WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

UNIVERSITAS MEDICA VARSOVIENSIS 19 26 FACULTAS PHARMACEUTICA

FINAŁ KONKURSU PRAC MAGISTERSKICH

XII KPM ANALITYKI MEDYCZNEJ
LVIII KPM FARMACJI

18.03.2022r. godzina 10.00

Wydział Farmaceutyczny

Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej Oddział Warszawski

Samorząd Studentów Wydziału Farmaceutycznego WUM

KLM LP

Pharmaceris

sysmex

PTSF WARSZAWA

STDL STUDENCKIE TOWARZYSTWO DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH WUM

OKRĘGOWA IZBA APTEKARSKA W WARSZAWIE

WYDZ FARM WUM

JRS

IZBA DIAGNOSTÓW LABORATORYJNYCH KIDL

farmacja.net

www.mgr.farm

jestem.farmaceutą

USP Zdrowie

POLSKIE TOWARZYSTWO FARMACEUTYCZNE

Program Finału Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich

XII Konkurs Prac Magisterskich kierunku Analityka Medyczna

LVIII Konkurs Prac Magisterskich kierunku Farmacja

10.00 – 10.10 **Uroczyste otwarcie Konferencji** - *dr hab. n. farm. Agnieszka Bazylko, Prodziekan Wydziału Farmaceutycznego WUM*

10.10 – 10.20 **Wystąpienie Dziekan Wydziału Farmaceutycznego** - *dr hab. n. farm. Joanna Kolmas*

10.20 – 10.30 **Wystąpienia zaproszonych Gości**

10.30 – 11.00 **Wykład pt.** ***Nadkrzepliwość w przebiegu dyskrazji plazmocytowych – zidentyfikowane i potencjalne przyczyny, konsekwencje, leczenie*** - *dr hab. Olga Ciepiela*

11.00 – 12.45 **Wystąpienia konkursowe Finalistów**

Joanna Zieleźnicka

Anna Król

Wioletta Lenga

Klaudia Ślusarczyk

Anna Hodun

Agata Świerczek

Mateusz Żaczko

Bartłomiej Pyrak

12.45 – 13.15 **Przerwa**

13.15 – 15.00 **Wystąpienia konkursowe Finalistów**

Adrian Lech

Karolina Bakuła

Katarzyna Znajdek

Jakub Pepłowski

Łukasz Kłopotowski

Bartosz Zawadzki

Anna Gruszczyńska

Marta Kruk

Paulina Sawulska

15.00 – 15.30 **Wykład pt.** ***Wpływ czynników żywieniowych na markery stanu zapalnego i przebieg choroby wśród pacjentów kardiologicznych***

dr Magdalena Makarewicz-Wujec

15:30 – **ogłoszenie wyników**

HONOROWY PATRONAT

Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Gaciong
Jego Magnificencja Rektor
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

dr hab. n. farm. Joanna Kolmas
Dziekan Wydziału Farmaceutycznego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

WARSZAWSKI
UNIWERSYTET
MEDYCZNY

UNIVERSITAS MEDICA VARSOVIENSIS
19 26
FACULTAS PHARMACEUTICA

KOMITETY ORGANIZACYJNE
WYDZIAŁOWEGO KONKURSU PRAC MAGISTERSKICH

kierunku Farmacja

dr hab. n. farm. Agnieszka Bazylko
dr Małgorzata Jeziorek
Zuzanna Basińska
Bianka Cygan
Daria Jackowska
Aleksander Kuźmicz

kierunku Analityka medyczna

dr hab. n. farm. Agnieszka Bazylko
dr hab. n. med. Olga Ciepiela
Julia Stańczyk
Aleksandra Kumorek
Aleksandra Kijak
Marcin Jaworski
Marcin Śmiarowski

dr hab. n. med. Olga Ciepiela

Wykład pt. *Nadkrzepliwość w przebiegu dyskrazji plazmocytowych – zidentyfikowane i potencjalne przyczyny, konsekwencje, leczenie*

Dyskrazje plazmocytowe to grupa chorób, w których obserwuje się monoklonalny rozrost komórek plazmatycznych w szpiku. Komórki plazmatyczne mają zdolność do produkcji cząsteczek immunoglobulin, białek odgrywających istotną rolę w mechanizmach odporności humoralnej. W warunkach prawidłowych komórki plazmatyczne produkują antygenowo-swoiste immunoglobuliny zwane przeciwciałami, których rolą jest związanie patogenów i doprowadzenie do ich zniszczenia przez wyspecjalizowane komórki układu odpornościowego. U pacjentów z dyskrazjami plazmocytowymi dochodzi do niekontrolowanej proliferacji jednego klonu plazmocytów i produkcji immunoglobulin, które zamiast być ważną częścią odpowiedzi immunologicznej, stają się cząsteczkami białkowymi uszkadzającymi nerki czy zwiększającymi lepkość krwi.

Pacjenci z rozpoznaniem dyskrazji plazmocytowych, a w szczególności szpiczaka plazmocytowego, mają zwiększone ryzyko rozwoju nadkrzepliwości i zatorowości żylnej. Dotychczas zidentyfikowano szereg czynników, które sprzyjają nadkrzepliwości w przebiegu tych chorób. Należą do nich stan nadlepkości spowodowany nadmierną produkcją immunoglobulin, autoimmunizacyjne właściwości białka monoklonalnego czy nadmierna produkcja cytokin prozapalnych, takich jak IL-6 czy TNF-α indukujących syntezę białek prokrzepliwych np. czynnika tkankowego. W przebiegu dyskrazji zaobserwowano również zwiększone stężenia czynnika von Willebranda, fibrynogenu i nasiloną generację trombiny, co może skutkować nadkrzepliwością. Wciąż jednak trwają poszukiwania kolejnych czynników, które zwiększają ryzyko nadkrzepliwości w tej grupie pacjentów.

