



WARSZAWSKI  
UNIwersytet  
MEDYCZNY



WARSZAWSKI  
UNIwersytet  
MEDYCZNY  
—  
WYDZIAŁ  
FARMACEUTYCZNY

# FINAŁ KONKURSU PRAC MAGISTERSKICH

XIV KPM ANALITYKI MEDYCZNEJ  
LX KPM FARMACJI

GODZINA 10:00  
15 MARCA 2024



AULA A, CENTRUM DYDAKTYCZNE  
UL. KSIĘCIA TROJDENA 2A



# **Program Finału Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich**

## **XIV Konkurs Prac Magisterskich kierunku Analityka Medyczna**

## **LX Konkurs Prac Magisterskich kierunku Farmacja**

8.30 – 10.00 **Sesja Plakatowa z udziałem Finalistów i Jurorów** – hol Centrum Dydaktycznego WUM, I piętro

10.00 – 10.10 **Uroczyste otwarcie Konferencji** – *dr hab. n. farm. Piotr Luliński, Dziekan Wydziału Farmaceutycznego*

10.10 – 10.30 **Wystąpienia zaproszonych Gości**

10.30 – 12.15 **Wystąpienia konkursowe Finalistów**

*Rafał Marcin Kielkiewicz*

*Magda Molenda*

*Karolina Borkowska*

*Kinga Ogrodzińska*

*Maciej Obrębski*

*Agata Skwarek*

*Marta Komoń*

*Michalina Lulek*

*Jakub Mielniczek*

12.15 – 12.45 **Przerwa**

12.45 – 14.30 **Wystąpienia konkursowe Finalistów**

*Adam Szeleszczuk*

*Hanna Polewacz*

*Marcin Jaworski*

*Anna Kieraszińska*

*Emilia Kruk*

*Emilia Pykacz*

*Katarzyna Poreda*

*Aleksandra Michalak*

*Wiktoria Klus*

*Mateusz Jędrzejewski*

14.30 – 15.00 **Wykład „Fizjologia AD 2024: na styku kardiologii, nefrologii i diabetologii.”** - *dr hab. n. med. Aleksandra Gąsecka-van der Pol*

15:00 – **ogłoszenie wyników**

## HONOROWY PATRONAT

*Prof. dr hab. n. med. Zbigniew Gaciong*

Jego Magnificencja Rektor

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

*dr hab. n. farm. Piotr Luliński*

Dziekan Wydziału Farmaceutycznego

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



WARSZAWSKI  
UNIwersYTET  
MEDYCZNY



WARSZAWSKI  
UNIwersYTET  
MEDYCZNY

WYDZIAŁ  
FARMACEUTYCZNY

## KOMITET ORGANIZACYJNY

### WYDZIAŁOWEGO KONKURSU PRAC MAGISTERSKICH

Przewodnicząca:

prof. dr hab. Olga Ciepiela

Zastępca Przewodniczącej:

dr hab. Agnieszka Bazyłko

Sekretarz:

dr Małgorzata Jeziorek

Zastępca Sekretarza ds. kierunku  
Analityka Medyczna:

Szczepan Wąsik

Członkowie Komitetu ds. kierunku  
Analityka Medyczna:

Nina Andrzejczyk

Salem Hamdan

Aleksandra Kumorek

Sabina Sobolewska

Julia Stańczyk

Dominika Zalewska

Zastępca Sekretarza ds. kierunku  
Farmacja:

Adam Paderewski

Członkowie Komitetu ds. kierunku  
Farmacja

Aleksander Kuźmich

Zofia Stasińska

Jan Wójkowski

## **Wydziałowy Konkurs Prac Magisterskich**

Wydziałowy Konkurs Prac Magisterskich od wielu lat odgrywa istotną rolę, w społeczności akademickiej oraz w środowisku zawodowym diagnostów laboratoryjnych i farmaceutów, w promowaniu uzdolnionych absolwentów oraz prac badawczych prowadzonych na Wydziale Farmaceutycznym WUM.

Celem Konkursu jest wyłonienie najlepszych prac magisterskich i promowanie uzdolnionych absolwentów Wydziału. Podczas Finału wszyscy Autorzy, których prace w I etapie oceny znalazły się wśród najwyżej punktowanych, będą przedstawiali wyniki swoich prac magisterskich, a spośród Finalistów Jury Konkursu wyłoni Laureatów zajmujących I, II oraz III miejsce dla kierunku Analityka Medyczna oraz kierunku Farmacja.

## **Streszczenia prac magisterskich finalistów Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich**

**Rafał Marcin Kielkiewicz**

***Opracowanie wydajnej metody regeneracji roślin *Aralia spinosa* L. z zastosowaniem somatycznej embriogenezy w kulturze *in vitro*, ocena zmienności somaklonalnej regenerantów oraz profilu fitochemicznego uzyskanego materiału roślinnego***

Pierwszym celem pracy było opracowanie efektywnej metody stratyfikacji i sterylizacji nasion *A. spinosa* w celu zapoczątkowania kultury *in vitro*. Drugim celem było opracowanie mikropropagacji roślin *A. spinosa* dwoma metodami: na drodze somatycznej embriogenezy pierwotnej i wtórnej. Trzecim celem była ocena zmienności somaklonalnej uzyskanych regenerantów *A. spinosa* z zastosowaniem technik molekularnych: SCoT oraz ISSR. Ostatnim celem była fitochemiczna analiza jakościowa ekstraktów metanolowych z różnych eksplantatów *A. spinosa* z wykorzystaniem UHPLC-DAD-ESI-MS3. W niniejszej pracy opracowano wydajny proces regeneracji roślin *A. spinosa* na drodze pierwotnej pośredniej somatycznej embriogenezy uzyskując około 30 roślin z 1,0 g kalusa embriogenego oraz na drodze wtórnej bezpośredniej somatycznej embriogenezy otrzymując około 300 roślin z jednej kolby. Uzyskane regeneranty *A. spinosa* nie wykazywały zmian na poziomie morfologicznym oraz genetycznym z użyciem markerów SCoT i ISSR, co może świadczyć o tym, że zastosowane warunki kultury nie indukowały zmienności somaklonalnej. Jakościowa analiza fitochemiczna uzyskanego różnorodnego materiału roślinnego *A. spinosa* wykazała zróżnicowanie pod względem występowania metabolitów wtórnych. Zidentyfikowano obecność dwóch głównych grup związków: saponin triterpenowych pochodnych kwasu oleanolowego oraz kwasów fenolowych. Potwierdzono obecność m. in.: aralozylu A, kalendulozylu E oraz elatozylu H w ekstraktach metanolowych, co może wskazywać na wykorzystanie w przyszłości materiału roślinnego z *A. spinosa* jako źródło związków o potencjale: antyproliferacyjnym, przeciwzapalnym, przeciwwrzodowym, przeciwstarzeniowym, kardioprotekcyjnym oraz hipoglikemicznym.

