

X SYMPOZJUM



WSPÓŁCZESNA MYŚL TECHNICZNA
W NAUKACH MEDYCZNYCH I BIOLOGICZNYCH

PATRONAT

HONOROWY PATRONAT PREZESA
ODDZIAŁU PAN WE WROCŁAWIU



POLSKA AKADEMIA NAUK
ODDZIAŁ WE WROCŁAWIU



PATRONAT HONOROWY
REKTORA UNIwersYTETU
WROCŁAWSKIEGO

SPONSORZY



FUNDACJA UNIwersYTETU
MEDYCZNEGO we Wrocławiu

OLYMPUS

Komisja Inżynierii Biomedycznej
Wrocławskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk



X SYMPOZJUM



WSPÓŁCZESNA MYŚL TECHNICZNA W NAUKACH MEDYCZNYCH I BIOLOGICZNYCH

Wrocław, 14–15 czerwca 2019 roku



Materiały konferencyjne

Przygotowanie materiałów do druku

Przemysław Duda
Jakub Janczara
Ewa Pielka
Olga Wójcicka

Opracowanie typograficzne i projekt okładki

Maciej Szłapka

© Copyright by Oddział Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, Wrocław 2019
All rights reserved

ISBN 978-83-942714-9-7

Wszelkie prawa zastrzeżone. Żadna część publikacji nie może być kopiowana ani odtwarzana w jakiegokolwiek formie i przy użyciu jakichkolwiek środków bez pisemnej zgody Wydawcy.

Wyłączną odpowiedzialność za treść publikacji ponosi jej autor.

Komisja Inżynierii Biomedycznej Wrocławskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk nie odpowiada za ewentualne wykorzystanie informacji zawartych w takiej publikacji.

Szanowni Państwo,

Od 2010 roku Komisja Inżynierii Biomedycznej Wrocławskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk organizuje coroczne sympozja zatytułowane „Współczesna myśl techniczna w naukach medycznych i biologicznych”.

Sympozja te są miejscem spotkań zarówno członków Komisji, jak i młodych naukowców największych wrocławskich uczelni związanych z różnymi dyscyplinami nauki, mającymi wpływ na rozwój technik, metod i procedur biomedycznych. Corocznie gościmy również przedstawicieli ośrodków akademickich z innych rejonów Polski.

W bieżącym, 2019 roku, zapraszamy Państwa do dobrze znanego wrocławianom miejsca – Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Wrocławskiego oraz do budynku Instytutu Biologii Eksperymentalnej tegoż Uniwersytetu.

Mamy nadzieję, że podobnie jak w latach ubiegłych Sympozjum stanie się płaszczyzną wymiany poglądów oraz nawiązania owocnej współpracy młodych i bardziej dojrzałych badaczy z niemal wszystkich wrocławskich uczelni, a także uczonych z całej Polski.

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego



prof. dr hab. Dariusz Rakus

ORGANIZATOR

Komisja Inżynierii Biomedycznej
Wrocławskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk

PATRONAT

prof. dr hab. Lechosław Latos-Grażyński, członek rzeczywisty PAN
Prezes Wrocławskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk

prof. dr hab. Adam Jezierski
Rektor Uniwersytetu Wrocławskiego

KOMITET ORGANIZACYJNY

Przewodniczący: prof. dr hab. Dariusz Rakus
mgr Barbara Grudzevska-Walecka, dr hab. prof. Agnieszka Gizak,
prof. dr hab. Urszula Paślawska, prof. dr hab. inż. Celina Pezowicz,
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów, prof. dr hab. Piotr Dzięgiel,
dr Dominika Drulis-Fajdasz, dr Agnieszka Gomułkiewicz, dr Paulina Wyrembek-Koczvara,
dr Janusz Wiśniewski, mgr Przemysław Duda, mgr Natalia Glatzel-Plucińska,
lek. Ewa Pielka, mgr Olga Wójcicka, mgr Jakub Janczara

WSPÓŁORGANIZATORZY

Uniwersytet Wrocławski
Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu
Politechnika Wrocławska
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

SKŁAD KOMISJI INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ WROCŁAWSKIEGO ODDZIAŁU POLSKIEJ AKADEMII NAUK

dr hab. Waldemar Andrzejewski, dr hab. Mirosław Banasik, prof. dr hab. Romuald Będziński,
dr hab. Jerzy Detyna, dr hab. Piotr Donizy, prof. dr hab. Piotr Dzięgiel,
dr hab. Agnieszka Gizak, dr Agnieszka Gomułkiewicz, dr hab. Jerzy Gubernator,
prof. dr hab. Andrzej Hendrich, dr hab. Krzysztof Kassolik, dr Marta Kicia,
dr hab. Katarzyna Kisiel-Sajewicz, dr hab. Jarosław Marusiak, dr hab. Marcin Mączyński,
prof. dr hab. Arkadiusz Miązek, Prof. dr hab. Agnieszka Noszczyk-Nowak,
dr hab. Marcin Nowak, prof. dr hab. Urszula Paślawska, prof. dr hab. Celina Pezowicz,
prof. dr hab. Marzenna Podhorska-Okołów, dr hab. Janina Pospieszna,
prof. dr hab. Norbert Pospieszny, prof. dr hab. Dariusz Rakus,
dr hab. Alicja Rutkowska-Kucharska, dr hab. Sławomir Sujecki,
dr hab. Andrzej Wojnar, prof. dr hab. Marek Woźniewski