Streszczenia prac magisterskich finalistów
Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich

Joanna Zieleźnicka

Opracowanie metody krioprezerwacji oraz analiza fitochemiczna korzeni transformowanych Polyscias filicifolia Bailey.

Cel pracy: Opracowanie warunków skutecznej krioprezerwacji. Ocena wpływu zastosowanego czasu dehydratacji powietrznej na: przeżywalność, wzrost biomasy, morfologię oraz wytwarzanie kwasu oleanolowego i kwasu chlorogenowego w korzeniach transformowanych P. filicifolia.

Wyniki: W niniejszej pracy po raz pierwszy udało się opracować warunki krioprezerwacji korzeni transformowanych P. filicifolia. Z zastosowanych przed krioprezerwacją czterech wariantów czasu dehydratacji powietrznej, 4-godzinny czas najkorzystniej wpłynął na wytwarzanie kwasu oleanolowego, natomiast 6-godzinny czas dehydratacji wpłynął najkorzystniej na przeżywalność, tempo przyrostu biomasy oraz wydajność wytwarzania kwasu chlorogenowego.

Słowa kluczowe: Polyscias filicifolia, krioprezerwacja, kwas oleanolowy, kwas chlorogenowy

Anna Król

Gospodarka hormonalna tarczycy a stres i libido u kobiet.

Rola hormonów tarczycy w organizmie jest szeroka i obejmuje wiele układów. Ze względu na większe obciążenie występowaniem zaburzeń tego gruczołu u kobiet, monitorowanie stężeń jodotyronin zalicza się u nich do podstawowej diagnostyki. Literatura nie dostarcza jednoznacznych wyników na potwierdzenie związku między funkcjonowaniem gruczołu tarczycowego a dysfunkcjami seksualnymi i stresem. Dlatego celem pracy było określenie relacji pomiędzy poziomem stresu, libido a stężeniem wybranych hormonów tarczycy: TSH, TT3 i TT4.

W badaniu wzięło udział 37 kobiet w wieku między 18 a 45 lat. Stężenia TSH, jodotyronin, kortyzolu i wolnego testosteronu w surowicy a także kortyzolu w ślinie oznaczano testem ELISA. Do oceny stopnia satysfakcji seksualnej zastosowano kwestionariusze SSS-W oraz Mell-Krat dla kobiet. Do pomiaru natężenia stresu wykorzystano ankietę PSS-10.

Istotne różnice w stężeniach TSH stwierdzono pomiędzy grupami kobiet o wysokim i przeciętnym poziomie stresu. Wykazano, że wraz ze wzrostem natężenia stresu wzrastało stężenie wolnego testosteronu niezależnie od statusu satysfakcji seksualnej. Ponadto analiza wyników uwidoczniła dodatnią korelację stężeń prolaktyny i TSH u kobiet o niskim poziomie stresu oraz ujemną korelację testosteronu i TSH wśród kobiet o wysokim poziomie stresu. Zauważono również, że częstsze stosunki seksualne deklarowały osoby o wysokim poziomie stresu. Nie zaobserwowano istotnych zależności pomiędzy stężeniami hormonów tarczycy a poziomem odczuwanego stresu jak również między obecnością niskiej reaktywności seksualnej wśród badanej grupy kobiet.

W oparciu o uzyskane wyniki nie można jasno stwierdzić, że istnieje zależność między gospodarką hormonalną tarczycy a stresem oraz libido u kobiet. Niewątpliwie jednak poziom odczuwanego stresu ma wpływ na występowanie korelacji pomiędzy stężeniami TSH, wolnego testosteronu, prolaktyny oraz kortyzolu u kobiet.

Słowa kluczowe: tarczyca, hormony tarczycy, stres, libido, zaburzenia seksualne.

Wioletta Lenga

Ocena wpływu mikroplastików obecnych w środowisku wodnym na toksyczność sertraliny dla pierwotniaków Spirostomum ambiguum.

Celem pracy była ocena toksyczności sertraliny w obecności cząstek mikroplastików (MP) – PET, PVC, PS oraz żywicy.

Przeprowadzono test toksyczności ostrej Spirotox w którym jako organizm testowy wykorzystuje się pierwotniaka Spirostomum ambiguum. Pierwotniaki były narażane na 24-godzinne działanie sertraliny w obecności mikrodrobin plastiku lub drożdży. Po tym czasie sprawdzano odpowiedź testową, którą była śmierć lub deformacja organizmów. Na podstawie uzyskanych wartości EC50 stwierdzono, że obecność zawiesiny drożdży obniża toksyczność sertraliny wobec pierwotniaków, natomiast politereftalan etylenu ją zwiększa. Śmiertelność organizmów występowała przy niższym stężeniu sertraliny w zawiesinach żywicy i polistyrenu.