**Słowa kluczowe:** *Aralia spinosa*, kultury *in vitro*, somatyczna embriogeneza, zmienność somaklonalna, saponiny triterpenowe, kwasy fenolowe, aralozyl A, kalendulozyl E, elatozyl H, biotechnologia

**Magda Molenda**

***Ocena parametrów immunologicznych u samobójców na podstawie analizy ekspresji genów w płacie czołowym mózgu z wykorzystaniem reakcji real-time PCR***

Zaburzenia depresyjne są chorobą dotykającą 3,8% populacji. Pomimo efektywnego leczenia, szacuje się, że 75% chorych pozostaje bez rozpoznania, tym samym nie otrzymując niezbędnej pomocy psychologicznej oraz farmakologicznej. Szacuje się, że u 60% osób, które popełniły samobójstwo w chwili śmierci występował epizod depresyjny.

Celem pracy była ocena ekspresji genów IL-6, TNF- $\alpha$  i BDNF w płacie czołowym pobranym post mortem od samobójców.

W badaniu analizie poddano płat czołowy pobrany od 63 samobójców i 31 osób zmarłych na skutek wypadku komunikacyjnego, stanowiących grupę kontrolną. Z materiału klinicznego wyizolowano RNA a następnie przeprowadzono syntezę cDNA z wykorzystaniem odwrotnej transkryptazy oraz random primers. Amplifikację z wykorzystaniem swoistych starterów dla badanych parametrów przeprowadzono za pomocą reakcji real-time PCR. Ocenie poddano ekspresję genów IL-6, TNF- $\alpha$  i BDNF w odniesieniu do ekspresji genu referencyjnego  $\beta$ -aktyny.

Otrzymane wyniki nie wykazały istotnych statystycznie różnic między ekspresją badanych genów w tkance mózgowej u samobójców a grupą kontrolną. Zauważono natomiast wyższe wartości mediany dla IL-6 i BDNF, a także zwiększoną średnią ekspresję mRNA-TNF- $\alpha$  u samobójców w porównaniu do ofiar wypadków komunikacyjnych.

**Słowa kluczowe: depresja, samobójstwo, , IL-6, TNF- $\alpha$ , BDNF**

**Karolina Borkowska**

***Biodegradowalne poli(etero-estro-węglany jako wstrzykiwalne,hydrożelowe nośniki paklitakselu***

W niniejszej pracy dyplomowej podjęto próbę otrzymania oraz scharakteryzowania termowrażliwych hydrożeli jako potencjalnych nośników PTX.

W ramach pracy eksperymentalnej przeprowadzono reakcje polimeryzacji z otwarciem pierścienia w celu otrzymania kopolimerów blokowych, z których otrzymano hydrożele. Reakcje prowadzono dwoma metodami; „w masie” oraz „w rozpuszczalniku”. Do syntezy wykorzystano CL, TMC, PEG oraz  $Zr(Acac)_4$  jako katalizator.

W pierwszym etapie zoptymalizowany został proces syntezy poprzez analizę struktury oraz właściwości otrzymanych kopolimerów. Na podstawie widm  $^1H$  NMR i  $^{13}C$  NMR potwierdzono strukturę otrzymanych materiałów; oszacowano  $M_n$  kopolimeru oraz  $M_n$  poszczególnych bloków. Porównano również właściwości i różnice między polimerami otrzymanymi metodą „w masie” oraz „w rozpuszczalniku”.

Zdolność do tworzenia żelu otrzymanych polimerów określono stosując metodę odwracania próbek. Na podstawie zebranych danych określono optymalną strukturę układu. Materiały o odpowiednich właściwościach poddano badaniom cyto- i genotoksyczności; potwierdzono ich biogodność.

W dalszej części pracy, w oparciu o wcześniejsze analizy i zoptymalizowane parametry syntezy, wybrano polimer o najkorzystniejszych właściwościach i otrzymano go w większej skali. Powiększenie skali procesu nie wpłynęło w sposób znaczący na właściwości produktu.

Otrzymany system terapeutyczny wykorzystano jako nośnik PTX poprzez inkorporację substancji aktywnej. Zbadano również profil uwalniania PTX z matrycy oraz określono kinetykę tego procesu. Równolegle przeprowadzono badanie degradacji hydrolitycznej matrycy hydrożelowej.

**Słowa kluczowe: paklitaksel, termowrażliwe hydrożele, leki przeciwnowotworowe, węglanu trimetylenu,  $\epsilon$ -kaprolakton, glikolu polioksyetylenowy**

**Kinga Ogrodzińska**

***Wpływ lewetiracetamu na potencjały czynnościowe i prądy sodowe w neuronach piramidowych kory przedczołowej.***

W neuronach kory przedczołowej występują kanały sodowe bramkowane napięciem. Otwarcie kanałów sodowych umożliwia wytworzenie potencjałów czynnościowych w neuronie, powodując wzrost pobudliwości neuronów korowych w czasie napadów padaczkowych oraz w trakcie wykonywania czynności angażujących pamięć operacyjną.

Celem pracy było zbadanie wpływu lewetiracetamu (LEV) na pobudliwość neuronów piramidowych kory przedczołowej. Badania zostały przeprowadzone na neuronach piramidowych warstwy V kory przedczołowej zlokalizowanych w skrawkach pozyskanych od młodych szczurów ze stada Wistar. Pobudliwość neuronów była rejestrowana metodą stabilizacji potencjału na całej powierzchni błony komórkowej (technika patch-clamp).

