

FINAŁ KONKURSU PRAC MAGISTERSKICH



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY
—
WYDZIAŁ
FARMACEUTYCZNY



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

XV KPM ANALITYKI MEDYCZNEJ LXI KPM FARMACJI

PIĄTEK, 14.03.2025

SESJA PLAKATOWA: 8:30 - 10:00

SESJA REFERATOWA: 10:00 - 15:00

AULA B, CENTRUM DYDAKTYCZNE
UL. KSIĘCIA TROJDENA 2A



POLSKIE
TOWARZYSTWO
FARMACEUTYCZNE



werfen





WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

KONKURS PRAC MAGISTERSKICH WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO

**Finał Konkursu Prac Magisterskich
Wydziału Farmaceutycznego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

**XV Konkurs Prac Magisterskich kierunku Analityka Medyczna
LXI Konkurs Prac Magisterskich kierunku Farmacja**

**14 marca 2025 r.
Aula B, Centrum Dydaktyczne WUM
Uroczyste Otwarcie Finału godz. 10.00**



WYDZIAŁ
FARMACEUTYCZNY
WUM

ul. Banacha 1
02-097 Warszawa
<https://wf.wum.edu.pl/konkurs-prac-magisterskich>

kpm.analityka@wum.edu.pl
kpm.farmacja@wum.edu.pl

Program Finału Konkursu Prac Magisterskich WF WUM
XV Konkurs Prac Magisterskich kierunku Analityka Medyczna
LXI Konkurs Prac Magisterskich kierunku Farmacja

8.30 – 10.00 Stacjonarna Sesja Plakatowa

10.00 – 10.10 Uroczyste Otwarcie Konferencji

Dr hab. n. farm. Piotr Luliński, Dziekan Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

10.10 – 10.20 Wystąpienie Władz Wydziału Farmaceutycznego

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Olga Ciepiela, Prodziekan WF ds. Kształcenia na Kierunku Analityka Medyczna

Dr hab. n. farm. Agnieszka Bazylko, Prodziekan WF ds. Kształcenia na Kierunku Farmacja

10.20 – 10.30 Wystąpienia zaproszonych Gości

10.30 – 12.15 Wystąpienia konkursowe Finalistów

Mgr farm. Kamila Rębis

Mgr Kasandra Kosman

Mgr farm. Marta Wronikowska

Mgr Aleksandra Kumorek

Mgr farm. Zofia Korpusik

Mgr Artur Jędras

Mgr farm. Alicja Mirońska

Mgr Katarzyna Pietrucha

Mgr farm. Katarzyna Powała

Mgr Aleksandra Wiśniewska

12.15 – 12.45 Przerwa

12.45 – 14.30 Wystąpienia konkursowe Finalistów

Mgr farm. Kamil Szczepanik

Mgr Julia Stańczyk

Mgr farm. Agnieszka Zięba

Mgr Ilona Zembrzuska-Kaska

Mgr farm. Zuzanna Żelażewska

Mgr Karolina Nowak

Mgr farm. Weronika Widomska

Mgr Julia Kusak

Mgr farm. Aleksandra Paduch

Mgr Wiktoria Przyborska

14.30 – 15.00 Wykład plenarny pt. „Potencjał psylocybiny w leczeniu chorób psychicznych”

Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Jakub Piwowarski

15.00 Ogłoszenie wyników Konkursu

HONOROWY PATRONAT

Jego Magnificencja

Prof. dr hab. n. med. Rafał Krenke

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 KONKURSU PRAC MAGISTERSKICH WF WUM 2024/2025

Przewodnicząca:

prof. dr hab. Olga Ciepela

Zastępca Przewodniczącej:

dr hab. Agnieszka Bazyłko

Sekretarz:

dr Małgorzata Jeziorek

Sekretarz ds. kierunku

Analityka Medyczna:

Nina Andrzejczyk

Sekretarz ds. kierunku

Farmacja:

Natalia Kwarciak

Członkowie Komitetu ds. kierunku

Analityka Medyczna:

Szczepan Wąsik

Sabina Sobolewska

Dominika Zalewska

Salem Hamdan

Joanna Stopińska

Alicja Zdun

Członkowie Komitetu ds. kierunku

Farmacja:

Zofia Stasińska

Jan Wójkowski

Milena Majewska

Adam Paderewski

Konkurs Prac Magisterskich Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Konkurs Prac Magisterskich WF WUM 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 Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

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 Konkursu

Mgr farm. Kamila Rębis

Personalizacja leczenia sirolimusem u pacjentów pediatrycznych po przeszczepieniu nerki – opracowanie i walidacja referencyjnej metody analitycznej w oparciu o technikę LC-MS/MS

Terapeutyczne monitorowanie stężeń (TDM) sirolimusu jest niezbędne do osiągnięcia optymalnego stężenia leku we krwi, co zapewnia pożądany efekt farmakologiczny przy jednoczesnym zachowaniu bezpieczeństwa i skuteczności leczenia. Sirolimus jako inhibitor mTOR odgrywa kluczową rolę w nowoczesnej transplantologii, dzięki swojemu unikalnemu mechanizmowi działania i dodatkowemu potencjałowi przeciwnowotworowemu. Monitorowanie stężeń sirolimusu jest niezbędne dla zapewnienia skuteczności i bezpieczeństwa terapii, co jest kluczowe dla długoterminowego sukcesu przeszczepów organów.

Głównym celem pracy było opracowanie i walidacja metody analitycznej oznaczania stężenia sirolimusu w pełnej krwi, opartej na wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową detekcją mas (LC-MS/MS).

W badaniu przeprowadzono analizę próbek klinicznych od pacjentów pediatrycznych leczonych w Instytucie-Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka (IPCZD) w Warszawie. Metoda LC-MS/MS została zastosowana do analizy stężeń sirolimusu, a wyniki porównano z wynikami uzyskanymi metodą ACMIA (automatyczna metoda immunochemiczna z użyciem cząstek magnetycznych, ang. Automated Magnetic Particle Immunoassay). Walidację analityczną, krzyżową i kliniczną przeprowadzono zgodnie z wytycznymi EMA (Europejska Agencja Leków, ang. European Medicines Agency), FDA (Agencja Żywności i Leków, ang. Food and Drug Administration) oraz IATDMCT (Międzynarodowe Stowarzyszenie Monitorowania Leków Terapeutycznych i Toksykologii Klinicznej, ang. International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology). Uzyskane w trakcie walidacji analitycznej wyniki, potwierdziły równoważność askomycyny jako standardu wewnętrznego w stosunku do znakowanego izotopowo standardu wewnętrznego sirolimusa. Wyznaczono parametry walidacyjne, takie jak: liniowość, dokładność, precyzja, efekt matrycowy, efekt przeniesienia oraz stabilność. Kryteria walidacyjne zostały spełnione, a metoda została pomyślnie zwalidowana w zakresie 0.25 – 60 ng/ml. Wyniki walidacji krzyżowej wykazały wyższość techniki LC-MS/MS w porównaniu do rutynowo stosowanej techniki immunochemicznej ACMIA. Walidacja krzyżowa została przeprowadzona przy użyciu narzędzi statystycznych: analiza regresji Passinga-Babloka, analiza błędu metodą Blanda-Altmana oraz analiza korelacyjna. Jakkolwiek wykazano równoważność obydwu metod, jednak to metoda LC-MS/MS uważana jest za referencyjną. Zauważono, że średnie stężenie 69 sirolimusa oznaczone metodą ACMIA jest wyższe niż oznaczone za pomocą techniki LC-MS/MS. Przeprowadzono walidację kliniczną metody analizując próbki pełnej krwi od pacjentów pediatrycznych po przeszczepieniu nerki, leczonych w Instytucie-Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie. Dodatkowo, rozpoczęto standaryzację metody poprzez udział w międzynarodowym programie badania biegłości laboratoriów.