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic we wskaźnikach EC50 i LC50 dla leku z i bez dodatku polichlorku winylu. Równolegle do testu Spirotox, za pomocą HPLC sprawdzano stężenie sertraliny w zawiesinach w czasie 0-24h od ich przygotowania. W zawiesinach zawierających żywicę i polistyren zaobserwowano zmiany stężenia w czasie, co sugeruje, że lek może adsorbować się na ich mikrodrobinach. Ponadto w pracy badano pobieranie cząstek MP i drożdży przez S.ambiguum w obecności sertraliny o stężeniu 0,34; 0,11 i 0,034 mg/l. W najwyższym badanym stężeniu, po 24h zaobserwowano, że niezależenie od rodzaju polimeru następowało zahamowanie pobierania cząstek. Zaobserwowano także, że dobowa ekspozycja na niskie stężenie sertraliny ogranicza pobieranie komórek drożdży, natomiast nie ogranicza pobierania mikrocząstek plastiku.

Słowa klucze: ekotoksykologia, sertralina, SSRI, Spirostomum ambiguum, mikroplastik, żywica, polistyren, PET, PVC

Klaudia Ślusarczyk

Wpływ polimorfizmu C677T genu MTHFR na stężenie folianu i witaminy B12 oraz występowanie wybranych zaburzeń metabolicznych u osób dorosłych z otyłością

Reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa (MTHFR) jest kluczowym enzymem uczestniczącym w metabolizmie folianów, homocysteiny i metioniny. Katalizuje przekształcenie 5,10-metylenotetrahydrofolianu do aktywnego folianu jakim jest 5-metylotetrahydrofolian. Celem pracy było zbadanie związku polimorfizmu C677T ze stężeniem folianu i witaminy B12 u dorosłych otyłych. Poszukiwano również zależności pomiędzy parametrami biochemicznymi a posiadanym genotypem C677T genu MTHFR, w tym: stężeniem folianu i witaminy B12, stężeniem glukozy, insuliny, adiponektyny, wartością współczynnika HOMA-IR, stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, LDL i stężeniem triglicerydów wśród 705 otyłych pacjentów. Oceniono również zależności pomiędzy występowaniem poszczególnych genotypów a wybranymi zaburzeniami metabolicznymi takimi jak: cukrzyca, dyslipidemia czy nadciśnienie tętnicze.

Polimorfizm C677T genu MTHFR zbadano metodą PCR-RFLP oraz real time-PCR. Stężenie insuliny i adiponektyny oznaczono testem immunoenzymatycznym ELISA. Przy pomocy programu STATISTICA 13.3 przeprowadzono analizę statystyczną.

Wykazano, że stężenie folianu jest istotnie niższe u pacjentów z genotypem TT. Co więcej nosiciele genotypu TT z II stopniem otyłości charakteryzowali się znacznie niższym stężeniem witaminy B12. Ponadto w grupie pacjentów z genotypem TT nie wykazano dodatniej korelacji pomiędzy stężeniem witaminy B12 a stężeniem folianu. co wskazuje na zaburzenie równowagi ich stężeń. Wpływu polimorfizmu C677T nie wykazano natomiast w odniesieniu do zwiększonego ryzyka wystąpienia zaburzeń metabolicznych, takich jak: cukrzyca, dyslipidemia czy nadciśnienie tętnicze.

Słowa kluczowe: reduktaza 5,10-metylenotetrahydrofolianowa, polimorfizm C677T, folian, witamina B12, otyłość

Anna Hodun

Biomimetyczne kompozyty kolagenowo-apatytowe jako nośniki do dokostnego dostarczania ciprofloksacyny

Badania przeprowadzono w 2020 roku na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Zakładzie Chemii Analitycznej.

Celem pracy było otrzymanie biomimetycznych kompozytów kolagenowo-apatytowych, które mogłyby być wykorzystane jako nośniki ciprofloksacyny do tkanki kostnej.

Do uzyskania 4 rodzajów kompozytów wykorzystano dwie metody syntezy hydroksyapatytu (bezpośrednie mieszanie wcześniej strąconego hydroksyapatytu z roztworem gotowego kolagenu i strącanie hydroksyapatytu w roztworze gotowego kolagenu) oraz dwa stosunki ilościowe kolagenu do hydroksyapatytu (50:50 i 17:83). W toku syntezy hydroksyapatyt wzbogacono jonami: Mg^{2+}, Na^{+} i Cl^{-} , aby uzyskać materiał jak najbardziej naśladujący apatyt biologiczny. Do syntetyzowanego hydroksyapatytu dodano także jony SeO_3^{2-} . Uzyskane kompozyty przebadano pod kątem wykorzystania ich jako lokalne systemy dostarczające antybiotyk bezpośrednio do tkanki kostnej.

Do oceny kinetyki uwalniania leku z nośnika użyto wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej (HPLC). Aby zweryfikować tożsamość uzyskanych kompozytów i określić ich właściwości fizykochemiczne, poddano je badaniom technikami: spektroskopii oscylacyjnej w podczerwieni (IR), skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), spektroskopii dyspersji promieniowania rentgenowskiego (EDS) i dyfraktometrii proszkowej (PXRD).

Otrzymane wyniki potwierdziły tożsamość i przydatność badanych kompozytów kolagenowo-apatytowych do dokostnego dostarczania ciprofloksacyny.

Słowa kluczowe: kompozyt, hydroksyapatyt, kolagen, nośnik leku, ciprofloksacyny, porowatość.

Agata Świerczek

Kopolimery ε-kaprolaktonu i glikolu polioksyetylenowego jako hydrożelowe nośniki paklitakselu – synteza i charakterystyka.

W niniejszej pracy podjęto próbę otrzymania oraz charakterystyki termowrażliwych systemów hydrożelowych jako potencjalnych nośników paklitakselu.