Wyniki badań wskazują, że LEV zmniejsza pobudliwość kanałów sodowych Nav oraz wpływa na konkretny typ kanałów sodowych Nav1.9, obniżając ich próg aktywacji. Powyższe dane sugerują, że wzrost pobudliwości neuronów korowych może być ograniczony poprzez podanie LEV.

**Słowa kluczowe: LEV, kanały sodowe bramkowane napięciem, potencjały czynnościowe, neurony piramidowe, kora przedczołowa**



**Maciej Obrębski**

***Kultura korzeni transformowanych *Aralia spinosa* L., optymalizacja warunków hodowli oraz ocena profilu fitochemicznego***

Pierwszym celem pracy było uzyskanie korzeni transformowanych dla gatunku *A. spinosa* z zastosowaniem *A. rhizogenes* szczepu A4 w celu zapoczątkowania kultury *in vitro*. Drugim celem było opracowanie dla wyselekcjonowanych linii korzeni włośnikowatych optymalnych warunków kultury zapewniających jak najszybszy przyrost biomasy i wydajną produkcję metabolitów wtórnych. Trzecim celem było opracowanie krzywych kinetyki wzrostu i zmian parametrów pożywki dla uzyskanych linii korzeni transformowanych *A. spinosa* w trakcie trwania 35-dniowej kultury. Ostatnim celem była ocena profilu fitochemicznego korzeni transformowanych *A. spinosa* w porównaniu z korzeniami anatomicznymi z wykorzystaniem UHPLC-DAD-ESI-MS3.

W niniejszej pracy uzyskano korzenie transformowane *A. spinosa* z zastosowaniem *A. rhizogenes* szczepu A4, a ich transformowany charakter i brak kontaminacji bakteriami potwierdzono metodami molekularnymi. Dla wyselekcjonowanych dwóch linii korzeni włośnikowatych *A. spinosa*: AS.T-J1 i AS.T-H2 opracowano optymalne warunki wzrostu w pożywce płynnej B5 gwarantujące dynamiczny przyrost biomasy i wydajną produkcję metabolitów wtórnych. Na podstawie sporządzonych krzywych przyrostu świeżej i suchej biomasy korzeni wykazano, że obie uzyskane linie charakteryzowały się zróżnicowaną kinetyką wzrostu. Ponadto, dokonano jakościowej analizy UHPLC-DAD-ESI-MS3, która wykazała różnice w składzie metabolitów wtórnych występujących w korzeniach obu linii w porównaniu z korzeniami anatomicznymi *A. spinosa*. W ekstraktach metanolowych zidentyfikowano 30 metabolitów wtórnych należących do dwóch grup: saponin triterpenowych pochodnych kwasu oleanolowego oraz kwasów fenolowych. W wyciągach potwierdzono obecność m. in.: aralozylu A, kalendulozylu E oraz aralozylu C, co może wskazywać na interesujący potencjał właściwości biologicznych uzyskanych korzeni włośnikowatych *A. spinosa*.

**Słowa kluczowe: *Aralia spinosa*, korzenie transformowane, korzenie włośnikowate, saponiny triterpenowe, aralozyl A, kalendulozyd E, kwasy fenolowe, kwas 3,5-Odikawoilochinowy, biotechnologia**

**Agata Skwarek**

***Ocena funkcji nerek u pacjentów po przechorowaniu COVID-19***

Wirus SARS-CoV-2 jest czynnikiem wywołującym chorobę COVID-19. Zakażenia odnotowano już w krajach na całym świecie, krótko po pojawieniu się pierwszych przypadków w mieście Wuhan w Chinach. Wysoka zakaźność wirusa spowodowana była jego łatwym przenoszeniem się drogą kropelkową. COVID-19 to choroba, w trakcie której pojawiają się głównie objawy ze strony układu oddechowego. Infekcja może wiązać się z wystąpieniem wielu powikłań m.in. zaburzeń funkcji nerek.

Celem niniejszej pracy była ocena, czy u pacjentów po przechorowaniu COVID-19 mamy do czynienia z częstszym występowaniem zaburzeń funkcji nerek, w porównaniu do osób, które nigdy nie były zakażone.

Badanie obejmowało grupę 94 zdrowych krwiodawców w wieku 18-65 lat, zakwalifikowanych w dniu pobrania próbek do oddania krwi w Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w Warszawie. Wśród wszystkich dawców wyróżniono grupę badaną, czyli pacjentów, którzy w przeszłości przechodzili infekcje wirusem SARS-CoV-2, oraz grupę kontrolną osób wcześniej niechorujących. Status ozdowieńca zweryfikowano poprzez oznaczenie przeciwciał przeciwko białku N wirusa. U 94 dawców oznaczono stężenie kreatyniny w surowicy, natomiast pomiar stężenia lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii (NGAL) wykonano u 85 osób. Do przeprowadzenia badań wykorzystano analizator Cobas c503 firmy Roche.

Pomiędzy wynikami grupy ozdowieńców a wynikami grupy niechorującej nie wykazano istotnych statystycznie różnic, podobnie jak między osobami po przechorowaniu COVID-19 z objawami a tymi, które ich nie miały.

Na podstawie wykonanych badań można wnioskować, iż infekcja COVID-19 nie powoduje zaburzeń funkcji nerek u osób nieobciążonych czynnikami ryzyka rozwoju chorób.

**Słowa kluczowe: COVID-19, nerki, SARS-CoV-2, upośledzona funkcja nerek**

**Marta Komoń**

***Porównanie preparatów zawierających ziele czystka (Cistus L.) pod kątem zawartości związków polifenolowych oraz potencjalnej aktywności przeciwzapalnej***

Tematem niniejszej pracy jest porównanie preparatów handlowych zawierających ziele czystka (Cistus L.) pod kątem zawartości związków polifenolowych oraz potencjalnej aktywności przeciwzapalnej.

