oczodołu u pacjentów operowanych w Klinice Otolaryngologii w Krakowie tak teraz, jak i 10 czy 15 lat temu. Dotykają najczęściej kobiet w wieku ok. 50 lat. Częstość objawów i lokalizacja nie odbiegają procentowo od pozostałych guzów oczodołu, dlatego nie mogą sugerować one rozpoznania. Potwierdza to fakt, iż badanie histopatologiczne jest niezbędne do różnicowania pseudoguzów zapalnych. Orbitotomia boczna zapewnia dostęp do guzów w najczęstszych lokalizacjach, tj. położonych w kwadrancie górno-bocznym oraz wewnątrzstożkowo, co wydaje się optymalną metodą leczenia pseudoguzów zapalnych typowych dla tej lokalizacji.

ANNA WRÓBEL, EWA ŁUCJA GREGORASZCZUK

WPŁYW PARABENÓW NA PROLIFERACJĘ KOMÓREK LINII HORMONOZALEŻNEGO NOWOTWORU PIERSI MCF-7 I NIENOWOTWOROWEJ LINII NABŁONKA GRUCZOŁU PIERSIOWEGO MCF-10A

Zakład Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Katedra Fizjologii Zwierząt, Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński

Cel: Parabeny to substancje chemiczne, które ze względu na swoje właściwości znalazły szerokie zastosowanie jako środki konserwujące w produktach kosmetycznych. Obecność parabenów w niezmienionej formie wykryto zarówno w zdrowych, jak i nowotworowych tkankach gruczołu piersiowego. Liczne badania donoszą, że parabeny wykazują aktywność estrogenną na modelach *in vivo* i *in vitro*. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu jednorazowego i wielokrotnego podania metyl-, butyl- i propylparabenu na proliferację komórek linii MCF-10A i MCF-7 oraz możliwość ich współdziałania z 17-β-estradiolem.

Materiały i metody: Methylparaben, n-propyloparaben i n-butyloparaben podano w dawce 20 nM, 17-β-estradiol i ICI182,780 w dawce 100 nM. W celu określenia wpływu pojedynczej ekspozycji parabeny dodano na początku hodowli. Aby ocenić działanie wielokrotnych ekspozycji, czynniki dodawano co 48 godzin przez 6 dni. Proliferację komórek określono za pomocą testu AlamarBlue.

Wyniki: 17-β-estradiol powodował wzrost proliferacji komórek MCF-7, ale nie wpływał na proliferacje komórek MCF-10A. Podczas pojedynczej ekspozycji wszystkie badane parabeny podnosiły proliferację komórek MCF-7. W komórkach MCF-10A metyl- i butylparaben powodowały wzrost proliferacji. Po wielokrotnej ekspozycji wszystkie badane związki podwyższały proliferację komórek MCF-7, natomiast nie wykazywały wpływu na komórki MCF-10A. Nie zaobserwowano dodatkowego wpływu na proliferację po łącznym podaniu parabenów z 17-β-estradiolem.

Wnioski: Podwyższanie stopnia proliferacji komórek nowotworowych sugeruje, że parabeny powinny być brane pod uwagę jako potencjalny czynnik odpowiedzialny za rozwój nowotworu piersi. Niemniej jednak, nie wykazano ich wpły-

wu na proliferację prawidłowych komórek nabłonka gruczołu piersiowego, dlatego też prawdopodobnie związki te nie są odpowiedzialne za inicjowanie procesu karcenogenezy.

Podziękowania: Badanie te zostały wykonane w ramach projektu badawczego współfinansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w Krakowie, DEC-2011/01/N/NZ7/00015.

DAGMARA WRÓBEL, ANNA PARTYKA, MAGDALENA JASTRZĘBSKA-
-WIĘSEK, KRZYSZTOF MARCINIEC, ANDRZEJ MAŚLANKIEWICZ,
GRZEGORZ SATAŁA, ANDRZEJ J. BOJARSKI, MACIEJ PAWŁOWSKI,
PAWEŁ ZAJDEL, ANNA WESOŁOWSKA

WPŁYW UKŁADU AROMATYCZNEGO I HETERO-AROMATYCZNEGO W POZYCJI N-4 PIPERAZYNY NA POWINOWACTWO DO RECEPTORÓW MONOAMINERGICZNYCH I AKTYWNOŚĆ WEWNĘTRZNĄ IN VIVO 3-CHINOLINOSULFO-NAMIDOWYCH POCHODNYCH LCAP