W ramach pracy eksperymentalnej przeprowadzono polimeryzację monomerów CL, rac-LA oraz koinicjatora PEG, otrzymując blokowe kopolimery PCLA-PEG-PCLA. W początkowych etapach zoptymalizowano proces syntezy, analizując strukturę oraz właściwości każdej z próbek polimeru. Analiza 1H NMR potwierdziła strukturę otrzymanych polimerów, natomiast metoda GPC umożliwiła wyznaczenie średniej masy molowej oraz współczynnika jej dyspersji. Zdolność żelowania otrzymanych polimerów wyznaczono metodą odwrócenia probówek.

Wyniki badań wykazały, że badane polimery mogą posiadać odpowiednie właściwości w granicach temperatur zbliżonych do temperatury fizjologicznej. W dalszej części pracy otrzymano matryce polimerowe w większej skali w oparciu o wcześniej zoptymalizowane parametry. Otrzymane wyniki są zgodne z tymi otrzymanymi w skali mniejszej. Dzięki zebranym informacjom podczas każdego z procesów określono parametry wpływające na właściwości oraz przebieg otrzymywania matryc polimerowych. Matryce poddano sieciowaniu fizycznemu oraz sprawdzono ich rozpuszczalność. Próbki polimerów o najkorzystniejszych właściwościach wykorzystano jako nośniki PTX poprzez zawieszenie w matrycy słabo rozpuszczalnej substancji leczniczej. Zbadano również profile uwalniania PTX z wyselekcjonowanych próbek hydrożelu oraz określono ich kinetykę. W chwili obecnej prowadzone są badania toksyczności wyżej opisanych matryc.

Słowa kluczowe: paklitaksel, termowrażliwe hydrożele, leki przeciwnowotworowe, kopolimery rac-laktydu, ε-kaprolaktonu, glikolu polioksyetylenowego.

Mateusz Żaczko

Badanie cytotoksycznego wpływu promieniowania alfa na komórki raka gruczołu krokowego DU145

Rak gruczołu krokowego jest jednym z najczęściej występujących nowotworów wśród mężczyzn, zwłaszcza po 40 roku życia. Ze względu na powstawanie oporności komórek nowotworowych na promieniowanie jonizujące, technika radiacyjna leczenia tego nowotworów często jest nieskuteczna, dlatego poznanie mechanizmów powstawania oporności wydaje się być kluczowe aby móc modulować odpowiedź komórkową tak, by leczenie przeciwnowotworowe zakończyło się sukcesem.

Celem niniejszej pracy było zbadanie cytotoksyczności promieniowania alfa na komórki raka gruczołu krokowego DU145. W przeprowadzonych badaniach określono żywotność komórek za pomocą błękitu trypanu, zbadano integralność błony komórkowej za pomocą testu LDH, oceniono aktywację szlaków apoptozy oraz nekrozy za pomocą testu z Aneksyną-V i 7-AAD, a także ilość wydzielonej IL-6 przez komórki pod wpływem promieniowania.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że promieniowanie alfa w dawkach 0,6 Gy i 1 Gy nie wpływa cytotoksycznie na komórki DU145, natomiast indukuje apoptozę oraz hamuje wydzielanie IL-6 przez badane komórki

Słowa kluczowe: promieniowanie alfa, rak gruczołu krokowego, DU145, cytotoksyczność, apoptoza

Bartłomiej Pyrak

Poszukiwanie selektywnych antagonistów receptora leukotrienowego drugiego z wykorzystaniem metod dokowania molekularnego

Za sygnalizację międzykomórkową w trakcie rozwoju stanu zapalnego odpowiadają mediatory molekularne, do których należy grupa leukotrienów cysteinylowych. Pod koniec lat 90. XX. w. opracowano pierwsze leki przeciwleukotrienowe, działające poprzez antagonizm w stosunku do receptora leukotrienowego 1 (CysLT1R). Z drugiej strony, w ludzkim organizmie ekspresję wykazuje również receptor leukotrienowy 2 (CysLT2R), dla którego nie opracowano selektywnego antagonisty. Zaprojektowanie cząsteczki o takich właściwościach pozwoliłoby na opracowanie nowych strategii leczenia chorób, którym towarzyszy przewlekły stan zapalny.

Celem pracy było zaprojektowanie selektywnego antagonisty receptora leukotrienowego drugiego z wykorzystaniem metod dokowania molekularnego.

Pracę podzielono na dwa etapy. W I etapie dokonano przeglądu literaturowego oraz selekcji związków, wykazujących działanie względem receptorów leukotrienowych i zadokowano je do wcześniej przygotowanych struktur tych receptorów. Na podstawie uzyskanych wyników dokowania oraz wyników badań biologicznych z literatury wyselekcjonowano grupę związków, złożonych ze struktur o potencjalnym wysokim powinowactwie oraz potencjalnie wysokiej selektywności względem CysLT2R. W II etapie wyselekcjonowane związki poddano modyfikacjom, w celu otrzymania nowych związków o jak najwyższej selektywności względem CysLT2R. W ten sposób szereg nowych związków o potencjalnie wysokim powinowactwie do receptorów leukotrienowych, trzy z nich odznaczały się również bardzo wysoką selektywnością względem CysLT2R. Analiza sposobu wiązania tych związków do receptora pozwoliła na opisanie grupy aminokwasów stabilizujących oddziaływanie ligand-białko. Przeprowadzone teoretyczne oszacowanie właściwości fizykochemicznych i farmakologicznych ukazały duże podobieństwo trzech zaprojektowanych związków z obecnie stosowanymi antagonistami CysLT1R o działaniu przeciwastmatycznym.