SPIS TREŚCI

RAMOWY PROGRAM SYMPOZJUM.....	10
SZCZEGÓŁOWY PROGRAM SYMPOZJUM.....	11
SPIS PLAKATÓW.....	14
STRESZCZENIA	
F. ANDRUSZKIEWICZ, A. JĘDRZEJEWSKA, A. MACKIEWICZ / Wykorzystanie materiałów kompozytowych oraz techniki wytwarzania metodą druku 3D w opracowaniu zewnętrznej protezy kończyny przedniej dla psa po traumatologicznej resekcji	19
M. BIJATA / Współdziałanie pomiędzy sygnalizacją serotonergiczną a macierzą zewnątrzkomórkową w plastyczności synaptycznej	22
M. BŁASZCZYK, A. PALKO-ŁABUZ, E. KOSTRZEWA-SUSŁÓW, K. ŚRODA-POMIANEK, A. URYGA, D. MOSIĄDZ, K. MICHALAK, O. WESOŁOWSKA / Metoksylované pochodne chalkonu – wpływ na transportery ABC i modelowe błony fosfolipidowe ..	24
P. DĄBROWSKI, M. KULUS, J. GRZELAK, M. KRAJCARZ / Ocena wieku odstawienia od piersi – powiązania hipoplazji szkliwa i zawartości stabilnych izotopów ¹⁸ O i ¹³ C w zębach z wczesnonowożytnych cmentarzy Wrocławskich	26
W. DERKOWSKI, A. KĘDZIA / Poznawcze potencjały wywołane w różnicowaniu choroby Alzheimera i Parkinsona	29
Z. DRULIS-KAWA / Czy preparaty fagowe to dobry pomysł na zwalczanie wieloopornych bakterii?	32
P. DUDA, T. WÓJTOWICZ, J. WIŚNIEWSKI, J. JANCZARA, D. RAKUS / Fruktozo-1,6-bisfosfataza 2 jako kluczowe białko dla indukcji długotrwałego wzmocnienia synaptycznego	33
K. DUDEK, A. KĘDZIA, W. KĘDZIA Model matematyczny wzrostu mięśnia dwugłowego uda w okresie prenatalnym	36
K. DZIERGOWSKA, M. GAŚSIOR-GŁOGOWSKA, J. DETYNA, M. KOMOROWSKA / Nieinwazyjne metody pomiaru glukozy u pacjentów – ocena możliwości wykorzystania filmu łzowego	39
J. FILIPIAK, J. BIEŻYŃSKI, P. KUROPKA / Przemieszczenia odłamów kostnych jako czynnik kształtujący właściwości mechaniczne regeneratu	42
K. FRAK, M. ŻAK / Wpływ zastosowania różnych materiałów przekładkowych na parametry mechaniczne wybranej konstrukcji stopy protezowej	45
N. GLATZEL-PLUCIŃSKA, A. PIOTROWSKA, M. PODHORSKA-OKOŁÓW, P. DZIĘGIEL / Udział białka SATB1 w procesie przejścia epitelialno-mezenchymalnego w niedrobnokomórkowych rakach płuc	48

B. HANUS-LORENZ, D. DRABIK, M. RZYCKI, S. KRASZEWSKI / Narzędzia numeryczne w projektowaniu nowoczesnych antyseptyków	50
M. JATCZAK-ŚLIWA, M. KISIEL, M.M. CZYŻEWSKA, M. BRODZKI, J.W. MOZRZYMAS / Rola reszty glutaminianu (β 2E155) znajdującej się w miejscu wiązania agonisty receptora GABAA w mechanizmie aktywacji tego receptora	53
K. KAPTURSKA, A. NOSZCZYK-NOWAK / Analiza efektów ubocznych terapii przeciwnowotworowej u psów i kotów ze szczególnym uwzględnieniem kardiotoksyczności doksorubicyny.	56
A. KĘDZIA, E. KĘDZIA, W. KĘDZIA, W. DERKOWSKI / Ocena recyprokalności płodowych zatok opony twardej.	59
M. KOBIELARZ, A. CHWIŁKOWSKA / Mechaniczne uwarunkowania procesu przenoszenia obciążeń przez ściany naczyń krwionośnych	62
P. KOWALCZYK, K. FERENC, R. ZABIELSKI, B. CIEŚLAK / Wpływ składników diety na procesy tlenowe zachodzące w mitochondriach płytek krwi u młodych prosiąt . . .	64
A. KRZESIŃSKA-NOWACKA, A. KĘDZIA, K. DUDEK, A. TRAFALSKA / Analiza statystyczna zaburzeń funkcji prymarnych i artykulacyjnych w wyniku udaru mózgu. .	66
J. KUROWIAK, A. KACZMAREK-PAWELSKA, A. MACKIEWICZ, R. BĘDZIŃSKI / Resorpcja hydrożeli na bazie alginianu sodu w sztucznym moczu.	69
A. LECH, P. BRZDĄK, A. BUSZKA, K. LEBIDA, G. WIERA, J.W. MOZRZYMAS / Rola proteazy MMP-3 w plastyczności transmisji hamującej w hipokampie.	72
M. MICHAŁOWSKI, M. M. CZYŻEWSKA, J. W. MOZRZYMAS / Molekularne mechanizmy modulacji receptora GABAA przez protony	75
N. NAPIERAJ, A. WADOWIKOWSKA, G. KŁOBUS / Regulacja ekspresji genów CsNRT2 w różnych warunkach odżywiania azotowego.	77
E. OBŁĄK, A. DUDAŁA, W. SZLAUER, W. SALWIŃSKA / Biologiczna aktywność kationowych surfaktantów wobec wybranych patogenów oportunistycznych	80
S. OLSZTYŃSKA-JANUS, Z. KIEŁBOWICZ, M.A. CZARNECKI / Potential of ATR-IR spectroscopy for monitoring of effect of NIR radiation on skin components.	83
M. ORNAT, A. RZECHONEK, A. PIOTROWSKA, N. GLATZEL-PLUCIŃSKA, P. DZIĘGIEL / Ekspresja testyny w niedrobnokomórkowych rakach płuc	86
A. OSTRÓŻKA-CIEŚLIK, B. DOLIŃSKA, K. SOKOŁOWSKI, F. RYSZKA / Przeszkorna aplikacja wybranych hormonów jako alternatywna droga ich podania. Badania wstępne	88
A. PARTYŃSKA, A. GOMUŁKIEWICZ, A. PIOTROWSKA, P. DZIĘGIEL / Ekspresja zyksyny w niedrobnokomórkowych rakach płuc – badania pilotażowe	90
R. PASŁAWSKI, U. PASŁAWSKA, A. JANISZEWSKI, A. SZUBA / Zmiany elastyczności i sztywności tętnic udowych świni domowej w okresie wzrostu w pomiarach eTracking	92
R. PASŁAWSKI, J. SKONIECZNA, A. KUROSAD, M. PŁÓCIENNIK, K. NOWAK, U. PASŁAWSKA / Badania morfologiczne krwi whippetów w Polsce	94