Opracowana metoda może znaleźć zastosowanie w rutynowej terapii monitorowanej stężeniem sirolimusu we krwi pełnej i stanowić punkt odniesienia w stosunku do innych matryc biologicznych oraz alternatywnych strategii pobierania próbek.

Słowa kluczowe: sirolimus, rapamycyna, LC-MS/MS, ACMIA, pediatryczni biorcy nerki

Mgr Kasandra Kosman

Stworzenie konstruktów zawierających sekwencję genu CEBPA, umożliwiającego różnicowanie komórek linii K562 w komórki granulocytopodobne

Neutrofile, stanowiące najliczniejszą grupę komórek wśród leukocytów dorosłego człowieka, pełnią kluczową rolę w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej organizmu. Z uwagi na krótki czas życia neutrofilów, nie nadają się one do długotrwałej modyfikacji genetycznej. Dobrym celem modyfikacji genetycznych są za to ich komórki progenitorowe, których dostępność jest niestety ograniczona. W związku z tym w badaniach naukowych korzysta się z modeli opartych o ustalone linie komórkowe, które mają zdolność różnicowania w komórki granulocytopodobne w wyniku odpowiedniej stymulacji lub modyfikacji.

Czynnik transkrypcyjny CEBP α (ang. CCAAT enhancer binding protein α) bierze udział w procesie różnicowania komórek macierzystych do dojrzałych neutrofilów. Wiążąc się z odpowiednimi promotorami, pobudza i aktywuje ekspresję genów charakterystycznych dla linii granulocytarnej.

Celem pracy było stworzenie modelu komórkowego opartego o linię K562, zawierającego sekwencję genu kodującą białko CEBP α i umożliwiającego indukcję ekspresji tego białka w określonym czasie z wykorzystaniem systemu Tet-On.

Gen kodujący białko CEBP α wbudowano do wektora lentiwirusowego pLVX-IRES-Puro, który wprowadzono do komórek linii HEK293T. Nadekspresję białka potwierdzono techniką western blot. Następnie gen CEBP α wprowadzono do plazmidu pLVX-Tight-Puro. Stworzony konstrukt oraz plazmid pLVX-Tet-On Advanced wprowadzono do komórek linii K562 w procesie transdukcji. W ramach przeprowadzonych badań zoptymalizowano stężenia antybiotyków selekcyjnych oraz doksykliny niezbędnej do indukcji ekspresji genu docelowego.

Wyniki badań potwierdziły uzyskanie stabilnej linii komórkowej wykazującej nadekspresję białka CEBP α po zastosowaniu doksykliny. W przyszłości należy podjąć kroki w celu oceny stopnia zróżnicowania komórek w kierunku neutrofilów, w tym ekspresji markerów powierzchniowych charakterystycznych dla granulocytów.

Słowa kluczowe: białko CEBP α , neutrofile, system Tet-On, transdukcja lentiwirusowa

Mgr farm. Marta Wronikowska

Hydrożelowe systemy dostarczania i kontrolowanego uwalniania paklitakselu – synteza, badania strukturalne i fizykochemiczne

W niniejszej pracy podjęto próbę otrzymania hydrożelowych nośników PTX, zdolnych do uwalniania substancji czynnej z zaprogramowaną i kontrolowaną kinetyką.

Podjęto się syntezy takiego nośnika z kopolimeru poloksameru z TMC.

Przeprowadzono szereg syntez, w wyniku których otrzymano pożądane kopolimery, potwierdzono ich strukturę oraz opisano ich budowę cząsteczkową przez interpretacje widm H NMR.

Zsyntetyzowane kopolimery wykorzystano do otrzymania hydrożeli, które poddano badaniom właściwości, takim jak temperatura żelowania.

Na podstawie wyników badań wykazano zależność między budową cząsteczek kopolimerów oraz stężeniem matrycy hydrożelowych, a ich właściwościami. Ponadto zbadano wpływ warunków syntezy na wspomniane parametry.

W celu ustalenia optymalnych warunków syntezy zastosowano metodę planowania eksperymentów opartą na planie czynnikowym. Dane otrzymane podczas badań kopolimerów wykorzystano do obliczeń. Wykonano je przy użyciu algorytmów opracowanych w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej i Biomateriałów.

Na podstawie modelu wyznaczono warunki syntezy, zapewniające otrzymanie matrycy o najlepszych właściwościach. Z obliczeń wynikało, że polimeryzacja powinna przebiegać w 120°C, przez 72h, z zachowaniem stosunku molowego monomeru do katalizatora na poziomie 250. Długość bloku TMC łańcucha kopolimeru powinna wynosić 20 merów.

Korzystając z tej wiedzy podjęto się syntezy kopolimeru w większej skali.

Tak otrzymany produkt oczyszczono i rozpuszczono w wodzie uzyskując roztwory wodne o stężeniu 5% oraz 10%. Przygotowane hydrożele poddano badaniu temperatury LCST.

Podczas badania stwierdzono, że optymalnym stężeniem hydrożelu jest 10%. Charakteryzuje się LCST o wartości 29°C.

Należy przeprowadzić dalsze badania nad otrzymywaniem systemów terapeutycznych zawierających PTX z wykorzystaniem otrzymanych podczas tego eksperymentu hydrożeli.

Słowa kluczowe: paklitaksel, poloksamer (P407), węglan trimetylenu (TMC), kontrolowane uwalnianie, hydrożel, leki przeciwnowotworowe;

Mgr Aleksandra Kumorek

Ocena stężenia galektyny-3 w osoczu krwi jako potencjalnego markera zwłóknienia wątroby u pacjentów z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C oraz wpływu skutecznego leczenia na jej stężenie

Wstęp: Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C (WZW C) jest częstą przyczyną włóknienia wątroby, które może prowadzić do marskości tego narządu, a także do rozwoju raka wątrobowokomórkowego (HCC). Udowodniono, że galektyna-3 (Gal-3) bierze czynny udział w procesie bliznowacenia tkanki i zwłóknienia, m. in. Poprzez aktywację miofibroblastów wytwarzających nadmiar macierzy pozakomórkowej, stwarzając potencjał wykorzystania jako tani, nieinwazyjny biomarker w różnicowaniu jego stadiów. Wykazano także, że Gal-3 bierze czynny udział w powstawianiu ognisk nowotworzenia HCC. W ostatnich latach nastąpił ogromny postęp w leczeniu przewlekłego WZW C, wraz z zastosowaniem leków o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym (DAA). Jednakże, skuteczne leczenie może zmniejszyć, lecz nie eliminuje całkowicie ryzyka rozwoju HCC, szczególnie u pacjentów z zaawansowanym włóknieniem. Jak dotychczas, nie zbadano wpływu nowoczesnego leczenia DAA na stężenie Gal-3.