Cel przeprowadzonych badań jest złożony. Z jednej strony, mają one na celu analizę fitochemiczną z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (HPLC-MS) określającą jakościowy skład naparów i wyciągów etanolowych (60%) przygotowanych z preparatów handlowych w postaci tabletki, kapsułek i ziół sypkich do zaparzania, zawierających ziele czystka. Z drugiej strony, badania pozwolą na określenie korelacji działania przeciwzapalnego z zawartością związków polifenolowych w wybranych preparatach farmaceutycznych.

Napary i wyciągi etanolowe zostały przygotowane zgodnie z tradycyjną formą stosowania surowców i poddane analizie HPLC-MS. Doświadczenia w warunkach *in vitro* zostały przeprowadzone w modelu komórkowym neutrofile izolowanych z ludzkiej krwi obwodowej. Po upływie 24-godzinnego czasu inkubacji w pozyskanych supernatantach komórkowych określono wpływ testowanych wyciągów na wydzielanie cytokin prozapalnych (TNF, IL-8, IL-1), w odniesieniu do kontroli stymulowanej roztworem bakteryjnego *Lipopolisacharydu* (LPS). Ogólną zawartość związków fenolowych w ekstraktach oznaczono przy użyciu odczynnika Folina–Ciocalteu'a.

Z przeprowadzonego badania wynika, że wyższa zawartość związków z grupy polifenoli koreluje z aktywniejszym efektem hamującym wydzielanie czynników prozapalnych (TNF, IL-8, IL-1). Najlepszy efekt hamujący wydzielanie czynników prozapalnych uzyskano dla sypkich ziół oraz preparatów w postaci saszetek do zaparzania.

Przeprowadzona analiza stanowi kompleksowe porównanie 16 preparatów zawierających ziele czystka, co może stanowić podstawę podczas wyboru właściwej suplementacji preparatami pochodzenia naturalnego zawierającymi badany surowiec roślinny.

**Słowa kluczowe: Cistus, zapalenie, neutrofile, polifenole**

**Michalina Lulek**

***Ocena odległych powikłań w obrębie układu nerwowego u pacjentów po przechorowaniu COVID-19***

Zakażenie koronawirusem SARS-CoV-2 powoduje chorobę COVID-19, która w 2020 roku spowodowała wybuch pandemii. Ostra infekcja manifestuje się głównie objawami oddechowymi, lecz dotyka także innych układów organizmu. Oprócz tego, niesie ze sobą możliwość wystąpienia odległych powikłań u ozdowieńców, również w układzie nerwowym, takich jak zaburzenia kognitywne („mgła mózgowa”), zaburzenia węchu i smaku, problemy w naczyniach mózgowych, procesy neurodegeneracyjne, polineuropatie i uszkodzenia mózgowia. Wpływowi podlega też praca układu immunologicznego, w którym następują zmiany w liczebności oraz funkcji komórek.

Celem pracy była ocena odległych powikłań w układzie nerwowym u ozdowieńców po przechorowaniu COVID-19, oraz czy istnieją markery laboratoryjne takich uszkodzeń.

Do badania włączono 264 krwiodawców z Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Warszawie, którzy spełnili wszystkie wymogi bycia dawcą krwi i jej składników. Uzyskano od nich informacje na temat statusu przechorowania COVID-19 – ozdowieńcy zadeklarowali przebycie COVID-19 potwierdzone pozytywnym wynikiem testu na SARS-CoV-2 od 6 do 12 miesięcy przed włączeniem do badania, a niechorujący nie zgłosili choroby w przeszłości. Jednakże, po weryfikacji statusu oznaczeniem przeciwciał przeciwko nukleokapsydowi wirusa, część zdrowych dawców została włączona do grupy ozdowieńców, prawdopodobnie ze względu na przechorowanie infekcji bezobjawowo. W surowicy 186 ozdowieńców i 78 niechorujących oznaczono stężenie neuronalnej cząsteczki adhezyjnej NCAM-1 za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA, a u 57 ozdowieńców i 37 niechorujących stężenie białka S100B metodą elektrochemiluminescencji ECLIA na aparacie cobas pro e801.

Wykazano istotne statystycznie różnice między grupami w oznaczeniach NCAM-1 i białka S100B. Stężenia NCAM-1 były niższe ( $p=0,0215$ ), a białka S100B wyższe ( $p=0,0270$ ) w grupie ozdowieńców. Nie wykazano korelacji pomiędzy badanymi parametrami.

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że przebycie COVID-19 przez osoby niezgłaszające chorób przewlekłych może przyczyniać się do wykształcenia przetrwałych zaburzeń układu neurologicznego oraz immunologicznego. NCAM-1 może nieść informacje o zaburzonej pracy komórek układu immunologicznego, zwłaszcza komórek NK, a białko S100B wskazywać na uszkodzenia mózgu w przebiegu choroby.

**Słowa kluczowe: COVID-19, powikłania neurologiczne, NCAM-1, białko S100B**

**Jakub Mielniczek**

***Ocena profilu działania ofloksacyny i produktów jej fotorozkładu przy użyciu wieloparametrowego testu bakteryjnego MARA z uwzględnieniem bezpieczeństwa***

Głównym celem była ocena skuteczności działania czystej ofloksacyny i zawartej w leku Floxal oraz ocena toksyczności produktów fotodegradacji w odniesieniu do nienaświetlanych próbek. Toksyczność oceniono z wykorzystaniem testu MARA, natomiast do wyznaczenia stężenia ofloksacyny oraz produktów fotodegradacji zastosowano technikę HPLC-DAD. Na podstawie wyników HPLC-MS zaproponowano najbardziej prawdopodobne wzory strukturalne produktów fotodegradacji.

Ofloksacyna okazała się substancją światłoczułą, która w wyniku naświetlania w aparacie SunTestCPS+ ulegała procesowi fotodegradacji. Czysta ofloksacyna oraz zawarta w leku Floxal niepoddana procesom naświetlania w badanym zakresie stężeń okazała się toksyczna dla większości szczepów bakterii wykorzystanych w teście MARA, natomiast wraz z upływem czasu naświetlania, produkty jej fotorozkładu wykazywały coraz mniejszą toksyczność dla wrażliwych szczepów bakterii, co skutkuje mniejszą skutecznością działania przeciwbakteryjnego ofloksacyny.