P. PROSKURA, M. SOBERA / Ruchomość odcinka lędźwiowego kręgosłupa a kąt przodopochylenia miednicy u młodych dorosłych kobiet	97
J. PUSTELNIK, S. SZOTEK / Wpływ regularnych treningów piłki nożnej na postawę ciała chłopców w wieku 12–13 lat	100
K. RATAJCZAK, M. DRĄG-ZALESIŃSKA, N. GLATZEL-PLUCIŃSKA, A. PIOTROWSKA, A. GOMUŁKIEWICZ, K. NOWIŃSKA, P. DZIĘGIEL, S. BORSKA / Proapoptotyczne działanie resweratrolu w raku trzustki	103
M. RATAJCZAK, M. PTAK, R. BĘDZIŃSKI / Badania biomechaniczne struktur czaszkowo-mózgowych	105
R. RUDYK, A. MACKIEWICZ, J. KUROWIAK, A. KACZMAREK-PAWELSKA, R. BĘDZIŃSKI / Wykorzystanie metody cyfrowej korelacji obrazu w badaniach polimerów pochodzenia naturalnego	108
M. RZYCKI, B. HANUS-LORENZ, M. GŁADYSIEWICZ-KUDRAWIEC, S. KRASZEWSKI / Powinowactwo i selektywność związków powierzchniowo czynnych z rodziny surfaktantów gemini	111
M. SIEMIATYCKA, A. JASKÓLSKA, Ł. KAMIŃSKI, J. MENCEL, J. MARUSIAK, A. JASKÓLSKI, K. KISIEL-SAJEWICZ / Aktywność bioelektryczna kory mózgu w przebiegu narastania i spadku siły chwytu u młodych osób	114
A. SIKORA, A. KĘDZIA, M. KARPIŃSKA / Mikroskopia sił atomowych w badaniach układów włókien opony twardej u człowieka w okresie prenatalnym	117
S. SUJECKI, L. SÓJKA, Z. TANG, D. FURNISS, T.M. BENSON, A.B. SEDDON / Źródła światła na zakres średniej podczerwieni do zastosowań medycznych	120
A. TEISSEYRE, A. PALKO-LABUZ, A. URYGA, K. MICHALAK / Wpływ wybranych związków wielopierścieniowych pochodzenia roślinnego na aktywność kanałów Kv1.3 w komórkach normalnych i nowotworowych – badania techniką „patch-clamp”.	122
A. TRAFALSKA, A. KRZESIŃSKA-NOWACKA, M. TRAFALSKI, M. KAZIMIERSKA-ZAJĄC / Korelacje między występowaniem dolegliwości bólowych kręgosłupa a stylem życia współczesnych nastolatków.	125
J. WŁODARCZYK / Obrazowanie aktywności proteolitycznej Metaloproteiny Macierzy Zewnątrzkomórkowej-9.	128
O. WÓJCICKA, D. RAKUS / Regulacja metabolizmu mózgu poprzez komunikację pomiędzy astrocytami a neuronami	130
A. ŻAK / Perspektywy rozwoju metod transmisyjnej mikroskopii elektronowej we Wrocławiu – cryoTEM, tomografia elektronowa, SPA.	132
Ł. ZARĘBA, A. KACZMAREK-PAWELSKA, J. KUROWIAK, A. MACKIEWICZ, R. BĘDZIŃSKI / Resorpcja hydrożeli podczas swobodnego przepływu w warunkach <i>in vitro</i>	134
A. ZIĘTY, B. BORAK, N. SZCZERBAKOWICZ, J. DETYNA, J. BĄCELA, M. GAWLIK, Z. KIELAN, M. SARUL / Potencjalne możliwości zastosowania powłok funkcjonalnych do ochrony antybakteryjnej elementów aparatów ortodontycznych	137

RAMOWY PROGRAM SYMPOZJUM

Dzień 1: piątek, 14.06.2019	
12.00–13.00	Rejestracja Uczestników
13.00–13.30	Uroczyste otwarcie Sympozjum
13.30–14.00	Wykład I prof. dr hab. Zygmunt Kącki „Flora – piękno i utracony posąg”
14.00–14.30	Wykład II prof. dr hab. Jakub Włodarczyk „Obrazowanie aktywności proteolitycznej Metaloproteiny Macierzy Zewnątrzkomórkowej-9”
14.30–15.00	Przerwa kawowa
15.00–16.30	Sesja I
16.30–17.00	Przerwa kawowa
17.00–18.25	Sesja II
18.25–18.45	„Mikroskopia od makro do nano” – Olympus
18.45	Spotkanie integracyjne i kolacja – Ogród Botaniczny UWr

Dzień 2: sobota, 15.06.2019	
9.00–9.30	Wykład III prof. dr hab. Zuzanna Drulis-Kawa „Czy preparaty fagowe to dobry pomysł na zwalczanie wieloopornych bakterii?”
9.30–11.00	Sesja III
11:00–11.45	Sesja posterowa / Przerwa kawowa
11.45–13.15	Sesja IV
13.30	Zamknięcie Sympozjum