Cel pracy: Celem pracy była ocena stężenia Gal-3 w osoczu krwi jako potencjalnego nieinwazyjnego markera stopnia zwłóknienia wątroby u pacjentów z przewlekłym WZW C oraz weryfikacja wpływu skutecznego leczenia na jej stężenie.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 97 pacjentów z przewlekłym WZW C zakażonych genotypem 1b wirusa, zakwalifikowanych do leczenia DAA. Krew została pobrana przed rozpoczęciem terapii oraz po 6 miesiącach od jej zakończenia. Stopień zwłóknienia wątroby oznaczono za pomocą elastografii wątroby i wyrażono w skali Metavir. Pacjentów podzielono na grupy o stopniu zwłóknienia F0/1, F2, F3 oraz F2+F3. Stężenie galektyny-3 w osoczu oznaczono za pomocą komercyjnego testu ELISA.

Wyniki: Przed leczeniem, wartości median stężeń Gal-3 w osoczu były porównywalne w grupach o stopniu zwłóknienia F0/1, F2, F3 oraz u zdrowych kontroli, wynosząc odpowiednio 7.12 (0.00 – 21.50), 7.06 (0.00 – 19.41), 8.01 (2.58 – 13.30) oraz 4.98 (0.00 – 13.37) ng/mL ($P > 0.05$). Skuteczne leczenie nie miało wpływu na stężenie Gal-3 u pacjentów o niższym stopniu zwłóknienia (F0/1), lecz uległo znamiennej zwiększeniu u pacjentów z bardziej zaawansowanym zwłóknieniem (F2+F3) (z 7.47 (0.00 – 19.41) do 9.63 (0.00 – 17.85) ng/mL, $P = 0.0336$). W porównaniu do zdrowych kontroli, stężenie galektyny-3 po leczeniu było znacznie wyższe w grupie pacjentów o bardziej zaawansowanym stopniu zwłóknienia wątroby (4.98 (0.00 – 13.37) vs 11.90 (2.21 – 17.39) ng/mL dla grupy F3, $P = 0.0200$ oraz 4.98 (0.00 – 13.37) vs 9.63 (0.00 – 17.85) ng/mL dla grupy F2+F3, $P = 0.0373$).

Wnioski: Badanie nie wykazało przydatności oceny stężenia Gal-3 w osoczu jako potencjalnego markera różnicowania stopnia zwłóknienia wątroby u pacjentów z przewlekłym WZW C. Wzrost stężenia Gal-3 po skutecznej terapii u pacjentów z bardziej zaawansowanym zwłóknieniem wskazuje na potrzebę dalszego monitorowania tych pacjentów, szczególnie w kontekście ryzyka rozwoju marskości wątroby i/lub HCC, a także dalszych badań tego zjawiska.

Słowa kluczowe: galektyna-3, HCV, WZW C, zwłóknienie wątroby, terapia przeciwwirusowa, biomarkery

Mgr farm. Zofia Korpusik

Otrzymywanie nowych analogów α -arylo- α -aminonitryli i α -aminokwasów, pochodnych sulfoksymin

W niniejszej pracy dyplomowej skupiono się na otrzymaniu związków będących pochodnymi sulfoksymin: analogów arylo- α -aminonitryli oraz analogów α -aminokwasów naturalnych fenyloalaniny, seryny i tyrozyny na drodze syntezy z wykorzystaniem reakcji wielokomponentowych. Dla otrzymanych α -aminokwasów opracowano pierwszą metodę oczyszczania przy pomocy HPLC na kolumnie semi-preparatywnej, w celu oceny warunków i wydajności procesu hydrolizy otrzymanych wcześniej pochodnych α -aminonitryli. Dodatkowo oceniono wpływ podniesienia skali procesu syntezy na jej wydajność.

Jako metodę syntezy wybrano reakcję Streckera. W wyniku przeprowadzonej syntezy otrzymano trzynaście związków z czego dziewięć wcześniej nieopisanych.

Po przeprowadzonym badaniu można stwierdzić, że podniesienie skali syntezy z 1-2 mmol do 10-12 mmol nie wpływa znacząco na wydajność procesu syntezy badanych pochodnych aminonitryli.

Otrzymanie związków 4 i 6 na drodze hydrolizy z niską wydajnością jest spowodowane obecnością w ich budowie grupy hydroksylowej zabezpieczonej grupą benzyłową. Należy opracować inną metodą syntezy. W pracy podjętą taką próbę, niestety otrzymany związek 9 wymywał się na kolumnie razem z zanieczyszczeniami.

Opracowana nowa metoda oczyszczania wykazała, że powstałe analogi aminokwasów mają postać soli kwasu trifluorooctowego, która może mieć wpływ na dalsze badania biologiczne. Należy pamiętać o tym przy planowaniu dalszych badań.

Otrzymane związki mogą stać się prekursorami w badaniach nad nowymi związkami o działaniu biologicznym, a w dalszym etapie stać się składnikami nowych leków.

Słowa klucz: Pochodne sulfoksymin, reakcja Streckera, MCRs, aminokwasy nienaturalne

Mgr Artur Jędras

Development of a Refined Blister Formation Model Aimed at Elucidating IL-17B Functions in the Inflammatory Response Associated with Bullous Pemphigoid

Wstęp: Pemfigoid pęcherzowy (bullous pemphigoid) (BP) to autoimmunologiczna choroba pęcherzowa skóry, która występuje głównie u osób starszych, znacząco wpływając na ich zdrowie i jakość życia. BP jest wywoływane głównie przez autoprzeciwciała przeciwko dwóm białkom hemidesmosomalnym, BP180 i BP230, w połączeniu z nieprawidłową odpowiedzią zapalną, która prowadzi do zniszczenia hemidesmosomów i powstania pęcherzy skórnych. Cytokiny z rodziny interleukiny-17, zwłaszcza IL-17A, odgrywają rolę w rozwoju BP. Niedawno laboratorium IRMAIC zidentyfikowało IL-17B w surowicy i płynie pęcherzowym pacjentów z BP i potwierdziło ujemną korelację między poziomami IL-17B w płynie pęcherzowym, a punktacją związaną z pęcherzami i nadżerkami, co sugeruje potencjalną ochronną rolę IL-17B w powstawaniu pęcherzy w BP.

Cel: Celem tej pracy było zbadanie składników komórkowych i molekularnych oraz funkcji osi IL-17B/IL-17 receptor B (IL-17RB) w momencie rozpoznania BP. Praca ta skupiła się na identyfikacji komórek krwi, które mogą potencjalnie reagować na IL-17B, poprzez ocenę ekspresji IL-17RB i IL-17RA w komórkach limfoidalnych, a zwłaszcza we wrodzonych komórkach limfoidalnych (ILCs). W dalszej części pracy opracowano i dostosowano w naszym laboratorium model *ex vivo* separacji skóry właściwej i naskórka, w celu zbadania roli IL-17B w procesie tworzenia się pęcherzy.