**Słowa kluczowe: fluorochinolony, ofloksacyna, lek Floxal, fotodegradacja, test MARA**

**Adam Szeleszczuk**

***Analiza fenotypowa i genotypowa szczepów Mycobacterium tuberculosis opornych na pirazynamid***

Analiza fenotypu i genotypu szczepów Mycobacterium tuberculosis opornych na pirazynamid, które zostały wyizolowane od chorych w latach 2019-2021.

Badania zostały przeprowadzone na szczepach M. tuberculosis, które zostały wyizolowane od 80 chorych na gruźlicę oporną na pirazynamid. Wszystkie szczepy poddano pełnej analizie mikrobiologicznej, poprzez identyfikację gatunkową i określenie fenotypu oporności na podstawowe, i dodatkowe leki przeciwprątkowe. W kolejnych etapach badań szczepom wyznaczono wartość MIC PZA, z zastosowaniem metody mikrorozcieńczeń oraz przeprowadzono analizę sekwencyjną genu pncA metodą Sangera.

W analizowanej grupie 80 szczepów Mycobacterium tuberculosis opornych na pirazynamid, stwierdzono, że 40% (32) szczepów posiada fenotyp typu MDR-TB, 39% (31) pre-XDR-TB, a 16% szczepów XDR-TB. W pracy zidentyfikowano również 4 szczepy (5%), u których oporność na PZA towarzyszyła oporności na ryfampicynę (RR-TB). U 61 szczepów (76,25%) wartość MIC PZA wynosiła > 900 µg/ml, u 4 (5%) 900 µg/ml, a u 9 szczepów (11,25%) 800 µg/ml. Wartość MIC PZA równą 400 µg/ml i 200 µg/ml stwierdzono u 3 szczepów każda. Pośród 29 rodzajów mutacji w genie pncA, zidentyfikowano 23 zmiany nukleotydowe o charakterze substytucji (79,5%), w tym 22 zmiany niesynonimiczne i jedna synonimiczna, 2 mutacje w promotorze (7%), 3 delecje (10%) oraz 1 duplikację (3,5%). Najczęściej odnotowywano mutację o charakterze delecji 5 nukleotydów GAGGA w pozycji 430-434 genu pncA, którą zidentyfikowano u 26 (32,5%) szczepów.

Oporność na pirazynamid najczęściej występowała wśród szczepów M. tuberculosis fenotypie MDR-TB (40%) i pre-XDR (39%), co wskazuje na konieczność włączenia PZA do podstawowego antybiogramu dla chorych z gruźlicą wielolekooporną. Szczepy TB w większości przypadków (81,25%) charakteryzowały się wysokim poziomem oporności na PZA z MIC  $\geq$  900 µg/ml, a stwierdzonym u nich molekularnym mechanizmem oporności na ten lek w 93% były mutacje w genie pncA. Nie wykazano korelacji pomiędzy regionem genu pncA, w którym odnotowywane były mutacje, a poziomem oporności na pirazynamid.

**Słowa kluczowe: Mycobacterium tuberculosis, pirazynamid, MIC PZA, gen pncA, mutacje**

**Hanna Polewacz**

***Immune regulation in chronic obstructive Pulmonary disease-associated lung carcinoma***

W niniejszej pracy skupiłam się na regulacji układu immunologicznego w raku płuc związanym z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (POChP). Moim celem było poznanie mechanizmu wpływu peptydów elastyny (EP) na rozwój niedrobnokomórkowego raka płuc i ich wpływu na przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną oraz zbadanie roli EP w rozwoju mechanizmów immunosupresyjnych specyficznych dla POChP.

W pierwszym etapie pracy prowadziłam hodowlę komórkową KP1233, które następnie były dotchawczo wkraplane myszom, w różnej dawce – 500 tys., 250 tys. i 125 tys. Po 3 tygodniach myszy uśmiercono, pobrano płuca, zamrożono je, poddano kriosekcji i wybarwiono na obecność CK19 w celu identyfikacji gniazd nowotworów i CD3 w celu identyfikacji limfocytów T, a wszystko to w celu opracowania mysiego modelu niedrobnokomórkowego raka płuc. Stworzyłam model myszy z wcześniej wywołaną rozedmą płuc i potraktowałam próbki z pobranych płuc peptydami elastyny lub białkiem kontrolnym, aby sprawdzić, czy wpłynie to na wzrost nowotworu i infiltrację komórek. Ponadto wykonałam cytometrię przepływową w celu analizy komórek nowotworowych in vitro. Na koniec przeprowadziłam cytometrię przepływową ex vivo, aby zidentyfikować makrofagi rezydujące w płucach, i z badałam wpływ EP na proliferację makrofagów i ekspresję ich funkcjonalnych molekuł tj. PD-L1 i MHCII.

Badania wykazały, że EP pośrednio wpływa na rozwój raka płuc poprzez modulację mikrośrodowiska immunologicznego guza, potencjalnie przyczyniając się do immunosupresji. Identyfikacja receptorów EP na makrofagach rezydujących w płucach zmienia nasze rozumienie modulacji układu odpornościowego w mikrośrodowisku guza, podkreślając złożoną interakcję między elementami strukturalnymi, komórkami nowotworowymi i komórkami odpornościowymi. Makrofagi odgrywają podwójną rolę w progresji raka płuc, zachowując równowagę pomiędzy stymulacją immunologiczną a supresją. Wyniki badania sugerują potencjalne cele terapeutyczne, których celem jest przywrócenie równowagi między aktywacją a supresją układu odpornościowego, co ostatecznie wzmocni odpowiedź przeciwnowotworową.