SZCZEGÓŁOWY PROGRAM SYMPOZJUM

Dzień 1: piątek, 14.06.2019	
12.00–13.00	Rejestracja Uczestników
13.00–13.30	Uroczyste otwarcie Sympozjum
13.30–14.00	Wykład I prof. dr hab. Zygmunt Kącki „Flora – piękno i utracony posag”
14.00–14.30	Wykład II prof. dr hab. Jakub Włodarczyk „Obrazowanie aktywności proteolitycznej Metaloproteiny Macierzy Zewnątrzkomórkowej-9”
14.30–15.00	Przerwa kawowa
15.00–16.30	Sesja I
15.00–15.18	Monika Bijata „Współdziałanie pomiędzy sygnalizacją serotonergiczną a macierzą zewnątrzkomórkową w plastyczności synaptycznej”
15.18–15.28	Jarosław Filipiak „Przemieszczenia odłamów kostnych jako czynnik kształtujący właściwości mechaniczne regeneratu”
15.36–15.46	Natalia Glatzel-Plucińska „Udział białka SATB1 w procesie przejścia epitelialno-mezenchymalnego w niedrobnokomórkowych rakach płuc”
15.54–16.04	Beata Hanus-Lorenz „Narzędzia numeryczne w projektowaniu nowoczesnych antyseptyków”
16.12–16.22	Jagoda Kurowiak „Resorpcja hydrożeli na bazie alginianu sodu w sztucznym moczu”
16.30–17.00	Przerwa kawowa
17.00–18.30	Sesja II
17.00–17.10	Anna Lech „Rola proteazy MMP-3 w plastyczności transmisji hamującej w hipokampie”

17.18–17.28	Michał Michałowski „Molekularne mechanizmy modulacji receptora GABA _A przez protony”
17.36–17.46	Olga Wójcicka „Regulacja metabolizmu mózgu poprzez komunikację pomiędzy astrocytami a neuronami”
17.54–18.04	Aleksandra Partyńska „Ekspresja zykliny w niedrobnokomórkowych rakach płuc – badania pilotażowe”
18.12–18.22	Katarzyna Ratajczak „Proapoptotyczne działanie resweratrolu w raku trzustki”
18.25–18.45	„Mikroskopia od makro do nano” – Olympus
18.45	Spotkanie integracyjne i kolacja – Ogród Botaniczny UW
19.30	Spacer po Ogrodzie Botanicznym

Dzień 2: sobota, 15.06.2019

9.00–9.30	Wykład III prof. dr hab. Zuzanna Drulis-Kawa „Czy preparaty fagowe to dobry pomysł na zwalczanie wieloopornych bakterii?”
9.30–11.00	Sesja III
9.30–9.40	Monika Ratajczak „Badania biomechaniczne struktur czaszkowo-mózgowych”
9.48–9.58	Rafał Rudyk „Wykorzystanie metody cyfrowej korelacji obrazu w badaniach polimerów pochodzenia naturalnego”
10.6 – 10.16	Mateusz Rzycki „Powinowactwo i selektywność związków powierzchniowo czynnych z rodziny surfaktantów gemini”
10.24–10.34	Magdalena Siemiatycka „Aktywność bioelektryczna kory mózgu w przebiegu narastania i spadku siły chwytu u młodych osób”
10.42–10.52	S. Sujecki „Źródła światła na zakres średniej podczerwieni do zastosowań medycznych”
11.00–11.45	Sesja posterowa/Przerwa kawowa

11.45–13.15	Sesja IV
11.45–11.55	Maciej Ornat „Ekspresja testyny w niedrobnokomórkowych rakach płuc”
12.03–12.13	Andrzej Źak „Perspektywy rozwoju metod transmisyjnej mikroskopii elektro- nowej we Wrocławiu – cryoTEM, tomografia elektronowa, SPA”
12.21–12.31	Łukasz Zaręba „Resorpcja hydrożeli podczas swobodnego przepływu w warunkach <i>in vitro</i> ”
12.39–12.49	Wojciech Derkowski „Poznawcze potencjały wywołane w różnicowaniu choroby Alzheimera i Parkinsona”
12.57–13.07	Paweł Dąbrowski „Ocena wieku odstawienia od piersi – powiązania hipoplazji szkliwa i zawartości stabilnych izotopów ^{18}O i ^{13}C w zębach z wczesnonowożytnych cmentarzy Wrocławskich”
13.30	Zamknięcie Sympozjum

SPIS PLAKATÓW

Nr	Autorzy	Tytuł
1	F. Andruszkiewicz, A. Jędrzejewska, A. Mackiewicz	<i>Wykorzystanie materiałów kompozytowych oraz techniki wytwarzania metodą druku 3D w opracowaniu zewnętrznej protezy kończyny przedniej dla psa po traumatologicznej resekcji</i>
2	M. Błaszczyk, A. Palko-Łabuz, E. Kostrzewa-Susłow et al.	<i>Metoksylowane pochodne chalkonu – wpływ na transportery ABC i modelowe błony fosfolipidowe</i>
3	P. Duda, T. Wójtowicz, J. Wiśniewski et al.	<i>Fruktozo-1,6-bisfosfataza 2 jako kluczowe białko dla indukcji długotrwałego wzmocnienia synaptycznego</i>
4	K. Dudek, A. Kędzia, W. Kędzia	<i>Model matematyczny wzrostu mięśnia dwugłowego uda w okresie prenatalnym</i>
5	K. Dziergowska, M. Gąsior- -Głogowska, J. Detyna et al.	<i>Nieinwazyjne metody pomiaru glukozy u pacjentów – ocena możliwości wykorzystania filmu łzowego</i>
6	K. Frąk, M. Żak	<i>Wpływ zastosowania różnych materiałów przekładkowych na parametry mechaniczne wybranej konstrukcji stopy protezowej</i>
7	M. Jatczak-Śliwa, M. Kisiel, M. M. Czyżewska et al.	<i>Rola reszty glutaminianu (β2E155) znajdującej się w miejscu wiązania agonisty receptora GABAA w mechanizmie aktywacji tego receptora</i>
8	K. Kapturska, A. Noszczyk-Nowak	<i>Analiza efektów ubocznych terapii przeciwnowotworowej u psów i kotów ze szczególnym uwzględnieniem kardi toksyczności doksorubicyny</i>
9	A. Kędzia, E. Kędzia, W. Kędzia et al.	<i>Ocena recyprokalności płodowych zatok opony twardej</i>
10	M. Kobielarz, A. Chwiłkowska	<i>Mechaniczne uwarunkowania procesu przenoszenia obciążeń przez ściany naczyń krwionośnych</i>
11	P. Kowalczyk, K. Ferenc, R. Zabielski et al.	<i>Wpływ składników diety na procesy tlenowe zachodzące w mitochondriach płytek krwi u młodych prosiąt</i>