Wynikiem pracy było opracowanie trzech związków o potencjalnym wysokim powinowactwie i selektywności względem CysLT2R. Struktury te warto zsyntetyzować i zbadać ich właściwości farmakokinetyczne oraz profil farmakologiczny, gdyż związki te mogą stanowić podstawę dla nowych strategii leczenia dużej grupy chorób przewlekłych.

Słowa kluczowe: stan zapalny, receptory leukotrienowe, antagonizm, dokowanie

Adrian Lech

Badania biotransformacji związków zawartych w surowcach roślinnych tradycyjnie stosowanych w leczeniu zaburzeń psychicznych. Rola organizmów probiotycznych.

Cel pracy: Analiza fitochemiczna ekstraktów przygotowanych z korzenia Valeriana officinalis L., ziela Passiflora incarnata L., kłącza Piper methysticum oraz żeńskich kwiatostanów Humulus lupulus L. a następnie zbadanie metabolizmu związków zawartych w surowcach roślinnych tradycyjnie stosowanych w leczeniu zaburzeń psychicznych przy udziale szczepów probiotycznych oraz identyfikacja powstających metabolitów.

Wyniki: Wyniki doświadczalne wskazują, że organizmy probiotyczne mogą odgrywać znaczącą rolę w metabolizmie związków zawartych w badanych ekstraktach roślinnych. Ustalono, że szczep Lactobacillus rhamnosus odpowiadał za powstawanie dwóch pochodnych C-glikozydów flawonów w ekstrakcie z Passiflorae herba. Ponadto, możliwy jest udział rodzajów Lactobacillus i Bifidobacterium oraz szczepu Saccharomyces boulardii w metabolizmie glikozydów irydoidowych, kwasów α i β-goryczowych oraz ich pochodnych. Natomiast, w warunkach doświadczalnych, główne kawalaktony takich jak kawaina, 7,8-dihydrokawaina, desmetoksyyangonina, yangonina i dihydrometystycyna nie były metabolizowane przez żaden z badanych szczepów/preparatów probiotyków. Metoda inkubacji ekstraktów w płytkach do hodowli komórkowych pozwala na szybką i jednoczesną ocenę zmiany zawartości wielu związków. Ponadto, w przypadku leków pochodzenia naturalnego mamy zazwyczaj do czynienia z mieszaniną substancji, więc wydaje się że badanie całych ekstraktów może mieć lepsze przełożenie na warunki in vivo.

Słowa kluczowe: biotransformacja, probiotyk, postbiotyk, metabolizm, ekstrakt roślinny

Karolina Bakuła

Oznaczenie przeciwciał skierowanych przeciwko wirusowi Torque Teno (IgM-TTV i IgG-TTV) w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy krwi u pacjentów z zapaleniem mózgu

Zapalenie mózgu (ZM) to ostry proces zapalny obejmujący miąższ mózgu. Nawet u 63% pacjentów z ZM nie udaje się zidentyfikować czynnika etiologicznego choroby. W około 29% przypadków przyczyną choroby jest czynnik zakaźny, z czego większość zachorowań jest spowodowana przez różnorodne wirusy. Coraz częściej również wirus Torque Teno (TTV) jest opisywany jako prawdopodobny czynnik sprawczy ZM.

Celem pracy była ocena obecności przeciwciał skierowanych przeciwko wirusowi Torque Teno (IgM-TTV i IgG-TTV) w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy krwi u pacjentów z potwierdzonym ZM o nieustalonej etiologii.

W pracy analizie poddano materiał kliniczny (płyn mózgowo-rdzeniowy – PMR oraz surowice krwi) pobrany od 78 pacjentów z potwierdzonym ZM. Do oznaczania obecności przeciwciał (IgM-TTV i IgG-TTV) wykorzystano dwa komercyjne zestawy testów immunoenzymatycznych. Otrzymane wyniki serologiczne porównano z danymi klinicznymi pacjentów oraz z wynikami testów PCR wykrywających inne wirusy, mogące odpowiadać za rozwój choroby.

Przeciwciała IgM-TTV wykryto w surowicy krwi dwóch (2,56%) pacjentów. Przeciwciała IgG-TTV wykryto w surowicy 59 (75,64%) pacjentów oraz w dwóch (2,56%) próbkach PMR. W analizie statystycznej wykazano istotnie wyższą częstość występowania zaburzeń widzenia oraz niższą częstość występowania drgawek w grupie pacjentów bez IgG-TTV w surowicy krwi. Pacjenci z obecnością IgG-TTV w surowicy mają istotnie statystycznie wyższe stężenia glukozy w PMR. Dodatkowo, nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych w częstości wykrywania zakażeń OUN innymi wirusami niż TTV między pacjentami z IgG-TTV a pacjentami bez ich obecności w surowicy krwi.

Słowa kluczowe: zapalenie mózgu, wirus Torque Teno, ośrodkowy układ nerwowy, wirusowe zapalenie mózgu

Katarzyna Znajdek

Synteza oraz charakterystyka strukturalna i fizykochemiczna nowych soli memantyny

Choroba Alzheimera jest chorobą neurodegeneracyjną o złożonym podłożu. Objawia się zmniejszeniem sprawności umysłowej, utratą pamięci oraz zmianami nastroju i zachowania. Jedną z substancji farmakologicznie czynnych stosowanych w jej leczeniu jest chlorowodorek memantyny, charakteryzujący się lekką higroskopijnością i trudnym do zamaskowania gorzkim smakiem, powodującym niechęć do przyjmowania leku przez pacjentów. Gorycz substancji leczniczych może zostać zamaskowana poprzez tworzenie soli z substancjami o słodkim smaku.