**Słowa kluczowe: POChP, niedrobnokomórkowy rak płuca, peptydy elastyny, rozedma u myszy**

**Marcin Jaworski**

***Analiza wyników oznaczeń lekowrażliwości szczepów *Helicobacter pylori* wyizolowanych z wycinków błony śluzowej żołądka oraz optymalizacja metod hodowli i izolacji DNA *Helicobacter pylori****

Narastająca oporność *H. pylori* na antybiotyki stanowi globalny problem w prowadzeniu skutecznej terapii farmakologicznej. Częściowym rozwiązaniem tego problemu jest oznaczanie lekowrażliwości szczepu w celu prowadzenia terapii celowanej. Hodowla szczepu z błony śluzowej żołądka jest niezbędna do wykonania antybiogramu, jednak jest trudna ze względu na wybredny charakter bakterii. W pracy opisano lekowrażliwość szczepów *H. pylori* wyhodowanych od pacjentów pediatrycznych oraz przedstawiono optymalizacje metod diagnostycznych, które są przydatne w identyfikacji *H. pylori* oraz izolacji DNA z różnych próbek.

Materiałem do badań stanowiły homogenaty i wyizolowane szczepy z błony śluzowej żołądka pacjentów pediatrycznych.

Z 20 wyizolowanych szczepów od pacjentów pediatrycznych wszystkie wykazywały wrażliwość na tetracyklinę i amoksyicylinę. Największą oporność odnotowano na rifampicynę (40%), klarytromycynę (39%) i metronidazol (15%). Oba badane podłoża (PYL i BD) wykazały jednakową żywność do zastosowania w diagnostyce *H. pylori*. Stwierdzono, że wzrost kolonii bakteryjnych był bardziej charakterystyczny na podłożu BD. Najbardziej optymalną metodą posiewu do izolacji DNA z *H. pylori* jest podłoże płynne Schaedlera inkubowane w warunkach mikroaerofilnych. Zestaw Syngen DNA Mini Kit wykazuje lepszy odzysk DNA niż zestaw Genomic Micro AX Bacteria Gravity z podłoży bakteriologicznych. Użycie PCR daje możliwość identyfikacji *H. pylori* w przypadkach niejednoznacznych wyników klasycznej diagnostyki bakteriologicznej.

**Słowa kluczowe: *Helicobacter pylori*, lekowrażliwość, hodowla bakteryjna, izolacja DNA, PCR**



**Anna Kierasińska**

***Ocena wybranych aspektów jakości sfalszowanych produktów leczniczych stosowanych w leczeniu chorób tarczycy***

Falszowanie leków stanowi wyzwanie dla zdrowia publicznego na całym świecie. Sfałszowane leki o nieznanym składzie sprzedawane w Internecie czy na bazarach stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi. Szacuje się, że około 50% leków sprzedawanych w Internecie jest sfalszowanych, a skala problemu wciąż rośnie.

Celem pracy była ocena jakości sfalszowanych produktów leczniczych zawierających hormony tarczycy. Przeprowadzono analizę jakościową składu oraz analizę ilościową substancji czynnej deklarowanej przez producenta oraz wybranych zanieczyszczeń - substancji farmakologicznie czynnych zidentyfikowanych w badanych produktach.

Do badań wykorzystano 10 sfalszowanych produktów leczniczych pochodzących z dwóch nielegalnych fabryk leków zlikwidowanych na terenie Polski, zawierających w swym składzie liotyroninę i lewotyroksynę. Wykorzystanie techniki LC-MS/MS pozwoliło na analizę badanych próbek sfalszowanych produktów leczniczych pod kątem obecności oraz zawartości substancji farmakologicznie czynnych oraz innych potencjalnych zanieczyszczeń.

We wszystkich badanych sfalszowanych produktach leczniczych potwierdzono obecność deklarowanych substancji czynnych liotyroniny i lewotyroksyny. Jednakże wszystkie analizowane produkty zawierały nieprawidłową dawkę deklarowanej substancji czynnej – w przypadku lewotyroksyny za małą, a w przypadku liotyroniny za dużą. W badanym materiale zidentyfikowano również inne substancje farmakologicznie czynne, niezadeklarowane na opakowaniu (m.in. stanozolol, metandienon, klomifen, tamoksyfen, letrozol, furosemid, allopurinol), produkty rozkładu hormonów tarczycy i inne substancje (np. kokaina, kwas salicylowy).

Wyniki analiz potwierdzają, że badane produkty są niskiej jakości i mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia osób, które je zastosują.

**Słowa kluczowe: sfalszowane produkty lecznicze, liotyronina, lewotyroksyna, LC-MS/MS**

**Emilia Kruk**

***Przebudowa nerek u myszy z zespołem metabolicznym***

Stały wzrost częstości występowania zespołu metabolicznego (ZM) oraz rosnąca liczba pacjentów z powikłaniami zaburzeń metabolicznych powoduje aktualnie ogromne zainteresowanie badaczy tym tematem. Ważny obszar zainteresowań stanowi jego wpływ na strukturę i czynność nerek, ponieważ już blisko połowa pacjentów z objawami ZM cierpi na przewlekłą chorobę nerek. Nerki stanowią kluczowe ogniwo w regulacji wartości ciśnienia krwi. Z drugiej strony są narażone na konsekwencje jego nieprawidłowości. Dlatego tak istotne obecnie jest zbadanie i poznanie wpływu środowiska ZM oraz indukowanego AngII nadciśnienia tętniczego na strukturę nerek, co w dalszej kolejności pozwoli na lepsze rozumienie zaburzeń w ich prawidłowym funkcjonowaniu.

Celem mojej pracy było zbadanie wpływu indukowanego AngII nadciśnienia tętniczego na przebudowę struktury nerek w środowisku ZM u myszy db/db w zaawansowanym stadium choroby w stosunku do osobników kontrolnych.

Przeprowadzona analiza histomorfometryczna wykazała glomerulomegalię u myszy db/db, nasilającą się w grupie osobników stymulowanych AngII. U myszy db/db doszło do spadku liczby tkankowych komórek odpornościowych CD45+ oraz tkankowych makrofagów CD68+ w stosunku do kontroli, co w grupie db/db+AngII się pogłębiło. Ponadto, struktura nerek myszy db/db+AngII wykazała cechy znacznego uszkodzenia: obecność cech FSGS, pseudo-półksiężyców w ciałkach nerkowych czy wałeczków szklistych w kanalikach i przestrzeniach torebki Bowmana oraz nacieków z komórek zapalnych.