12	A. Krzezińska-Nowacka, A. Kędzia, K. Dudek et al.	<i>Analiza statystyczna zaburzeń funkcji prymarnych i artykulacyjnych w wyniku udaru mózgu</i>
13	N. Napieraj, A. Wdowikowska, G. Kłobus	<i>Regulacja ekspresji genów CsNRT2 w różnych warunkach odżywiania azotowego</i>
14	E. Obłąk, A. Dudała, W. Szlauer et al.	<i>Biologiczna aktywność kationowych surfaktantów wobec wybranych patogenów oportunistycznych</i>
15	S. Olsztyńska-Janus, Z. Kielbowicz, M. A. Czarnecki	<i>Potential of ATR-IR spectroscopy for monitoring of effect of NIR radiation on skin components</i>
16	A. Ostróżka-Cieślak, B. Dolińska, K. Sokołowski, et al.	<i>Prze skórna aplikacja wybranych hormonów jako alternatywna droga ich podania. Badania wstępne</i>
17	R. Paślawski, U. Paślawska, A. Janiszewski et al.	<i>Zmiany elastyczności i sztywności tętnic udowych świni domowej w okresie wzrostu w pomiarach eTracking</i>
18	R. Paślawski, J. Skonieczna, A. Kurosad et al.	<i>Badania morfologiczne krwi whippetów w Polsce</i>
19	P. Proskura, M. Sober	<i>Ruchomość odcinka lędźwiowego kręgosłupa a kąt przodopochylenia miednicy u młodych dorosłych kobiet</i>
20	J. Pustelnik, S. Szotek	<i>Wpływ regularnych treningów piłki nożnej na postawę ciała chłopców w wieku 12–13 lat</i>
21	A. Sikora, A. Kędzia, M. Karpińska	<i>Mikroskopia sił atomowych w badaniach układów włókien opony twardej u człowieka w okresie prenatalnym</i>
22	A. Teisseyre, A. Palko-Łabuz, A. Uryga et al.	<i>Wpływ wybranych związków wielopierścieniowych pochodzenia roślinnego na aktywność kanałów Kv1.3 w komórkach normalnych i nowotworowych – badania techniką „patch-clamp”</i>
23	A. Trafalska, A. Krzezińska-Nowacka, M. Trafalski et al.	<i>Korelacje między występowaniem dolegliwości bólowych kręgosłupa a stylem życia współczesnych nastolatków</i>
24	A. Zięty, B. Borak, N. Szczerbakowicz et al.	<i>Potencjalne możliwości zastosowania powłok funkcjonalnych do ochrony antybakteryjnej elementów aparatów ortodontycznych</i>



STRESZCZENIA



Wykorzystanie materiałów kompozytowych oraz techniki wytwarzania metodą druku 3D w opracowaniu zewnętrznej protezy kończyny przedniej dla psa po traumatologicznej resekcji

Filip Andruszkiewicz¹, Aleksandra Jędrzejewska¹, Agnieszka Mackiewicz²

¹ Koło Naukowe BIOMEDUZ, Wydział Mechaniczny, Uniwersytet Zielonogórski

² Zakład Inżynierii Biomedycznej, Wydział Mechaniczny, Uniwersytet Zielonogórski

Słowa kluczowe: proteza, druk 3D, materiał kompozytowy

1. Wstęp

Niezależnie od rasy i wieku u psów mogą wystąpić zaburzenia w poruszaniu się. Niejednokrotnie w wyniku zmian chorobowych lub urazów konieczna jest resekcja całej lub fragmentu kończyny. Ograniczenia możliwości ruchowych psa po utracie kończyny skutkują zmianami w funkcjonowaniu układów takich jak szkieletowy, krążenia, hormonalny i innych. W celu odtworzenia czterokończynowego chodu należy zastosować protezę, która przejmie funkcje resekowanej części ciała i zapobiegnie dalszym konsekwencjom. Przegląd literatury wykazał, że można znaleźć wiele innowacyjnych rozwiązań ortez i protez dla psów. Różnią się one między sobą konstrukcją, zastosowanym materiałem, mechanizmem oraz różnorodnymi mocowaniami [1, 2, 3]. Do tej pory nie opracowano jednak ogólnej konstrukcji, która poprzez zmianę wymiarów głównych elementów wykazywałaby możliwość personalizacji dla poszczególnego przypadku psa. Celem badań stało się opracowanie koncepcji zewnętrznej protezy dla psa po traumatologicznej resekcji fragmentu kończyny przedniej. Projekt zoptymalizowano z wykorzystaniem metod eksperymentalnych i numerycznych.

2. Materiał i metody

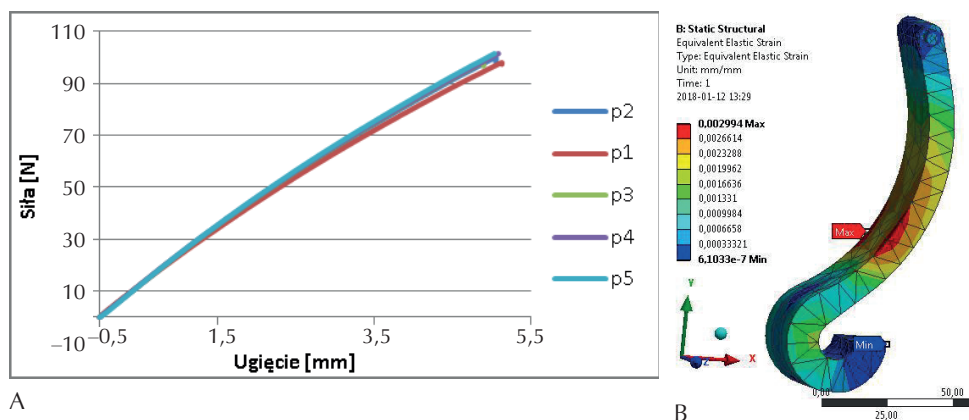
Protezę zaprojektowano dla 12-letniego nierasowego psa o masie 17 kg, u którego wykonano resekcję traumatologiczną kończyny po potrąceniu przez pociąg. Amputacji dokonano powyżej stawu nadgarstkowego przedniej, lewej łapy. Zaprojektowana proteza składała się z dwóch części: sztywnej mocowanej do kikuta, wykonanej metodą druku 3D z polilaktydu oraz sprężystej mającej kontakt z podłożem, której ugięcie zapewnia amortyzację poprawiającą komfort chodu oraz zapobiegającą przeciążaniu stawów w kończynie. Część sprężysta wykonana została z żywicy epoksydowej i włókna szklanego. Podstawą do stworzenia geometrii były obrazy RTG oraz pomiary fizyczne (rys. 1a). Model protezy poddano analizie w warunkach statycznego i dynamicznego obciążenia korzystając z oprogramowania Ansys 16.2.