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

Katedra Chemii Organicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny, Sosnowiec

Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii PAN

Terapia schizofrenii, choroby psychicznej ujawniającej się u około 1% społeczeństwa, nastręcza wielu trudności, szczególnie w sferze znoszenia objawów negatywnych i kognitywnych. Ponadto stosowane obecnie leki są obarczone licznymi działaniami niepożądanymi (m.in. pozapiramidowymi, metabolicznymi, mielo- i kardiotoksycznymi).

W ramach poszukiwań związków o potencjalnej aktywności przeciwpsychotycznej oraz wieloreceptorowym profilu działania zaprojektowano i zsyntetyzowano serię pochodnych 3-chinolinosulfonamidobutylopiperazyny, różniących się podstawnikiem w pozycji N-4 piperazyny. Modyfikacje strukturalne polegały na wprowadzeniu fragmentów arylopiperazynowych charakterystycznych dla atypowych leków przeciwpsychotycznych: aripiprazolu (2,3-dichlorofenyl), ziprasidonu (benzizotiazol), risperidonu (benzizoksazol).

Dla wybranych związków: PZ-380 (2,3-dichlorofenyl), PZ-395 (3-chlorofenyl), PZ-385 (benzizotiazol), PZ-498 (benzizoksazol) określono metodami *in vitro* powinowactwo do receptorów serotoninowych 5-HT1A i 5-HT2A oraz dopaminowych D2. Ocenę aktywności funkcjonalnej do tych receptorów przeprowadzono przy pomocy testów *in vivo*: ciepłoty ciała u myszy, opadnięcia dolnej wargi u szczurów, potrząsania głową po (±)-DOI u myszy oraz wspinania po (R)-(-)-apomorfinie u myszy.

Wartości powinowactwa Ki (w nM) badanych pochodnych do receptora 5-HT1A oznaczono w granicach 23-229, do 5-HT2A – 6,1-121, natomiast do D2 – 4-40. PZ-385 wykazał aktywność antagonistyczną wobec postsynaptycznych receptorów 5-HT1A, natomiast PZ-395 okazał się pełnym antagonistą (pre- i postsynaptycznym) 5-HT1A. Obydwa związki okazały się antagonistami 5-HT2A i D2. PZ-380 określono jako częściowego agonistę D2 i antagonistę 5-HT2A. Dla PZ-498 ustalono aktywność antagonistyczną wobec receptorów 5-HT2A.

Wysokie wartości powinowactwa do receptorów monoaminergicznych, istotnych dla aktywności atypowych leków przeciwpsychotycznych, oraz potwierdzona *in vivo* aktywność funkcjonalna prezentowanych związków uzasadniają przeprowadzenie poszerzonych badań behawioralnych, pozwalających ocenić potencjalne działanie przeciwpsychotyczne nowo zsyntetyzowanych substancji.

Badanie finansowane przez: MNiSW (NN 405 378437), Polsko-Norweski Fundusz Naukowy (PNRF-103-AI-1/07) i Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (K/ZDS/001293)

TOMASZ WRÓBEL, ŁUKASZ MATEUSZUK, KATARZYNA MAJZNER,
STEFAN CHŁOPICKI, MAŁGORZATA BARAŃSKA

ANALIZA SKŁADU BIOCHEMICZNEGO ORAZ WYZNACZENIE POWIERZCHNI BLASZEK MIAŻDŻYCOWYCH U MYSZY APOE/LDLR-/- PRZY UŻYCIU SPEKTROSKOPII FT-IR

Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński

Jagiellońskie Centrum Rozwoju Leków (JCET), Uniwersytet Jagielloński

Katedra Farmakologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Analiza złogów miażdżycowych przy użyciu spektroskopii FT-IR najczęściej ogranicza się do identyfikacji głównych komponentów, tj. białek, lipidów, fosfolipidów, DNA/RNA, cukrów. Technika FT-IR pozwala również na analizę względnej zawartości wybranych komponentów blaszki miażdżycowej oraz ich dystrybucji i bardziej precyzyjną charakterystykę stanu biochemicznego tkanki. Poprzednio wykazaliśmy [1] zróżnicowanie złogu w zaawansowanej miażdżycy (12-miesięczna mysz ApoE/LDLR-/-) pod kątem rozkładu lipidów (cholesterolu i jego estrów) oraz pokazaliśmy, że wyniki spektroskopii FT-IR uzupełnione przez analizę metodą Hierarchical Cluster Analysis (HCA) w zakresie 2200–3800 cm-1 wykazują dobrą korelację z wynikami barwienia Oil Red O (ORO) dla tej samej tkanki.