Osobniki db/db wykazują jedynie łagodne zmiany świadczące o uszkodzeniu nerek, zaś obraz morfologiczny nerek w osobników db/db+AngII wskazuje na znaczne uszkodzenie struktury narządu, zatem nadciśnienie tętnicze indukowane AngII nasila zmiany w nerkach u osobników z ZM. Jest to pierwsza taka obserwacja na tym modelu myszy.

**Słowa kluczowe: nerki, zespół metaboliczny, angiotensyna II, model myszy db/db, nadciśnienie tętnicze**

**Emilia Pykacz**

***Synteza pochodnych dibenzo[b,e]azepiny, dibenzo[b,f]oksazepiny I pirydo[2,3-b][1,4]benzotiazepiny- nowych inhibitorów PEX14-PEX5 o potencjalnym działaniu przeciw pasożytniczym***

Gatunki pasożytnicze z rodzaju *Trypanosoma* zarażają ludzi i inne ssaki, powodując śpiączkę afrykańską i chorobę Chagasa. Obecnie stosowane leki cechują się poważnymi działaniami niepożądanymi i są nieskuteczne w przewlekłych fazach chorób. Z tych powodów istnieje zapotrzebowanie na nowe strategie terapeutyczne skierowane przeciwko trypanosomiazom.

W ostatnim czasie odkryto, że blokowanie interakcji między białkami PEX14- PEX5 w pasożytach rodzaju *Trypanosoma* prowadzi do zahamowania ważnych szlaków metabolicznych powodując śmierć pasożyta, dlatego też inhibicja tworzenia kompleksu PEX14-PEX5 może stanowić nową potencjalną metodę walki z infekcjami powodowanymi przez *Trypanosoma*.

Struktury dibenzo[b,f][1,4]oksazepin-11(10*H*)-onu i dibenzo[b,f][1,4]tiazepin- 11(10*H*)-onu zostały zidentyfikowane poprzez badanie przesiewowe, jako nowe obiecujące ligandy PEX14. Różne reakcje multikomponentowe, takie jak czterokomponentowa reakcja Ugiego czy trójkomponentowa reakcja Kabachnika- Fieldsa, mogą ułatwić modyfikacje wspomnianych szkieletów, co skutkować może potencjalnym zwiększeniem powinowactwa związków do kieszeni wiążących białko PEX14.

W wyniku syntezy chemicznej pomyślnie otrzymano pierwsze inhibitory interakcji PEX14-PEX5. Niektóre z nich wykazały aktywność inhibicji już w stężeniach mikromolowych, więc mogą one w przyszłości posłużyć jako wzór dla projektowania nowych środków przeciw pasożytniczych.

**Słowa kluczowe: Trypanosoma, glikosomy, PEX14-PEX5, reakcje multikomponentowe, reakcja Ugi, reakcja Kabachnika-Fieldsa, choroba Chagasa**

**Katarzyna Poreda**

***Izolacja oraz ocena potencjalnej patogenności ameb wolnożyjących z próbek środowiskowych gleby z terenu Warszawy***

Założeniem niniejszej pracy było przebadanie próbek środowiskowych gleby pod kątem obecności ameb wolnożyjących oraz określenie potencjalnej patogenności wyizolowanych ameb.

Ameby wolnożyjące są organizmami powszechnie występującymi zarówno w środowisku naturalnym, jak i tym kreowanym przez człowieka. W sprzyjających warunkach otoczenia przyjmują postać trofozoitu, zdolnego do ruchu i rozmnażania, natomiast na skutek pogorszenia sytuacji bytowej ulegają przekształceniu w cystę, która cechuje się większą odpornością. Szerokie rozpowszechnienie oraz amfizoizm sprawiają, że FLA stwarzają zagrożenie dla zdrowia, a nawet życia ludzi. Zdolne są one do wywołania AK oraz ciężkich chorób OUN, takich jak GAE i PAM. Dotychczas nie opracowano jednoznacznych i w pełni skutecznych schematów leczenia, a diagnostyka tych schorzeń nadal nastrocza wielu problemów. Działania profilaktyczne oraz uświadamianie zagrożeń związanych z zarażeniem FLA wydają się niezbędne do ograniczenia wciąż rosnącej liczby przypadków zachorowań.

Do chwili obecnej na terenie Warszawy nie przeprowadzono badań w kierunku izolacji FLA z próbek środowiskowych gleby. Założeniem niniejszej pracy było wykrycie obecności ameb wolnożyjących w próbkach środowiskowych gleby, pobranych z terenów warszawskich parków i skwerów oraz określenie potencjalnej patogenności wyizolowanych pełzaków, poprzez oznaczenie ich termofilności. We wszystkich próbkach gleby, objętych badaniem, wykazano występowanie przynajmniej jednego rodzaju ameb. Wzrost liczby trofozoitów, po inkubacji w temperaturze 37°C, stwierdzono w 35 % próbek, natomiast po inkubacji w temperaturze 45°C w 30 % próbek. W 15 % próbek zaobserwowano wzrost liczby form troficznych w obydwu temperaturach. Uzyskane wyniki sugerują, że obszary poddane badaniu mogą stanowić źródło zarażenia potencjalnie patogennymi FLA.

**Słowa kluczowe: ameby wolnożyjące, gleba, patogenność, próbki środowiskowe, termofilność, Warszawa**

**Aleksandra Michalak**

***Badanie wpływu wyciągów i frakcji z ziela macierzanki na gojenie ran i aktywność fibroblastów skóry ludzkiej***

Zbadanie wpływu ekstraktów z Serpylli herba z trzech populacji i ich frakcji na wydzielanie cytokin prozapalnych przez fibroblasty skóry ludzkiej oraz zbadanie ich wpływu na migrację keratynocytów w teście gojenia in vitro.