Rys. 1. Zewnętrzna proteza kończyny: A – obraz RTG kończyny, B – wytworzona konstrukcja

3. Wyniki

Skład kompozytu oraz geometrię protezy określono i zoptymalizowano w oparciu o metody eksperymentalne oraz numeryczne w celu uzyskania optymalnego ugięcia części podatnej oraz wyznaczenia wytrzymałości części sztywnej. Wyniki dla statycznej próby jednoosiowego ściskania (rys. 2A) w postaci wykresu siła–ugięcie dla elementu sprężystego kontaktującego się z podłożem został przedstawiony na rys. 2A. Na rys. 2B przedstawiono wartości i rozkład odkształcenia w zoptymalizowanej konstrukcji protezy.



Rys. 2. Analiza eksperymentalna i numeryczna: A – wykres siła–ugięcie dla próbek w zoptymalizowanym kształcie wykonanych z kompozytu, B – wartości i rozkład odkształcenia w konstrukcji protezy

4. Dyskusja

Wykonanie zaproponowanej protezy było możliwe dzięki wykorzystaniu interdyscyplinarnej wiedzy z zakresu konstrukcji inżynierskich, materiałoznawstwa, anatomii i biomechaniki układów tkankowych oraz analizy ruchu w celu polepszenia warunków egzystencji konkretnego psa. Mechaniczny cel opracowanej konstrukcji został osiągnięty.

ty co potwierdziły obliczenia, wykonane metodą elementów skończonych w programie Ansys 16.2 oraz badania eksperymentalne. Opracowana konstrukcja została przekazana do użytku psa dla którego ją zaprojektowano. Obecnie funkcjonuje w sposób prawidłowy, jednak autorzy zakładają możliwość kolejnych modyfikacji wynikających z warunków zużycia. Postępowania wykonane podczas opracowania i testowania wytworzonej protezy są zgodne z „Kodeksem etyki lekarza weterynarii” art. 22 pkt 4, który stanowi, że: W razie zamiaru zastosowania nowych, niesprawdzonych metod postępowania, lekarz weterynarii powinien poinformować o tym właściciela lub opiekuna zwierzęcia i uzyskać jego zgodę. Opiekunowie wyrazili zgodę na eksploatację przez psa przekazanej konstrukcji.

Współdziałanie pomiędzy sygnalizacją serotonergiczną a macierzą zewnątrzkomórkową w plastyczności synaptycznej

Monika Bijata

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN; ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

Słowa kluczowe: *metaloproteaza, receptor serotoninowy, plastyczność synaptyczna*

1. Wstęp

Jedną z najważniejszych a jednocześnie najbardziej zagadkowych cech ośrodkowego układu nerwowego jest plastyczność synaptyczna. U jej podstaw leżą zmiany morfologii kolców dendrytycznych, małych wypustek dendrytów, na których zlokalizowana jest większość synaps pobudzających. Plastyczność synaptyczna jest podstawową cechą mózgu, pozwalającą mu na uczenie się i przechowywanie nowych informacji. Precyzyjny mechanizm regulujący powstawanie, zanikanie, plastyczność oraz stabilność kolców dendrytycznych jest niezwykle istotny. W stanach patologicznych (takich jak np. depresja) często dochodzi do zaburzeń przemiany niedojrzałych kolców w dojrzałe, zaniku kolców lub zmiany ich kształtu. Pośród wielu czynników wpływających na kształt kolców dendrytycznych szczególnie istotną rolę w tym procesie odgrywają receptor serotoninowy 5-HT₇ (5-HT₇R) oraz aktywność proteolityczna białek modyfikujących macierz zewnątrzkomórkową.

2. Materiał i metody

Mikroskopia fluorescencyjna, hodowle pierwotne neuronów

3. Wyniki

Wykazaliśmy, że receptor 5-HT₇, MMP-9 oraz Rho GTPaza Cdc42 należą do tej samej ścieżki sygnałowej, a ich współdziałanie jest ważne w modulacji kształtu kolców dendrytycznych.

4. Dyskusja

Otrzymane wyniki ujawniają nieznanne dotychczas współdziałanie pomiędzy przekaznictwem serotonergicznym zależnym od receptora 5-HT₇ a proteolizą zależną od MMP-9 w regulacji plastyczności neuronów. Wykazanie specyficznej aktywacji MMP-9 w odpowiedzi na stymulację receptorów 5-HT₇ może pomóc w wyjaśnieniu roli obu białek – MMP-9 i 5-HT₇R w funkcjonowaniu neuronów, a dalsze badania opisanej ścieżki sygnałowej mogą w przyszłości zaowocować opracowaniem nowych leków stosowanych w terapii depresji i zaburzeń lękowych.

Piśmiennictwo

- [1] Bijata M. *et al.* Synaptic remodeling depends on signaling between serotonin receptors and the extracellular matrix, *Cell Reports*, 2017, 19:1767–1782.