W niniejszej pracy oceniliśmy wielkość blaszki miażdżycowej techniką FT-IR na podstawie HCA dla całego przekroju aorty i zbadaliśmy korelację pomiędzy powierzchnią blaszek miażdżycowych wyznaczonych tą metodą oraz tradycyjną metodą bazującą na barwieniu lipidów czerwienią oleistą (ORO). Badane były tkanki myszy ApoE/LDLR-/- w wieku 3, 4 i 6 miesięcy. Wyznaczona korelacja pomiędzy predykcją FT-IR a danymi referencyjnymi opartymi na barwieniu ORO pozwoliła uzyskać współczynnik determinacji R2=0,971. Dodatkowo, sposób, w jaki wydzielały się w analizie HCA klasy tkanki zawierającej blaszki miażdżycowe oraz ściany aorty dla myszy 4- i 6-miesięcznych, sugeruje istnienie wyraźnie różnych podklas w blaszce miażdżycowej: jednej o silnym charakterze lipidowym (*necrotic core*) oraz drugiej o dużej zawartości białek. Dalsza analiza fragmentów tkanki, zdefiniowanych przez HCA jako obszar blaszki miażdżycowej, pozwoliła na bardziej precyzyjną ocenę składu chemicznego wczesnej i późnej blaszki miażdżycowej, przede wszystkim pod kątem zawartości cholesterolu, jego estrów oraz białek.

[1] T.P. Wróbel, L. Mateuszuk, K. Małek, S. Chłopicki, M. Barańska, „Analyst” 2011, 136 (24), 5247.

IWONA ZACZYK

STAN ZDROWIA ORAZ SPRAWNOŚĆ FUNKCJONALNA LUDZI STARSZYCH KORZYSTAJĄCYCH Z OPIEKI PIELĘGNIARSKIEJ W ŚRODOWISKU DOMOWYM A JAKOŚĆ ICH ŻYCIA NA PODSTAWIE WYNIKÓW BADANIA PILOTAŻOWEGO

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

Wstęp: Sytuacja demograficzna sprawia, iż głównymi odbiorcami opieki zdrowotnej są ludzie starsi. Na skutek przemian społeczno-ekonomicznych wzrasta znaczenie opieki środowiskowej. Poznanie stanu zdrowia ludzi z tej grupy wiekowej oraz zainteresowanie ich jakością życia są priorytetowymi zadaniami, jakie stają przed świadczeniodawcami tej opieki.

Cel pracy: Celem pracy jest przedstawienie stanu zdrowia oraz sprawności funkcjonalnej ludzi starszych korzystających z opieki pielęgniarskiej w swoim środowisku domowym oraz określenie relacji między stanem zdrowia, sprawnością funkcjonalną a jakością ich życia. Prezentowane wyniki wstępne stanowią podstawę do dalszych badań, które w przyszłości posłużą do wypracowania modelu opieki pielęgniarskiej.

Materiał i metody: Badaniem objęto grupę 30 pacjentów w wieku 75 lat i więcej, korzystających w ciągu ostatnich sześciu miesięcy z opieki pielęgniarskiej w miejscu swojego zamieszkania. Narzędziem badawczym był kwestionariusz wywiadu, sprawność funkcjonalną określono na podstawie zastosowanej skali Barthel, do oceny jakości życia wykorzystano skalę WHOQOL-BREF.

Wyniki: W badanej grupie większość osób stanowiły kobiety, głównie w wieku 80 lat. Większość z nich była samodzielna przy wykonywaniu codziennych czynności. Zapotrzebowanie na opiekę pielęgniarską warunkowane było stanem zdrowia oraz sprawnością funkcjonalną. Większość badanych mieszkała sama. Badane osoby w większości były zadowolone z życia.