Celem pracy było otrzymanie nowych soli memantyny o zmniejszonej higroskopijności i polepszonym smaku względem stosowanego obecnie chlorowodorku memantyny, jak również określenie ich struktury i właściwości fizykochemicznych. Syntezy dokonano poprzez reakcję wolnej zasady memantyny z kwasami: kwasem antranilowym, sacharyną oraz acesulfamem. Otrzymane substancje zbadano za pomocą: spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera, rentgenowskiej analizy strukturalnej monokryształów, rentgenowskiej dyfraktometrii proszkowej oraz skaningowej kalorymetrii różnicowej. Wykonano również badania rozpuszczalności, higroskopijności i wstępne badanie smaku.

W wyniku syntezy otrzymano hemihydrat sacharynianu memantyny, krystalizujący w grupie przestrzennej $P\bar{1}$, acesulfamian memantyny (Pbca) oraz dwie formy polimorficzne antranilanu memantyny: stabilną Formę I (P212121) i metastabilną Formę II ($P\bar{1}$). Utworzenie powyższych soli spowodowało niewielkie zmniejszenie rozpuszczalności względem chlorowodorku memantyny.

Każda z uzyskanych soli cechuje się polepszonym smakiem, a antranilan memantyny oraz sacharynian memantyny – również obniżoną higroskopijnością.

Słowa kluczowe: memantyna, tworzenie soli API, poprawa smaku substancji leczniczej, higroskopijność, SCXRD

Jakub Pepłowski

Analiza częstości mutacji w genie DHCR7 w materiale z poronień samoistnych.

Zespół Smitza-Lemliego-Opitza jest wrodzoną recesywną monogeniczną chorobą metaboliczną. Patomechanizm choroby opiera się na obecności bloku metabolicznego w końcowym etapie biosyntezy cholesterolu spowodowanym brakiem lub zmniejszoną aktywnością enzymu reduktaza 7-dehydrocholesterolu kodowanego przez gen DHCR7. Spektrum fenotypowe choroby jest bardzo szerokie, ale głównymi jej elementami są wielonarządowe malformacje, upośledzenie umysłowe, zaburzenia wzrostu oraz zachowania. Według danych literaturowych prewalencja choroby w Polsce wynosi około 1 na 83 000 żywych urodzeń, a częstość nosicielstwa patogennych mutacji w genie DHCR7 mieści się w granicach 3-4%. Wykorzystując prawo Hardy-Weinberga określające stosunki między frekwencją alleli, a częstością występowania genotypów, obliczono że tak wysoki odsetek nosicielstwa powinien skutkować prewalencją choroby na poziomie około 1 na 3000 żywych urodzeń, ponad 12-krotnie wyższą niż obserwowana. Jedną z hipotez wyjaśniającą tę znaczącą dysproporcję jest możliwa zwiększona śmiertelność chorych w okresie prenatalnym.

Celem pracy była ocena częstości występowania dwóch najczęściej obserwowanych mutacji w populacji polskiej w genie DHCR7, c.452G>A oraz c.976G>T, w materiale z poronień samoistnych o niezidentyfikowanej przyczynie.

Na 201 przebadanych próbek w żadnej nie stwierdzono obecności mutacji w układzie homozygotycznej świadczącej o obecności choroby. W 3 przypadkach zidentyfikowano zmutowany allel c.452G>A w układzie heterozygotycznym (nosicielstwo). W żadnej z próbek nie stwierdzono zmutowanego allelu c.976G>T. W badanej grupie częstość nosicielstwa mutacji c.452G>A wynosiła 1,5% i jest ona zbliżona do średniej częstości nosicielstwa tej mutacji w populacji polskiej (1,8%). Na podstawie powyższych badań można wnioskować, że SLOS nie jest powszechnie występującym zaburzeniem u płodów, których zgon nastąpił z niewyjaśnionej przyczyny.

Słowa kluczowe: reduktaza 7-dehydrocholesterolu, DHCR7, zespół Smitz-Lemli-Opitz, SLOS, mutacje genu DHCR7, nosicielstwo mutacji, biosynteza cholesterolu

Łukasz Kłopotowski

Poszukiwanie nowych związków do wczesnej terapii choroby Alzheimera przy zastosowaniu metod modelowania molekularnego.

Celem pracy była teoretyczna ocena, nowo zsyntetyzowanych pochodnych 5- i 7-hydroksykumaryn, pod kątem profilu farmakokinetycznego oraz lekopodobieństwa, wykorzystując parametry AMDET.

Kolejny etap polegał na przeprowadzeniu badań wstępnych służących do oszacowania powinowactwa analizowanych struktur do enzymów: acetylocholinoesterazy (AChE) oraz monoaminooksydazy (MAO-B). W tym celu porównano energie oddziaływań ligand-białko, obliczone za pomocą metod dokowania i mechaniki molekularnej, a także określono istotne cechy wielocelowanych inhibitorów stosowanych w terapii choroby Alzheimera. Badania umożliwiły wyłonienie struktur do dalszych badań biologicznych.

Podsumowując molekuły 1 oraz 3 są obiecującymi związkami w kontekście poszukiwania nowych inhibitorów AChE, jednakże wśród struktur o potencjalnym działaniu hamującym wobec MAO-B najbardziej obiecujące wyniki wykazują 2 oraz 3. Wszystkie badane struktury w większości mieszczą się w zakresach parametrów ADMET, wykazano możliwe działanie kardiotoksyczne badanych pochodnych kumarynowych.