Metody i wyniki: W celu zbadania ekspresji IL-17RB i IL-17RA w BP przeprowadzono badanie pilotażowe z udziałem 3 pacjentów z BP, z których u dwóch doszło do nawrotu choroby, a także 3 osób z grupy kontrolnej dobranych pod względem płci i wieku. Od wszystkich 6 osób pobrano komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC) na początku leczenia oraz dodatkowo w 60 i 90 dniach po rozpoczęciu leczenia od pacjentów, u których wystąpił nawrót choroby. Analiza metodą cytometrii przepływowej wykazała wszechobecną ekspresję IL-17RA na ILC, komórkach NK i limfocytach/monocytach na początku badania. Zauważono, że ekspresja IL-17RA zmniejsza się w trakcie leczenia u pacjentów z BP u których dochodzi do nawrotu choroby. Nie zaobserwowano natomiast ekspresji IL-17RB w żadnej z tych grup komórek ani w momencie diagnozy i rozpoczęcia leczenia, ani w momencie nawrotu choroby. Model powstawania pęcherzy *ex vivo* został zoptymalizowany poprzez dostosowanie jakości i grubości krioskrawków, stężenia przeciwciał w surowicy krwi pacjentów z BP, liczby granulocytów, zastosowanych do inkubacji krioskrawków oraz sposobu aktywacji komórek. Zastosowano również barwienie immunofluorescencyjne dla antykolagenu IV i anty-BP180 w celu ulepszenia ilościowej oceny separacji skóry i naskórka w tym modelu *ex vivo*.

Wnioski: Niniejsza praca wykazała, że IL-17RB nie ulega ekspresji w komórkach limfoidalnych na poziomie ogólnoustrojowym u pacjentów z BP zarówno w momencie rozpoznania jak i w trakcie leczenia. Konieczne są dalsze badania w celu scharakteryzowania komórek IL-17RB+, zwłaszcza *in situ* w miejscach uszkodzenia. Dodatkowo w pracy przedstawiono narzędzie, które będzie przydatne do przyszłych badań nad funkcją różnych interleukin w procesie tworzenia się pęcherzy w BP. Model ten w połączeniu ze stymulacją granulocytów supernatantami pochodzącymi z komórek IL-17RB+ indukowanych za pomocą IL-17B powinien umożliwić lepsze zdefiniowanie roli IL-17B w tworzeniu się pęcherzy, co może prowadzić do nowych alternatywnych terapii wobec miejscowej kortykoterapii w leczeniu BP.

Słowa kluczowe: Pemfigoid pęcherzowy, IL-17B, receptor IL-17B, receptor IL-17A, ILC, cytometria przepływowa, remisja

Mgr farm. Alicja Mirońska

Synthesis of a Diazine-Based Intermediate Products as Potential Human Neuraminidase Inhibitors

Celem pracy magisterskiej była synteza produktów pośrednich jako potencjalnych inhibitorów ludzkiej neuraminidazy na bazie struktury diazyny. Efektem badań była synteza trzech cząsteczek różniących się łańcuchem bocznym w pozycji C5, co pozwala na ich porównanie pod względem aktywności w przyszłych badaniach.

Neuraminidazy to enzymy odpowiedzialne za usuwanie końcowych reszt kwasu sialowego z glikolipidów, oligosacharydów i glikoprotein. Modulują w ten sposób fizjologiczną aktywność komórkową i przyczyniają się do rozwoju chorób takich jak cukrzyca, nowotwory, choroby płuc i układu sercowo-naczyniowego.

Praca magisterska została podzielona na część teoretyczną i eksperymentalną. Część teoretyczna przedstawia klasyfikację neuraminidaz, ich strukturę, mechanizm działania, substraty i inhibitory. Następnie szczegółowo opisano ścieżkę syntezy wykorzystywaną do uzyskania cząsteczek docelowych, wszystkie zastosowane reakcje i omówiono warunki reakcji. Zanieczyszczenie O-acetylo-mocznikiem okazało się największym wyzwaniem podczas syntezy, a wysiłki mające na celu uzyskanie najmniej zanieczyszczonych produktów sprzęgania peptydów przedstawiono w Tabelach 4, 5 i 6.

Część eksperymentalna zawiera strukturę cząsteczek uzyskanych w każdej reakcji, dane dotyczące ilości użytych odczynników i kolejności ich dodawania, metody oczyszczania i użyte rozpuszczalniki. Podczas syntezy metoda oczyszczania okazała się kluczowa dla uzyskania najmniej zanieczyszczonych produktów sprzęgania i reakcji Suzuki, a najlepsze wyniki uzyskano stosując preparatywną TLC. Docelowe cząsteczki oczyszczono metodą HPLC. Konieczne jest jednak znalezienie lepszych warunków dla tej metody, aby uniknąć koelucji z TBAF. Powyższa praca dowodzi, że zastosowana ścieżka syntezy jest skuteczna i pozwala na uzyskanie docelowych cząsteczek.

Mgr Katarzyna Pietrucha

Analiza w skali całogenomowej potencjalnie patogennych sekwencji repetytywnych

Cel pracy: Mutacje dynamiczne to klasa zmian genetycznych charakteryzujących się ekspansją powtórzeń nukleotydów w określonych genach, prowadzącą do niestabilności genomu i szeregu chorób dziedzicznych. Te mutacje są odpowiedzialne za kilka chorób neurodegeneracyjnych i neuromięśniowych, w tym chorobę Huntingtona, zespół łamliwego chromosomu X, dystrofię miotoniczną i zespół Canvas. W przeciwieństwie do mutacji statycznych, mutacje dynamiczne wykazują wzrost liczby powtórzeń w kolejnych pokoleniach, co często koreluje z ciężkością choroby i wcześniejszym początkiem w kolejnych pokoleniach. Przeprowadzone badania miały na celu sprawdzenie i porównanie dwóch metod badawczych- Optycznego Mapowania Genomu i Sekwencjonowania Całego Genomu.

Materiały i metody: Materiałem do badań była krew pełna pobrana od dwóch pacjentów Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie ze zdiagnozowanymi mutacjami dynamicznymi: z zespołem Canvas i Dystrofią Miotoniczną typu 2. Badania przeprowadzono dwoma porównywanymi metodami: Optycznym Mapowaniem Genomu (OGM) i Sekwencjonowaniem Całego Genomu (WGS).

Wyniki: Metoda Sekwencjonowania Całego Genomu nie potwierdziła występowania mutacji dynamicznych u pacjentki ze zdiagnozowanym zespołem CANVAS. Obliczona liczba STR za pomocą programu bioinformatycznego ExpansionHunter dała wynik poniżej patogennego. Optyczne Mapowanie Genomu zaś potwierdziło występowanie ich w obu przypadkach.

Słowa Kluczowe: Optyczne Mapowanie Genomu; Sekwencjonowanie Całego Genomu; Zespół Canvas, Dystrofia Miotoniczna typu 2; Mutacje dynamiczne.

Mgr farm Katarzyna Powała

Teoretyczna analiza zależności pomiędzy oddziaływaniem agonistów i antagonistów z receptorem RAR γ a ich aktywnością biologiczną

Cele pracy:

Celem badania była analiza za pomocą technik modelowania molekularnego w jaki sposób wybrane analogi oddziałują z receptorem RAR γ , jakie jest ich powinowactwo do tego receptora, jaką przyjmują konformację w kieszeni wiążącej ligand receptora oraz jak wpływają na strukturę helisy RAR γ . Następnie nastąpiła analiza teoretyczna zależności pomiędzy oddziaływaniem wybranych agonistów i antagonistów z receptorem RAR γ , a ich aktywnością biologiczną oraz wybranie najbardziej aktywnych związków, które mogą być poddane dalszym badaniom. Jest to pierwsza próba zadokowania wybranych analogów do receptora RAR γ .