Wpływ macierzanki piaskowej na żywotność prawidłowych fibroblastów skóry ludzkiej został oceniony za pomocą testów NRU. Fibroblasty stymulowano kwasem lipotejchojowym z gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*). Aktywność przeciwzapalną określono badając hamowanie wydzielania IL-6 i IL-8. Ich stężenie określono testami immunoenzymatycznymi ELISA. Wpływ na migrację unieśmiertelnionych ludzkich keratynocytów skóry do miejsca urazu badano w teście gojenia ran in vitro. Migrację komórek obserwowano i fotografowano 24 i 48 godzin po wykonaniu zadrapania.

Wszystkie metanolowe ekstrakty z ziela macierzanki piaskowej i większość ich frakcji nie miały negatywnego wpływu na żywotność fibroblastów. Badania wykazały, że ekstrakty z ziela *Thymus serpyllum* i ich frakcje zmniejszają odpowiedź zapalną fibroblastów stymulowanych LTA. Ekstrakty metanolowe (60% v/v) i frakcje octanu etylu z populacji Koziół i Sejny wykazywały najsilniejsze hamowanie wydzielania cytokin. Ekstrakt z populacji Koziół w stężeniu 100 µg/ml hamował wydzielanie IL-6 w około 50%. Najsilniejszy wpływ na migrację keratynocytów miała populacja Sejny. Wyciąg metanolowy w stężeniu 100 µg/ml zmniejszył powierzchnię zadrapania o  $23,94 \pm 7,72\%$ .

**Słowa kluczowe: *Thymus serpyllum*, aktywność przeciwzapalna, gojenie ran**

**Wiktoria Klus**

***Wpływ zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych na proces różnicowania monocytów w makrofagi***

Neutrofile i monocyty/makrofagi są efektorowymi komórkami żernymi układu immunologicznego. Zwalczają patogeny obecne w organizmie za pomocą funkcji takich jak fagocytoza, degranulacja, synteza reaktywnych form tlenu i azotu oraz, w przypadku neutrofilów, uwalnianie zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (ang. neutrophil extracellular traps, NETs). W czasie stanu zapalnego występuje interakcja pomiędzy neutrofilami i monocytami/makrofagami. Badania wykazały między innymi, że NETs mogą indukować w makrofagach transkrypcję genów kodujących cytokiny prozapalne.

Celem pracy było zbadanie wpływu NETs na proces różnicowania monocytów w makrofagi, poprzez ocenę ekspresji antygenów powierzchniowych oraz morfologii komórek.

Neutrofile z krwi zdrowych dawców izolowano metodą wirowania w gradiencie gęstości, a następnie komórki były stymulowane do wyrzutu NETs za pomocą PMA przez 3 godziny. Aby przygotować zawiesinę NETs, znad stymulowanych neutrofilów zbierano i odrzucano supernatant, pozostałą zawartość szalek zbierano przez intensywne pipetowanie, a następnie wirowano. W otrzymanym supernatancie przeprowadzono spektrofotometryczny pomiar stężenia DNA. Jako kontrole przygotowano: medium hodowlane, zawiesinę NETs trawioną DNazą oraz roztwór zawierający wyłącznie DNazę. Aby uzyskać zróżnicowane makrofagi, monocyty izolowano z krwi obwodowej zdrowych dawców za pomocą kulek magnetycznych, stosując metodę negatywnej selekcji. Monocyty następnie poddano procesowi różnicowania, trwającego 7 dni: przez pierwsze 6 dni za pomocą GM-CSF/M-CSF, a następnie przez 24 godziny inkubowano komórki z IFN- $\gamma$ , IL-4 lub IL-10, cały czas dodając odpowiednio zawiesinę NETs/ DNazę/NETs trawione DNazą lub samo medium hodowlane. Siódmego dnia różnicowania komórki zostały aktywowane za pomocą LPS. Aby określić wpływ NETs na różnicowanie przeprowadzono analizę cytometryczną ekspresji antygenów CD14, CD16, CD68, CD80 i CD163 oraz ocenę mikroskopową makrofagów, uwzględniając morfologię komórek.

Zarówno analiza cytometryczna jak i ocena mikroskopowa pozwoliły wykazać, że NETs nie mają wpływu na morfologię makrofagów ani stopień ekspresji badanych antygenów. Ekspresja niektórych antygenów uległa istotnemu obniżeniu wyłącznie w obecności NETs degradowanych DNazą (CD163 – M2a, CD80 – M2c) lub samej DNazy (CD16 – M2a).

**Słowa kluczowe: NETs, makrofagi, monocyty, neutrofile**

**Mateusz Jędrzejewski**

***Zastosowanie metod symulacji dynamiki molekularnej oraz obliczeń QM w analizie mechanizmu katalicznego białka LAMT***

W niniejszej pracy scharakteryzowany został, na poziomie molekularnym, mechanizm kataliczny metylotransferazy kwasu loganowego. Enzym ten odpowiada za biosyntezę loganiny, która jest prekursorem szerokiego spektrum związków o aktywności biologicznej. Szczegóły tego procesu nie zostały poznane, dlatego w tej pracy skupiono się na analizie struktury i aktywności metylotransferazy kwasu loganowego.

Przy pomocy symulacji dynamiki molekularnej została odtworzona natywna struktura kompleksu oraz zbadane zostały kluczowe oddziaływania pomiędzy substratem a metylotransferazą kwasu loganowego. Następnie struktury uzyskane w wyniku symulacji zostały wykorzystane do obliczeń kwantowo-chemicznych. Obliczenia QM pozwoliły na zbadanie aspektów termodynamicznych reakcji oraz scharakteryzowanie jej mechanizmu.

Uzyskane w tej pracy wyniki dowodzą istnienia dwóch wzorców interakcji pomiędzy metylotransferazą kwasu loganowego a substratem. Wykazana została również rola reszty Q38 w wiązaniu oraz orientowaniu reszty karboksylowej substratu. Dzięki hybrydowemu podejściu MD/QM odtworzona została eksperymentalna bariera reakcji oraz ujawnione zostały szczegóły mechanizmu aktywności enzymatycznej metylotransferazy kwasu loganowego.

**Słowa kluczowe: metylotransferaza, dynamika molekularna, kwantowo-chemiczne podejście klastrowe, mechanizmy reakcji, kataliza enzymatyczna**