Słowa klucz Pochodne 7-hydroksykumaryn, pochodne 5-hydroksykumaryn, acetylocholinoesteraza (AChE), monoaminooksydaza-B (MAO-B), parametry teoretyczne ADMET, symulacja molekularna

Bartosz Zawadzki

Ocena humoralnej odpowiedzi organizmu na szczepienia przeciwko COVID-19

Pod koniec 2019 roku świat obiegła informacja z chińskiej prowincji Wuhan o rozpoczynającej się epidemii zakażeń nowym koronawirusem - nazwanym później SARS-CoV-2 - atakującym przede wszystkim układ oddechowy człowieka. Wirus ten szybko obiegł cały świat, podnosząc wagę problemu do rangi ogólnoświatowej pandemii, przynosząc kolejne fale zachorowań i zgonów. Aby temu zaradzić, opracowano nie tylko nowe metody leczenia, lecz pojawiły się także szczepionki, wykorzystujące między innymi nową, w powszechnym użyciu, technologię mRNA.

Wydarzenia te zrodziły wiele pytań o poziom humoralnej odpowiedzi immunologicznej po przebyciu choroby COVID-19 oraz skuteczność zastosowanych szczepień. W niniejszej pracy na podstawie wyników oznaczeń przeciwciał typu IgM, IgG, IgG-S1 oraz przeciwciał neutralizujących (nAb) zbadano powyższe zagadnienie – w populacji ogólnej, a także osób przewlekle chorych i palących tytoń. Zweryfikowano również możliwy wpływ witaminy D na indukowanie naturalnej i sztucznej odporności.

Badanie wykazało występowanie skutecznej odpowiedzi immunologicznej po przechorowaniu COVID-19 oraz przyjęciu szczepienia przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Poziom odporności nabytej w wyniku szczepienia był istotnie i znacząco wyższy, co dowodzi ich skuteczności na znacznym poziomie. Nie wykazano związku między stężeniem witaminy D a odpowiedzią humoralną indukowaną szczepionką, lecz wykazano nieznaczny wpływ na poziom odporności naturalnej, powstającej w wyniku choroby.

Anna Gruszczyńska

Porowate mikrogranule hydroksyapatytowe jako nośniki dichlorowodorku oktenidyny

Celem niniejszej pracy była ocena użyteczności mikrogranul hydroksyapatytowych jako nośników substancji leczniczej, dichlorowodorku oktenidyny. Mikrogranule zostały wykonane z proszków hydroksyapatytowych, które uzyskano w wyniku syntezy, wykorzystując metodę strącania chemicznego. Przeanalizowano ich zdolności do adsorpcji i uwalniania badanej substancji.

W tym celu przygotowano trzy rodzaje proszków: czystego hydroksyapatytu, domieszkowanego jonami magnezu oraz domieszkowanego jonami węglanowymi. Następnie z każdego z nich wykonano granule, wśród których dokonano podziału według ich wielkości. Na podstawie uzyskanych wyników sporządzono adekwatne wykresy przedstawiające ilości substancji pochłoniętej przez granule a następnie uwolnionej do otoczenia oraz wysnuto wnioski na temat możliwo ci zastosowania granul jako nośników leku.

Wykazano, że domieszkowanie jonami magnezu oraz jonami węglanowymi istotnie wpływa na ilo i szybko pochłanianej oraz uwalnianej substancji. Zwrócono również uwagę na zależność wielkości mikrogranul na powyższe właściwości.

Słowa kluczowe: hydroksyapatyt, dichlorowodorek oktenidyny, mikrogranule, pory, nośnik

Marta Kruk

Ocena związku pomiędzy stężeniem rozpuszczalnych markerów „wyczerpania" immunologicznego sPD-1 i sTim-3 w osoczu a stopniem zwłóknienia wątroby pacjentów z przewlekłym WZW C oraz wpływu skutecznej terapii przewlekłego WZW C na ich stężenie

Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C (WZW C), powodowane przez wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV), stanowi poważny problem medyczny, mogąc prowadzić do rozwoju poważnych następstw, takich jak zwłóknienie wątroby, marskość, a także pierwotny rak wątroby (HCC). Towarzyszy mu tzw. „wyczerpanie" immunologiczne, czyli stan dysfunkcji komórek T, będące wynikiem przetrwałej stymulacji antygenami HCV, charakteryzujące się osłabioną funkcją efektorową oraz utrzymującą się nadmierną powierzchniową ekspresją receptorów „hamujących", m. in. PD-1 oraz Tim-3. Receptory te mają swoje odpowiedniki w formie rozpuszczalnej w osoczu (sPD-1 i sTim-3), powstające m. in. w procesie enzymatycznego odcinania z powierzchni komórek przez metaloproteinazy. SPD-1 i sTim-3 są zatem biomarkerami „wyczerpania" immunologicznego, łatwymi do ilościowej detekcji za pomocą metod immunoenzymatycznych.

Celem pracy była ocena związku pomiędzy stężeniem rozpuszczalnych w osoczu sPD-1 i sTim-3 a stopniem zwłóknienia wątroby pacjentów z przewlekłym WZW C oraz wpływu skutecznej terapii przewlekłego WZW C na stężenie tych markerów.