Wyniki:

Struktury zarówno agonistów jak i antagonistów mieściły się w kieszeni wiążącej ligand receptora RAR γ . Wszystkie analogi tworzyły wiązania z resztami aminokwasowymi (m.in. Met272) charakterystycznymi dla receptora RAR γ . Zaobserwowano występowanie różnic w długościach wiązań hydrofobowych tworzonych przez agonistów i antagonistów w obrębie helisy 12 receptora RAR γ , odpowiadającej za jego aktywność transkrypcyjną.

Słowa kluczowe:

Receptor RAR γ , kwas all-trans-retinowy, ATRA, modelowanie molekularne, komórki nowotworowe, agonista, retinoidy, antagonisty RAR γ

Mgr Aleksandra Wiśniewska

Wpływ polimorfizmu rs7903146 genu TCF7L2 na występowanie wybranych chorób cywilizacyjnych

Czynnik transkrypcyjny 7-like 2 (TCF7L2) uczestniczy w regulacji szlaku sygnałowego Wnt, który wpływa na różne procesy w organizmie, w tym na embriogenezę, a także kancerogenezę, ale pozostaje głównie związany z funkcją trzustki. Udowodniono, że polimorfizmy pojedynczego nukleotydu genu TCF7L2 są szeroko powiązane z różnymi chorobami.

Celem pracy była ocena wpływu polimorfizmu rs7903146(C/T) genu TCF7L2 na występowanie wybranych chorób cywilizacyjnych.

W badaniu uwzględniono 441 pacjentów (wiek $46,2 \pm 13,9$ lat, BMI $28,3 \pm 5,4$ kg/m²). Aby ocenić częstość występowania polimorfizmu rs7903146(C/T) TCF7L2, wyizolowano DNA z krwi pełnej K3EDTA przy użyciu zestawu Blood Mini (A&A Biotechnology). Ocenę genotypu rs7903146(C/T) przeprowadzono metodą real time PCR, przy użyciu sondy TaqMan, na analizatorze Viia 7 (Applied Biosystems). Dodatkowo analizowane parametry obejmowały pomiary glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu lipoprotein o dużej gęstości (HDL-C), cholesterolu lipoprotein o małej gęstości (LDL-C) i trójglicerydów, jak również wartości ciśnienia tętniczego. Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem testu ANOVA, testu Chi2 oraz analizy ilorazu szans (OR), przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Częstość genotypów rs7903146(C/T) wynosiła: CC 59,9%, CT 35,6% i TT 4,5%. Częstość genotypu TT dla wariantu rs7903146 w grupie chorych na cukrzycę typu 2 (T2DM) była większa niż u chorych bez T2DM. Osoby noszące genotyp rs7903146 TT charakteryzowały się istotnie wyższymi stężeniami glukozy na czczo w porównaniu z nosicielami allele C. Ponadto genotyp TT wiązał się z większym ryzykiem otyłości u badanych pacjentów. Nie stwierdzono jednak istotnego związku pomiędzy wariantem rs7903146(C/T) a profilem lipidowym lub nadciśnieniem tętniczym.

Polimorfizm rs7903146(C/T) był silnie związany z ryzykiem występowania cukrzycy typu 2 i otyłości wśród badanych pacjentów. Dodatkowo genotyp TT predysponował do istotnie wyższych stężeń glukozy na czczo, jak również wyższych wartości BMI.

Słowa kluczowe: TCF7L2, rs7903146(C/T), cukrzyca typu 2, otyłość

Mgr farm. Kamil Szczepanik

Noworodkowy receptor Fc (FcRn) i składnik C5a w smółce noworodka

Cel pracy: Okres wewnątrzmaciczny jest kluczowy dla uzyskiwania odporności immunologicznej rozwijającego się płodu. Wyposażenie płodu w immunoglobuliny i nabywanie odporności biernej zabezpiecza płód przed powstawaniem chorób już na wczesnym etapie rozwoju płodu. Celem pracy jest analiza zależności pomiędzy stężeniem FcRn i C5a w smółkach oraz wodach płodowych, ich wzajemnych powiązań z ciężarem urodzeniowym oraz tygodniem ciąży noworodków.

Wyniki: Średnie wartości stężenia FcRn w płynie owodniowym i smółce wynosiły odpowiednio 135 ± 36 ng/ml oraz 81 ± 29 ng/ml. Średnie wartości stężenia C5a w płynie owodniowym i smółce wynosiły odpowiednio 48 ± 31 ng/ml oraz 41 ± 14 ng/ml. Dodatnią korelację wykazano pomiędzy stężeniem FcRn w smółce i wodach płodowych ($r=0.179$, $p=0.048$). Dodatnią korelację wykazano pomiędzy stężeniem FcRn i C5a w smółce ($r=0.327$, $p=0.000$). Ujemną korelację między tygodniem ciąży powiązano ze wzrostem stężenia FcRn i C5a w smółce – odpowiednio: $r=-0.241$, $p=0.007$ oraz $r=-0.284$, $p=0.001$. Nie wykazano istotnych statystycznie związków między tygodniem ciąży a stężeniem FcRn i C5a w płynie owodniowym ($p>0.05$). Wzrost ciężaru urodzeniowego powyżej 3560g (3. i 4. kwartyl) powiązano z istotną dodatnią zależnością między FcRn a C5a w smółce – odpowiednio: $r=0.499$, $p=0.004$ oraz $r=0.511$, $p=0.003$.

Wnioski: Stężenia FcRn i C5a w smółkach oraz ich wzajemne powiązania z czasem trwania ciąży mogą świadczyć o ich roli w procesach związanych z immunologicznym rozwojem płodu. Smółka jest materiałem klinicznym, którego swoistość i specyficzność dla rozwoju wewnątrzmacicznego płodu umożliwia poszukiwanie selektywnych markerów biologicznych do oceny rozwoju noworodka po urodzeniu. Dalsze poszukiwania selektywnych markerów biologicznych stwarza perspektywę wykorzystania ich funkcji do przygotowania noworodka do życia pozamacicznego.

Słowa kluczowe: smółka, płyn owodniowy, płodowy receptor Fc (FcRn), składnik C5a.

Mgr Julia Stańczyk

Ocena wpływu witaminy D3 wraz z lekami przeciwnowotworowymi na proces apoptozy w nowotworach hematologicznych

Wstęp: Leki stosowane w terapii nowotworów hematologicznych poza efektem terapeutycznym powodują liczne działania niepożądane. Poszukiwanie substancji o działaniu synergistycznym do leku może przyczynić się do zwiększenia skuteczności niższych dawek oraz zmniejszenie ryzyka objawów ubocznych u pacjentów.

Cel pracy: Celem przeprowadzonych badań była ocena cytotoksyczności doksorubicyny, jej połączenia z cholekalcyferolem oraz samej witaminy, ocena ich działania na procesy apoptotyczne oraz opisanie potencjalnego wpływu na skuteczność terapii w nowotworach hematologicznych.

Materiały i metody: Doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem linii komórkowej HL-60. W celu oceny cytotoksyczności komórki po inkubacji z badanymi substancjami, podanymi według schematu, wykonywano test z odczynnikiem MTT. Wyniki poddano analizie interakcji farmakologicznych metodą Chou-Talay'a. W celu mikroskopowej oceny stopnia apoptozy, komórki po inkubacji z lekami zostały też wybarwione FITC-aneksyną V oraz jodkiem propidyny.