Wnioski: Istnieje związek pomiędzy stanem zdrowia, sprawnością funkcjonalną ludzi starszych a jakością ich życia. Występowanie problemów zdrowotnych oraz mniejszej samodzielności w codziennym życiu decyduje o doświadczaniu gorszej jakości życia.

MICHAŁ ZĄBCZYK, GRZEGORZ KARKOWSKI,
JACEK MAJEWSKI, ANETTA UNDAS

WŁAŚCIWOŚCI SKRZEPU FIBRYNOWEGO U PACJENTÓW Z UTRWALONYM MIGOTANIEM PRZEDSIONKÓW

Zakład Kardiochirurgii, Anestezjologii i Kardiologii Doświadczalnej, Instytut Kardiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II

Klinika Elektrokardiologii, Instytut Kardiologii, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Migotanie przedsionków (Atrial Fibrillation-AF) ma związek ze stanem prozakrzepowym. Choroby zakrzepowo-zatorowe, takie jak zawał serca, udar mózgu i zakrzepica żył głębokich, wiążą się z niekorzystnie zmienionymi właściwościami fibryny, a antagoniści witaminy K (Vitamin K Antagonists – VKA) zwiększają przepuszczalność sieci fibryny w modelu z osoczem wzorcowym. U 53 pacjentów z utrwalonym AF, z których 38 stosowało przewlekle VKA, oraz u 20 zdrowych osób zbadano przepuszczalność skrzepu fibrynowego (Ks) metodami z wykorzystaniem czynnika tkankowego (Tissue Factor-TF) (Ks(TF)) i trombiny (Ks(FIIa)). Oceniono również czas lizy skrzepu wywołanej rekombinowanym tkankowym aktywatorem plazminogenu w obecności 1 pmol/l TF według Lismana i współpracowników (tTF) oraz w obecności 0,06 U/ml trombiny bez TF według Carter i współpracowników (tFIIa). U pacjentów z AF przyjmujących VKA stwierdzono o 47,2% wyższy Ks(TF) niż u pacjentów bez antykoagulacji ($p<0,001$) oraz o 29,8% wyższy Ks(TF) niż u osób zdrowych ($p<0,001$).

U antykoagulowanych chorych Ks(TF) korelował z międzynarodowym współczynnikiem znormalizowanym (International Normalized Ratio-INR) ($r=0,46$, $p=0,004$) przy medianie INR 2,29 (1,85–2,98). Ks(FIIa) był obniżony u chorych z AF (przyjmujących i nieprzyjmujących VKA) w porównaniu do grupy kontrolnej ($p<0,001$ dla obydwu).

tTF oraz tFIIa nie różniły się u pacjentów z AF leczonych i nieleczonych VKA, natomiast były wydłużone w całej grupie chorych z AF w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio $p=0,001$ oraz $p=0,012$). Wyniki badania po raz pierwszy pokazują, iż pacjentów z AF charakteryzuje prozakrzepowy fenotyp skrzepu fibrynowego ze zmniejszoną przepuszczalnością i obniżoną wrażliwością na lizę. Stosowanie VKA wpływa korzystnie na strukturę skrzepu fibrynowego u chorych z AF, jednakże nie zwiększa potencjału fibrynolitycznego osocza.

JOANNA ŻUK, STANISŁAWA BAZAN-SOCHA, JACEK MUSIAŁ

INTEGRYNOWE RECEPTORY KOLAGENOWE I ICH ROLA W TRANSMIGRACJI KOMÓREK KRWI OBWODOWEJ

II Katedra Chorób Wewnętrznych, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Limfocyty T pomocnicze odgrywają główną rolę w inicjowaniu przewlekłego zapalenia w astmie oskrzelowej, a eozynofile są komórkami efektorowymi w tym procesie. Rekrutacja komórek zapalnych z krwi do oskrzeli jest mediowana przez cząsteczki adhezji komórkowej, m.in. integryny. W astmie jak dotąd poznano rolę integryn zawierających podjednostki α4 i β2. Rolę w migracji komórek zapalnych w astmie mogą odgrywać również kolagenowe receptory integrynowe α1β1 i α2β1. Nasz zespół opisał ostatnio zwiększoną ekspresję podjednostek α1 i α2 na powierzchni eozynofilów oraz α2 na powierzchni limfocytów T u chorych na astmę.