Metoksylowane pochodne chalkonu – wpływ na transportery ABC i modelowe błony fosfolipidowe

Maria Błaszczyk¹, Anna Palko-Łabuz¹, Edyta Kostrzewa-Susłow²,
Kamila Środa-Pomianek¹, Anna Uryga¹, Daniela Mosiądz¹,
Krystyna Michalak¹, Olga Wesołowska¹

¹ Katedra i Zakład Biofizyki, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

² Zakład Biotransformacji, Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Słowa kluczowe: chalkony, transportery wielolekowe, BCRP, mikrokalorymetria, błony fosfolipidowe

1. Wstęp

Chalkony są nienasyconymi ketonami aromatycznymi, w których strukturze dwa pierścienie aromatyczne połączone są nienasyconym, trójwęglowym łańcuchem. Są one wytwarzane przez wiele roślin i uważane są za prekursory do syntezy flawonoidów i izoflawonoidów. Wiele spośród naturalnie występujących lub otrzymanych drogą syntezy chemicznej chalkonów charakteryzuje się wysoką aktywnością biologiczną. Są to m.in. substancje o działaniu antybakteryjnym, przeciwrzybiczym, przeciwnowotworowym, przeciwzapalnym i antyoksydacyjnym. Jako takie, chalkony stanowią dobrą strukturę wyjściową do syntezy potencjalnych leków [1].

Ponadto chalkony i ich pochodne mogą modulować funkcję transporterów wielolekowych z nadrodziny ABC, zaangażowanych w powstanie zjawiska oporności wielolekowej komórek nowotworowych. Transportery te, dzięki swojej niezwykle szerokiej specyficzności substratowej, wypompowują z komórek nowotworowych szerokie spektrum leków i innych ksenobiotyków, obniżając ich wewnątrzkomórkowe stężenie i – w ten sposób – umożliwiając im przeżycie. Wykazano, że chalkony mogą być inhibitorami P-glikoproteiny (ABCB1) oraz białka BCRP (ABCG2) [2]. Transportery ABC są białkami transbłonowymi i, jako takie, wrażliwe są na skład chemiczny oraz parametry fizyczne (np. płynność) błony, w której się znajdują. Wiadomo jest, że białko BCRP preferencyjnie lokalizuje się w mikrodomenach błonowych wzbogaconych w cholesterol i sfingomielinę (tzw. tratwach lipidowych), a ponadto, że cholesterol silnie moduluje funkcje transportową tego białka [3].

Celem pracy było zbadanie wpływu metoksylowanych pochodnych chalkonu na komórki ssacze nadekspresjonujące transportery ABC (P-glikoproteinę, MRP1 i BCRP), a także na modelowe błony fosfolipidowe.

2. Materiał i metody

Cytotoksyczność trzech pochodnych chalconu, różniących się ilością oraz rozmieszczeniem grup metoksylowych, na linie komórek MDCK, ekspresjonujące ludzkie transportery ABC: P-glikoproteinę, MRP1 oraz BCRP badano przy wykorzystaniu testu SRB. Wpływ związków na właściwości termiczne dwuwarstwy lipidowej składającej się z dimirystoilofosfatydylocholine (DMPC) badano metodą skaningowej kalorymetrii różnicowej oraz spektroskopii fluorescencyjnej.

3. Wyniki

Dwie spośród badanych pochodnych stymulowały wzrost komórek MDCK-BCRP bez wpływu na komórki ekspresjonujące pozostałe transportery. Wszystkie badane związki oddziaływały z dwuwarstwą lipidową utworzoną z DMPC. Dla wszystkich związków zaobserwowano zanik przedprzejęcia na otrzymanych termogramach, co sugeruje że nawet mała ilość związku wpływała na upakowanie cząsteczek lipidu. Wartości temperatury przejścia fazowego oraz entalpii malały wraz ze wzrostem stężenia, przy czym wartości entalpii ulegały większej zmianie. Ponadto zaobserwowano zmniejszenie kooperatywności głównej przemiany fazowej DMPC w obecności pochodnych chalconu.

4. Dyskusja

Stwierdzono, że niektóre z badanych pochodnych chalconu mogą oddziaływać z transporterem BCRP na przykład stanowiąc jego substraty, przy czym siła obserwowanego efektu zależała od ilości oraz rozmieszczenia grup metoksylowych w cząsteczce chalconu. Ponadto, związki te wpływały na strukturę żelu oraz strukturę ciekło-krystaliczną dwuwarstwy lipidowej, prawdopodobnie poprzez oddziaływanie zarówno z polarnymi, jak i niepolarnymi, obszarami dwuwarstwy.

Piśmiennictwo

- [1] Singh P., Anand A., Kumar V. (2014) Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. *Eur. J. Med. Chem.* 85: 758–777.
- [2] Silbermann K., Shah C.P., Sahu N.U., Juvele K., Stefan S.M., Kharkar P.S., Wiese M. (2019) Novel chalcone and flavone derivatives as selective and dual inhibitors of the transport proteins ABCB1 and ABCG2. *Eur. J. Med. Chem.* 164: 193–213.
- [3] Storch C.H., Ehehalt R., Haefeli W.E., Weiss J. (2007) Localization of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in lipid rafts/caveolae and modulation of its activity by cholesterol in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 323: 257–264.

Ocena wieku odstawienia od piersi – powiązania hipoplazji szkliwa i zawartości stabilnych izotopów ^{18}O i ^{13}C w zębach z wczesnonowożytnych cmentarzy Wrocławskich

Paweł Dąbrowski¹, Michał Kulus², Joanna Grzelak³, Maciej Krajcarz⁴

¹ Zakład Anatomii Prawidłowej, Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

² Zakład Histologii i Embriologii, Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³ Zakład Anatomii Stomatologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁴ Instytut Nauk Geologicznych, Polska Akademia Nauk w Warszawie

Słowa kluczowe: hipoplazja szkliwa, karmienie piersią, dieta

1. Wstęp

Ocena wieku odstawienia od piersi (ang. weaning) w ludzkiej ontogenezie stanowi istotny obszar badań antropologicznych poświęconych rekonstrukcji jakości i stylu życia oraz odżywiania dawnych populacji. Początek fazy odstawiania od piersi, jej przebieg i łączny czas trwania są powiązane z czynnikami biologicznymi oraz społeczno-kulturowymi takimi jak zakres inwestycji rodzicielskich, częstość zachodzenia w ciążę i (pośrednio) dzietność [1].