Wyniki: Analiza interakcji farmakologicznych wykazała różnice w działaniu kombinacji substancji w zależności od stężenia. Najliczniejszą grupą były stężenia, przy których połączenie badanych substancji wywoływało efekt antagonistyczny. Znajdowały się w niej stężenia doksorubicyny z zakresu 0,6-0,01 mM i stężenia cholekalcyferolu w zakresie 32,5-0,5 mM. Podanie tych kombinacji powodowało redukcję działania chemioterapeutyku na apoptozę komórkę. Synergizm zaobserwowano w przy podaniu 2,3 mM i 128,9 mM oraz 0,004 mM i 0,25 mM odpowiednio doksorubicyny i witaminy, więc przy najwyższych i najniższych z zastosowanych stężeń. Dla stężeń 1,2 mM doksorubicyny i 64,9 mM cholekalcyferolu wykazano addytywizm. Wyniki wykonanej analizy mikroskopowej wybarwionych preparatów potwierdziło aktywację szlaków apoptozy w komórkach po podaniu badanych substancji.

Wnioski: W zależności od zastosowanych stężeń doksorubicyny i cholekalcyferolu podanych w kombinacji obserwuje się różny rodzaj interakcji farmakologicznej pomiędzy nimi.

Słowa kluczowe: apoptoza, doksorubicyna, cholekalcyferol, nowotwory hematologiczne, ostra białaczka szpikowa

Mgr farm. Agnieszka Zięba

Wpływ wybranych czynników przedanalitycznych i analitycznych na wyniki analizy śliny uzyskane metodą metabolomiki nieukierunkowanej

Wstęp: Ze względu na rosnące zainteresowanie medycyną spersonalizowaną, zaczęto poszukiwać płynów biologicznych, które będą alternatywnymi dla krwi źródłami informacji o stanie organizmu. Ślina jako materiał diagnostyczny jest obiecującym rozwiązaniem ze względu na nieinwazyjną metodę pobierania, możliwości pobierania w warunkach domowych oraz minimalne wymagania odnośnie przeszkolenia personelu. Liczne doniesienia literaturowe udowadniają, że w ślinie obecne są związki, które umożliwiają diagnozę różnych schorzeń oraz ich monitorowanie. Niemniej jednak niewiele wiadomo na temat wpływu czynników przedanalitycznych i analitycznych na wyniki oznaczeń metabolomicznych śliny.

Cel pracy: Celem niniejszej pracy było zbadanie czynników, które potencjalnie wpływają na liczbę wykrywanych metabolitów w analizie nieukierunkowanej śliny z użyciem metody chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Analizowano wpływ rodzaju rozpuszczalnika używanego do ekstrakcji metabolitów, rodzaju kolumny chromatograficznej oraz typu badanej śliny (stymulowana lub spoczynkowa).

Wyniki: Najwięcej metabolitów wykryto z wykorzystaniem mieszaniny ACN:MeOH (1:1, v/v) do ekstrakcji, na kolumnie chromatograficznej ZIC HILIC w przypadku metabolitów polarnych oraz na kolumnie C18 w przypadku metabolitów niepolarnych.

Wnioski: Rodzaj rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji, kolumny zastosowanej do rozdzielania wyekstrahowanych analitów, oraz typ śliny poddanej ekstrakcji wpływają na liczbę wykrytych metabolitów.

Słowa kluczowe: kolumna chromatograficzna, metabolity, metabolomika, spektrometria mas, ślina

Mgr Ilona Zembrzuska-Kaska

Wpływ warunków przestrzennych i płynu mózgowo-rdzeniowego na potencjał neuralnych komórek macierzystych

Neuralne komórki macierzyste (ang. neural stem cells, NSC) odgrywają kluczową rolę w regeneracji układu nerwowego, co czyni je przedmiotem intensywnych badań w kontekście terapii chorób neurologicznych. Aby jednak w pełni wykorzystać ich potencjał terapeutyczny, konieczne jest lepsze zrozumienie ich biologii i stworzenie warunków hodowli, które efektywnie naśladują naturalne środowisko mózgu.

Cele pracy: Głównym celem pracy była optymalizacja warunków hodowli NSC, aby jak najwierniej odzwierciedlić naturalne warunki panujące w neuralnej niszy, co pozwoli na lepsze zrozumienie biologii tych komórek. W tym celu wykonano analizę wpływu płynu mózgowo-rdzeniowego (ang. cerebrospinal fluid, CSF) i biodegradowalnego rusztowania (skafoldu) na los NSC.

Wyniki: W przebiegu badań stwierdzono, iż CSF wykazuje hamujące działanie na proces proliferacji komórek, a stymuluje dojrzewanie NSC, promując różnicowanie w kierunku komórek astrocytarnych i neuronalnych oraz korzystnie działa na proces migracji NSC. Hodowla w skafoldach wywiera korzystny wpływ na przeżywanie i proliferację NSC, a także stymuluje różnicowanie w kierunku astrocytów.

Podsumowując, hodowla NSC w skafoldach może pomóc odzwierciedlić warunki, jakie panują w mózgu. Zastosowanie CSF dodatkowo lub zamiast pożywki przyspiesza proces starzenia i dojrzewania komórek, oraz pobudza proces migracji NSC. Powyższe wyniki dają nadzieję, na lepsze zrozumienie procesów, jakim podlegają NSC w mózgu i stanowią podstawę do dalszych badań nad biologią NSC i regeneracją tkanki nerwowej.

Słowa kluczowe: neuralne komórki macierzyste, płyn mózgowo-rdzeniowy, skafoldy, hodowla komórkowa, nisza neuralna

Mgr farm. Zuzanna Żelazewska

Przedkliniczna ocena hepatotoksyczności ostrej i podostrej połączenia morfiny i disulfiramu w badaniach *in vitro* i *in vivo*

Wstęp: Opioidy są najskuteczniejszymi lekami w walce z przewlekłym bólem, w tym także pochodzenia nowotworowego. Jednakże, ich długotrwałe stosowanie jest obarczone ryzykiem wielu działań niepożądanych, takich jak tolerancja czy hiperalgezia. Ostatnie badania donoszą, że disulfiram - lek stosowany w chorobie alkoholowej, zapobiega rozwojowi tolerancji na analgetyczne działanie morfiny. Niestety badania wskazują, że terapia disulfiramiem zwiększa ryzyko wystąpienia ostrej niewydolności wątroby. Obserwacje przedkliniczne dotyczą jednak wysokich dawek disulfiramu znacznie przekraczających dawkę efektywną w hamowaniu tolerancji i hiperalgezji. Brakuje więc danych na temat pełnego profilu toksyczności połączenia disulfiramu z morfiną przy szerokim zakresie stężeń.

Cel badań: Celem niniejszej pracy była ocena toksyczności rozwojowej połączenia disulfiramu z morfiną poprzez: i) ocenę żywotności linii komórkowej HepG2 ii) wylęg, morfologię i behavior larw *Danio rerio*; iii) pomiar poziomu markerów wątrobowych w osoczu szczurów.

Materiały i metody: Żywotność komórek HepG2 traktowanych disulfiramiem, morfiną i ich połączeniem była badana za pomocą testu MTS po 24h i 7 dniach. Współczynnik wylęgu i aktywność lokomotoryczna larw *Danio rerio* oceniane były po 24h i 5 dniach ekspozycji. Poziom osoczowych markerów wątrobowych u szczurów był mierzony za pomocą testu ELISA po 21 dniach terapii disulfiramiem z morfiną.