Grupę badaną stanowiło 98 pacjentów z przewlekłym WZW C, zakwalifikowanych do leczenia przeciwwirusowego w Wojewódzkim Szpitalu Zakaźnym w Warszawie. Kryterium włączenia do badania było brak cech marskości wątroby oraz genotyp 1b wirusa. Próbki osocza zostały pobrane przed rozpoczęciem leczenia oraz sześć miesięcy po jego zakończeniu. Stężenie sPD-1 i sTim-3 w osoczu oznaczono za pomocą komercyjnego testu ELISA.

Badania wykazały, że stężenie sPD-1 w osoczu u pacjentów z bardziej zaawansowanym stopniem zwłóknienia wątroby było wyższe, aniżeli u pacjentów bez cech zwłóknienia lub z niskim stopniem zwłóknienia. Niezależnie od stopnia zwłóknienia wątroby, po zakończonej skutecznej terapii nastąpił spadek stężenia sPD-1. Wartości stężeń sTim-3 w osoczu były porównywalne u pacjentów o różnym stopniu zwłóknienia wątroby. Po skutecznym leczeniu nastąpił spadek stężenia sTim-3 w osoczu, jednakże w większości przypadków dotyczył on pacjentów z łagodnym zwłóknieniem wątroby. 59

Uzyskane wyniki miały nowatorski charakter i pozwoliły na lepsze zrozumienie mechanizmów dysfunkcji układu immunologicznego w zakażeniu HCV oraz udowodniły duży potencjał oznaczania badanych cząsteczek w osoczu jako markerów zaawansowania choroby wątroby o etiologii HCV. Ponadto wykazały, że skuteczna terapia może przyczynić się do zmniejszenia stężenia sPD-1 oraz sTim-3 w osoczu. W dalszej perspektywie, mogą posłużyć jako punkt wyjścia do oceny potencjału sPD-1 oraz sTim-3 jako markerów prognostycznych rozwoju HCC o etiologii HCV.

Słowa kluczowe: sPD-1, sTim-3, „wyczerpanie" immunologiczne, HCV, WZW C, zwłóknienie wątroby, terapia przeciwwirusowa

Paulina Sawulska

Liść jesionu - identyfikacja związków odpowiedzialnych za aktywność przeciwzapalną na modelu ludzkich monocytów

Cel pracy: Celem pracy była analiza składu wyciągów z liści Fraxinus excelsior (jesion wyniosły) oraz zbadanie ich potencjalnej aktywności przeciwzapalnej.

Przebieg badań: Przygotowane w Zakładzie Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii wyciągi zostały poddane analizie metodą UHPLC-DAD-ESI-MS/MS w celu identyfikacji obecnych w nich związków. W celu oceny potencjalnej aktywności przeciwzapalnej dalszym badaniom poddane były N, W20%, F1-F9, i W50% w stężeniu 50 µg/ml. Z użyciem cytometru przepływowego mierzony był wpływ na ekspresję receptora dla IL-10 znajdującego się na powierzchni ludzkich monocytów. Z kolei przeprowadzane testy immunoenzymatyczne ELISA pozwoliły na ocenę zdolności do hamowania wydzielania cytokin prozapalnych: TNF-α, IL-6.

Wyniki: Podczas analizy chromatogramów uzyskanych metodą UHPLC-DAD-ESI-MS/MS wykryto związki należące do sekoirydoidów, fenyloetanoidów i flawonoidów. Działanie zmieniające ekspresję dla receptora IL-10 wykazały wszystkie badane wyciągi natomiast wpływ hamujący na TNF-α wszystkie wyciągi z wyjątkiem F4 i F5. W badaniu hamowania wydzielania IL-6 stwierdzono działanie wszystkich wyciągów z wyjątkiem F4, F6, F7, F8.

Wnioski: Liście Fraxinus excelsior zawierają związki z grupy sekoirydoidów, fenyloetanoidów i flawonoidów. Wyciągi z liści tego gatunku warto poddać dalszym badaniom in vitro i in vivo pod kątem wykorzystania w lecznictwie ich aktywności przeciwzapalnej.

Słowa kluczowe: Fraxinus excelsior, liść jesionu, stan zapalny, TNF-α, IL-6, receptor dla IL-10

Dr Magdalena Makarewicz-Wujec

Wykład pt. *Wpływ czynników żywieniowych na markery stanu zapalnego i przebieg choroby wśród pacjentów kardiologicznych*

Choroby układu krążenia pozostają cały czas główną przyczyną zgonów w Polsce i na świecie. Szczególne zainteresowanie budzi możliwość wpływu, poprzez niefarmakologiczne metody leczenia, na jeden z podstawowych mechanizmów rozwoju zmian miażdżycowych i progresji chorób sercowo-naczyniowych jakim jest stan zapalny. Styl życia, w tym sposób żywienia, poprzez zaburzenie równowagi pomiędzy cytokinami zapalnymi i przeciwzapalnymi mogą prowadzić do aterogenezy i zwiększenia ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych. Odpowiednio skonstruowana interwencja żywieniowa pozwala na korzystniejsze połączenie wielu pokarmów i składników odżywczych, tak aby efekt przeciwzapalny był jak najskuteczniejszy. Wśród składników, które mogą go modyfikować wymienia się przede wszystkim kwasy tłuszczowe, szczególnie z rodziny omega -3, jak również związki o działaniu antyoksydacyjnym w tym polifenole np. flawonoidy obecne w kakao czy oliwie z oliwek. Szczególnie interesujące jest określenie dokładnych zależności pomiędzy składnikami diety i ich wzajemną interakcją a stanem zapalnym i możliwością zatrzymania progresji chorób układu krążenia.