Cel pracy: Celem pracy była analiza wpływu selektywnych antagonistów integryn α1β1 i α2β1 na transmigrację eozynofilów oraz jednojądrzastych komórek krwi obwodowej przez warstwę ludzkich komórek mikrowaskularnych śródbłonka u 9 pacjentów chorujących na astmę oskrzelową przewlekłą, umiarkowaną.

Metody: Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej oraz eozynofile były izolowane z krwi obwodowej. Do zahamowania funkcji integryn użyto ich selektywnych antagonistów – antyadhezyjnych białek izolowanych z jadów węży (viperistatyna, VP12, VLO4). Zbadano również ekspresję podjednostek α1, α2, α4 i β1 na powierzchni limfocytow T z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Do eksperymentów z transmigracją użyto ludzkich komórek mikrowaskularnych śródbłonka HMVEC. W analizie statystycznej zastosowano test Wicoxona.

Wyniki: Wszystkie antyadhezyjne białka zablokowały transmigrację eozynofilów, ale jedynie VLO4 zahamowało transmigracje komórek jednojądrzastych przez warstwę HMVEC.

Wnioski: α1β1- i α2β1integryny prawdopodobnie odgrywają istotną rolę w transmigracji eozynofilów do miejsca zapalenia. Podjednostka α2 jest również obecna na CD4 i CD8 limfocytach, ale jej znaczenie pozostaje niejasne. Integryna α2β1 była opisywana jako stymulator depozycji kolagenu – wydaje się prawdopodobne, że może odgrywać rolę w remodellingu w astmie oskrzelowej.

KAMILA ŻUR-WYROZUMSKA, MATEUSZ ADAMSKI, ANDRZEJ SZCZUDLIK

POLIMORFIZMY GENU MTHFR C677T JAKO CZYNNIK RYZYKA ROZWOJU SPORADYCZNEJ POSTACI STWARDNIENIA BOCZNEGO ZANIKOWEGO

Katedra Neurologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum

Wstęp: Stwardnienie boczne zanikowe (SBZ) jest chorobą zwyrodnieniową układu nerwowego o postępującym przebiegu i nieznanej jak dotąd etiologii. Polimorfizm genu MTHFR 677 TT jest związany ze znaczącym zmniejszeniem aktywności enzymu 5,10-metylenotetrahydrofoliatu reduktazy, powodującego wzrost poziomu homocysteiny we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym. Homocysteina wykazuje właściwości neurotoksyczne związane ze wzrostem stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia i tworzenia wolnych rodników tlenkowych, bierze udział w indukcji dysfunkcji mitochondriów i apopotozy neuronów. U pacjentów z rozpoznanym stwardnieniem bocznym zanikowym stwierdzono podwyższony poziom homocysteiny we krwi oraz płynie mózgowordzeniowym.

Cel badania: Celem badania jest określenie wpływu poszczególnych polimorfizmów genu MTHFR oraz poziomu homocysteiny w surowicy krwi na ryzyko rozwoju sporadycznej postaci stwardnienia bocznego zanikowego.

Materiał i metody: Do badania włączono kolejnych 250 pełnoletnich osób z rozpoznaniem pewnego i prawdopodobnego SBZ według kryteriów WFN El Escorial 1998, leczonych w Klinice Neurologii UJ CM w Krakowie. Grupę kontrolną stanowi 500 zdrowych pełnoletnich osób wywodzących się z populacji krakowskiej. Leukocytarne DNA jest ekstrahowane przy użyciu kitu (High Pure PCR Template Preparation Kit; Boehringer Mannheim). Ustalenia polimorfizmu genu MTHRF są przeprowadzane metodą Allelic Discrimination Assays z użyciem TaqMan®Genotyping Master Mix, Mini-Pack, C_1202883, MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, MicroAmp®Optical Adhesive Film, według ustalonego protokołu na aparacie 7900HT Fast-Real Time PCR System. U 60 osób z rozpoznanym SLA oraz u 60 osób z grupy kontrolnej zostanie oznaczony poziom osoczowego stężenia homocysteiny, witaminy B12 oraz kwasu foliowego. U każdej osoby będzie przeprowadzona ankieta oceniająca przebieg choroby.

Wyniki: Uzyskane wyniki będą poddane analizie statystycznej.