Wyniki: Połączenie disulfiramu z morfiną w modelu toksyczności ostrej nie obniżyło żywotności komórek HepG2. Natomiast subchroniczna inkubacja komórek HepG2 spowodowała synergistyczne obniżenie żywotności komórek. Poziomy markerów wątrobowych w osoczu szczurów otrzymujących połączenie disulfiramu z morfiną nie uległy jednak zmianie. Disulfiram dawkozależnie hamował wylęg larw *Danio rerio*, a morfina nie wykazywała wpływu. Żadna z ww. substancji nie zaburzyła również aktywności lokomotorycznej larw. Jednakże, 5-dniowa ekspozycja larw na połączenie disulfiramu z morfiną istotnie zaburzyła prawidłowy rozwój pęcherza pławnego.

Wnioski: Przydatność disulfiramu jako koanalgetyku w przeciwbólowej terapii morfiną jest ograniczona jedynie u pacjentów z zaburzeniami funkcji wątroby. Połączenie morfiny i disulfiramu może mieć potencjalnie negatywny wpływ na procesy organogenezy.

Słowa kluczowe: disulfiram, morfina, toksyczność, tolerancja, hiperalgezia

Mgr Karolina Nowak

Ocena poziomu przeciwciał przeciwko wirusowi odry w surowicy krwi krwiodawców

Wstęp: Odra jest chorobą wywoływaną przez wirus odry (MeV). Zarówno przebycie choroby jak i szczepionka zapewniają dożywotnią odporność, nie chronią jednak przed możliwym ponownym zachorowaniem. Odpowiedź humoralna organizmu zależy od wielu czynników. Lepsze ich poznanie może okazać się kluczem do skutecznej walki z drobnoustrojami chorobotwórczymi.

Cel pracy: Praca ma na celu porównanie poziomu przeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko wirusowi odry między dawcami krwi oraz zdrowymi osobami nie będącymi dawcami krwi.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono metodą immunoenzymatyczną (ELISA) jakościową. Materiałem badanym były mrożone surowice ludzkie pochodzące z kolekcji próbek Zakładu Immunopatologii Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych WUM. Grupa badana składała się z 47 osób w wieku 30 ± 7 lat. Wszyscy oni byli dawcami krwi. Grupę kontrolną stanowiły 23 osoby w wieku 35 ± 4 lata nieoddające krwi.

Wyniki: Swoiste przeciwciała przeciwko MeV wykryto u 100% (23/23) osób nieoddających krwi i 89,4% (42/47) osób oddających krew. Mediana poziomu przeciwciał w grupie dawców wyniosła 21,85 NTU podczas gdy w grupie nie-dawców wyniosła 33,52 NTU. Różnice między tymi grupami były statystycznie istotne ($p=0,000384$). Różnice między płciami w odniesieniu do wszystkich badanych osób były nieistotne statystycznie ($p=0,610$).

Wnioski: Wyniki badania wskazują na możliwy negatywny wpływ oddawania krwi na poziom przeciwciał zarówno u kobiet jak i mężczyzn. Sama płeć natomiast zdaje się nie mieć wpływu na poziom przeciwciał klasy IgG przeciwko MeV w surowicy.

Słowa kluczowe: wirus odry, wtórny niedobór odporności, krwiodawstwo, odporność poszczepienna, przeciwciała

Mgr farm. Weronika Włodomska

Wpływ antyseptyków na wybrane grzyby z rodzaju *Candida*

W pracy badano adaptację siedmiu szczepów z rodzaju *Candida* oraz szczepu *Saccharomyces cerevisiae* do wzrastających stężeń antyseptyków: diglukonianu chlorheksydy (CXG) i dichlorowodoru oktenidyny (OCT) na drodze hodowli ciągłej w podłożu Sabourauda Dextrose (SAB). Oznaczono wrażliwość uzyskanych mutantów i ich szczepów rodzicielskich na wybrane związki przeciwgrzybicze: amfoterycynę B, nystatynę, kaspofunginę, itrakonazol, flukonazol oraz 5-fluorocytozynę w podłożu RPMI 1640 z 2 % glukozą i buforem MOPS metodą mikrorozcieńczeń w bulionie według zaleceń EUCAST. Sprawdzono zmiany we wrażliwości na antyseptyki wyhodowanych mutantów. Zaobserwowano większą zdolność adaptacji szczepów badanych do OCT w porównaniu z hodowlami w obecności CXG. Największą zdolnością adaptacji do środowiska OCT wyróżnił się szczep *C. auris*, tj. 96-krotną. Również dla *C. krusei* zaobserwowano wysoką (48-krotną) zdolność adaptacji do wzrastających stężeń OCT. U jednego z badanych szczepów *C. tropicalis* nie uzyskano adaptacji do bytowania w środowisku CXG. Z pośród otrzymanych mutantów jedynie dla mutantów *C. albicans* uzyskanych na CXG oraz mutantów *C. krusei* i *C. auris* uzyskanych na OCT stwierdzono około czterokrotne spadki wrażliwości na te antyseptyki. Wykazano, że hodowla ciągła w obecności CXG powoduje więcej zmian w profilu wrażliwości mutantów na związki przeciwgrzybicze. Stwierdzono wzrost wrażliwości na kaspofunginę i pojawienie się oporności na 5 - fluorocytozynę u mutantów *C. albicans*, oraz oporność na kaspofunginę u mutantów *C. guilliermondii* hodowanych na CXG. Zauważono także wzrost wrażliwości na flukonazol u mutantów *C. auris* uzyskanych podczas hodowli ciągłej w OCT. Dlatego aby nie sprzyjać selekcji mutantów, która może skutkować utrudnioną eradykacją szczepów oraz niepowodzeniami terapeutycznymi, istotne jest stosowanie środków antyseptycznych w wysokich stężeniach rekomendowanych przez producenta.

Słowa kluczowe: antyseptyki, *Candida*, chlorheksydyna, lekowrażliwość, oktenidyna, środki dezynfekcyjne

Mgr Julia Kusak

Ocena lekowrażliwości oraz poszukiwanie mechanizmów oporności na antybiotyki wśród szczepów *Staphylococcus aureus* wyizolowanych od pacjentów po laryngektomii

Bakterie z rodzaju *Staphylococcus*, gronkowce, to grupa patogenów oportunistycznych, kolonizujących m.in. skórę oraz górne drogi oddechowe. Drobnoustroje te są częstą przyczyną zakażeń po zabiegach chirurgicznych, w tym po zabiegach laryngologicznych. Jedną z metod leczenia nowotworu krtani jest laryngektomia, czyli zabieg polegającym na wycięciu fragmentu lub całości zajętej krtani. Zabieg laryngektomii niesie za sobą możliwe powikłania. Jednym z nich jest przetoka gardłowo-skórna, której obecność może być przyczyną zakażeń. Etiopatogeneza zakażeń laryngologicznych obejmuje m.in. gronkowca złocistego oraz szczepy gronkowców koagulazo-ujemnych. Gronkowce są drobnoustrojami, które mogą posiadać różne mechanizmy oporności na leki. Najczęściej występującym typem oporności jest oporność na antybiotyki beta-laktamowe. Kolejny problem stanowią szczepy niewrażliwe na leki z grupy makrolidów, linkozamidów i streptogramin B (MLSB). Problemem dzisiejszej medycyny są również szczepy gronkowca złocistego o obniżonej wrażliwości oraz odporne na antybiotyki glikopeptydowe.

Celem pracy było zbadanie lekowrażliwości oraz mechanizmów oporności szczepów *S. aureus* wyizolowanych od pacjentów po zabiegu laryngektomii. Sprawdzone również zdolność do tworzenia śluzu pozakomórkowego, jednego ze składników biofilmu.

Przeprowadzono badania metodą krążkowo-dyfuzyjną, spośród 26 szczepów, u dwóch wykryto metycyliooporność, natomiast 9 szczepów było opornych na antybiotyki z grupy MLSB. Wszystkie szczepy były wrażliwe na trimetoprim z sulfametaksazolem, gentamycynę, amikacynę oraz rifampicynę. Wykonano również określenie wartości MIC dla glikopeptydów przy pomocy E-testów. Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na glikopeptydy.

Złotym standardem diagnostyki szczepów MRSA jest badanie PCR. Potwierdzono przynależność do rodzaju *S. aureus* oraz wykryto poszukiwany gen *mecA* u dwóch badanych szczepów. Badanie Multiplex PCR wykonano również dla genów *erm* oraz *mef*, odpowiedzialnych za oporność na antybiotyki z grupy MLS. U dwóch z dziewięciu badanych szczepów wykryto obecność genu *ermA*, u jednego *ermC*. Żaden ze szczepów nie wykazywał obecności genów *ermB* oraz *mef*.

Oznaczenia na podłożu agar Congo Red ujawniło, iż wszystkie 26 badanych szczepów było zdolnych do produkcji śluz zewnątrzkomórkowego.

Słowa kluczowe: *Staphylococcus aureus*, MRSA, MLSB, laryngektomia, mechanizmy oporności

Mgr farm. Aleksandra Paduch

Ocena działania antimikrobiologicznego i antybiofilmowego ekstraktu z kłącza kuklika pospolitego wobec *Streptococcus mutans*

Celem pracy była ocena antimikrobiologicznego oraz antybiofilmowego działania ekstraktu wodnego z kłącza kuklika (*Geum urbanum*) wobec bakterii *Streptococcus mutans*. Kuklik pospolity był tradycyjnie stosowany w medycynie ludowej jako antybakteryjna płukanka w leczeniu dolegliwości jamy ustnej, co stanowiło podstawę wyboru tego surowca roślinnego w niniejszej pracy.

Streptococcus mutans jest częścią naturalnej mikrobioty jamy ustnej, lecz zaburzenie jej równowagi może prowadzić do rozwoju próchnicy lub parodontozy. Rozwój tych schorzeń może być spowodowany zwiększoną aktywnością *S. mutans*, wynikającą z warunków panujących w jamie ustnej, dominacją tego gatunku nad innymi komensalnymi bakteriami lub rozwojem innych rodzajów bakterii, które stwarzają dogodne warunki do rozwoju *S. mutans*. Główną przyczyną obserwowanego zjawiska są złe nawyki higieniczne oraz nieodpowiednia dieta.

W toku badań otrzymano wodny ekstrakt z kłącza kuklika pospolitego. Następnie przeprowadzono analizę chromatograficzną ekstraktu, identyfikując związki o potencjalnym działaniu farmakologicznym takie jak pochodne kwasów fenolowych, pochodne flawonoidowe oraz garbniki. W kolejnym kroku wyznaczono minimalne stężenie hamujące (MIC) ekstraktu dla szczepu referencyjnego i klinicznego *S. mutans*, które wynosiło 2,5 mg/ml wobec obu szczepów, a także obliczono lag time oraz doubling time. Ekstrakt z kłącza kuklika pospolitego wykazał działanie przeciwbakteryjne oraz, co warte uwagi, powodował wydłużenie fazy lag time i czasu podwojenia populacji bakteryjnej. Zbadano działanie antybiofilmowe wodnego ekstraktu z kłącza kuklika pospolitego dla obu szczepów. Niestety, przed wybarwieniem próbek, zaobserwowano opłukiwanie się biofilmu, co uniemożliwiło uzyskanie wiarygodnych wyników. W związku z tym, metoda ta wymaga przeprowadzenia dalszych modyfikacji.

Badania wykazały, że ekstrakt z *Geum urbanum* ma silne właściwości przeciwbakteryjne przeciwko *S. mutans*, co czyni go obiecującą alternatywą dla antybiotyków w leczeniu próchnicy i innych chorób jamy ustnej.

Słowa kluczowe: *Geum urbanum*, kłącze kuklika, *Streptococcus mutans*, próchnica, parodontoza, MIC, działanie przeciwbakteryjne, biofilm, lag time, doubling time

Mgr Wiktoria Przyborska

Wpływ zmiennych warunków elektrolitowych i metabolicznych na właściwości przechowywanych krwinek czerwonych

Odpowiednia jakość przechowywanych krwinek czerwonych ma kluczowe znaczenie dla zachowania bezpieczeństwa pacjenta poddanego transfuzji krwi bądź innym procedurom medycznym. Mimo ciągłego rozwoju technologii przechowywania krwi i badań nad nowymi środkami konserwującymi, wciąż pojawiają się problemy z wydłużeniem okresu przydatności przechowywanych krwinek czerwonych.

Celem niniejszego badania było określenie, czy dodatek glukozy o niskich stężeniach oraz kwasu mlekowego ma wpływ na trwałość przechowywanych krwinek czerwonych. Eryocyty pochodzące z potransfuzyjnych koncentratów krwinek czerwonych umieszczano w 24- i 48-godzinnej inkubacji z dodatkiem 500µl roztworu glukozy o różnych stężeniach, w stosunku 1:1 z badanymi krwinkami. W analogiczny sposób przeprowadzono 48-godziną hodowlę krwinek czerwonych z dodatkiem roztworów o wybranych stężeniach kwasu mlekowego. Morfologię erytrocytów po inkubacji oceniono z użyciem analizatora hematologicznego. Resztkową aktywność enzymu dehydrogenazy mleczanowej oceniono z wykorzystaniem metody fotometrycznej.

Wykazano, że dodatek glukozy o stężeniach 40 mg/dL, 80 mg/dL, 100 mg/dL, 140 mg/dL i 200 mg/dL, zarówno w próbkach inkubowanych 24 godziny, jak i 48 godzin nie spowodował rozpadu krwinek czerwonych. Różnice w parametrach morfologicznych między 24- a 48-godziną inkubacją wskazują natomiast, iż obserwowane zmiany nie są trwałe i wymagają dalszej obserwacji z wydłużonym czasem hodowli. Kwas mlekowy o stężeniu 2,2 mmol/l i 3 mmol/l indukuje hemolizę erytrocytów.

Dodatek glukozy wydaje się wydłużać okres przechowywania krwinek czerwonych z równoczesnym zachowaniem ich prawidłowej morfologii. Wysokie stężenia kwasu mlekowego indukują rozpad erytrocytów, aczkolwiek dodatek kwasu w niskich stężeniach może mieć pozytywny wpływ na trwałość przechowywanych krwinek.

Słowa klucze: przechowywanie krwinek czerwonych, storage lesion, glukoza, kwas mlekowy