Współcześnie zmiana składu pokarmu związana z odstawieniem od piersi nie wywołuje zwykle silnych zdrowotnych komplikacji. W dawnych populacjach ludzkich ten proces stosunkowo często skutkował epizodami stresu fizjologicznego. Ocenę czasu trwania stresu fizjologicznego potencjalnie związanego z procesem redukcji karmienia piersią można przeprowadzić za pomocą makroskopowej oceny zmian hipoplazycznych szkliwa (HS). Ze względu na regularność przyrostu kolejnych warstw szkliwa, możliwe jest oszacowanie wieku powstania i długości trwania stresu fizjologicznego [2].

Proces rozszerzania diety i następującego po nim okresu odstawienia od piersi znajduje swoje odzwierciedlenie również w składzie izotopowym m.in. twardych tkanek organizmu. Szczególnie ważne w kontekście oceny stopnia odżywienia są izotopy tlenu (^{18}O), węgla (^{13}C) i azotu (^{15}N) [3].

Mleko wykazuje wysoką zawartość ^{18}O . Dieta w dużej mierze oparta na mleku znajduje swoje odzwierciedlenie w podwyższonym poziomie ^{18}O w twardych tkankach organizmu (w tym w kościach i szkliwie koron zębowych). Izotop ^{13}C oznaczany w szkliwie może świadczyć o powiązaniu z odstawieniem od piersi poszerzaniem składników diety. Jego rosnący poziom w szkliwie dotyczy zębów, które rozwijają się w okresie wczesnej ontogenezy pourodzeniowej [3].

2. Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło łącznie 15 zębów stałych z HS pochodzących z czaszek należących do zbiorów osteologicznych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Badanie izotopów przeprowadzono na próbkach pobranych z trzech poziomów szkliwa koron zębowych kłów: powyżej HS, z obszaru HS i poniżej HS, czyli odpowiednio: sprzed stresu fizjologicznego, w jego trakcie i po jego ustaniu. Próbki oceniano spektrometrem IRMS Thermo MAT 253. Ocenę chronologii HS przeprowadzono zgodnie z metodologią zaproponowaną przez Reida i Deana. Analizę statystyczną przeprowadzono na poziomie populacji oraz poszczególnych osobników.

3. Wyniki

Średni wiek powstania LEH wynosił $2,55 \pm 0,62$ roku, a średni czas formowania zmiany wynosił 111 ± 55 dni. W większości przypadków (11/15) obserwowany jest wyższy poziom izotopu ^{13}C w szkliwie poniżej rowka hipoplastycznego. Analogiczny wykres prezentujący poziom ^{18}O nie pozwala na określenie dominującego wzorca. Wyniki znajdują swoje odzwierciedlenie na poziomie populacji, gdzie poziom ^{13}C jest istotnie wyższy w kolejnych punktach pobrania próbek, czego nie obserwuje się dla izotopów tlenu.

Zaobserwowano odwrotną korelację pomiędzy poziomem izotopu węgla a czasem powrotu do homeostazy ($R = -0,52$, $p = 0,04$).

4. Dyskusja

Uzyskane wyniki pozwalają zweryfikować powiązanie hipoplazji szkliwa z procesem odstawiania od piersi. W większości przypadków obserwowano stały wzrost izotopu ^{13}C , świadczący o wprowadzaniu dodatkowego pokarmu związanym z postępującym procesem odstawiania od piersi. Koreponduje to z występowaniem HS, które świadczy o problemach z adaptacją do nowego pokarmu.

Jednocześnie w czterech przypadkach obserwowano odmienny wzorzec wzrastania stężenia ^{13}C , co może sugerować, iż w badanych przypadkach hipoplazja szkliwa mogła nie być związana z procesem odstawiania od piersi. Wyniki te sugerują, iż zastosowana przez nas metoda może służyć do weryfikacji HS jako wyznacznika odstawiania od piersi.

Brak wzorca w poziomie stężenia ^{18}O powiązany jest z sezonową zmiennością poziomu tego izotopu w wodzie pitnej. Choć ten izotop jest bardzo przydatny w ocenie wieku odstawiania od piersi, do jego prawidłowe wykorzystanie w ocenie wymaga oznaczenie go w większej ilości próbek z każdego zęba.

Piśmiennictwo

- [1] J. W. Eerkens, E. Washburn, and A. M. Greenwald, "Weaning and Early Childhood Diets at Two Early Period Sites: Implications for Parental Investment and Population Growth in Central California," *Calif. Archaeol.*, vol. 9, no. 2, pp. 199–222, 2017.
- [2] D. J. Reid and M. C. Dean, "Brief communication: The timing of linear hypoplasia on human anterior teeth," *Am. J. Phys. Anthr.*, vol. 113, no. November, pp. 135–139, 2000.
- [3] K. Britton *et al.*, "Isotopes and new norms: Investigating the emergence of early modern U.K. breastfeeding practices at St. Nicholas Kirk, Aberdeen," *Int. J. Osteoarchaeol.*, vol. 28, no. 5, pp. 510–522, 2018.

Poznawcze potencjały wywołane w różnicowaniu choroby Alzheimera i Parkinsona

Wojciech Derkowski¹, Alicja Kędzia²

¹ Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu

² Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Słowa kluczowe: fala P300, choroba Alzheimera, choroba Parkinsona

1. Wstęp

Poznawcze potencjały wywołane (ERP) uzyskuje się poprzez komputerowe uśrednianie czynności elektroencefalograficznej (EEG) w odpowiedzi na bodźce wzrokowe, słuchowe, somatosensoryczne lub specjalne które angażują procesy poznawcze mózgu. Dlatego też, podczas gdy wzrokowe potencjały wywołane (VEP) rejestrowane z powierzchni głowy informują nas o sprawności drogi wzrokowej, poznawcze potencjały wywołane służą do oceny skuteczności transformacji informacji w korze mózgowej.

Wzrokowe potencjały wywołane (VEP) były używane od lat w badaniu drogi wzrokowej, co okazało się szczególnie przydatne do diagnozowania stwardnienia rozsianego i chorób nerwu wzrokowego. Tradycyjnie przede wszystkim analizuje się latencję i amplitudę fali P100. Fala P300 jest poznawczym potencjałem wywołanym, który odzwierciedla proces podejmowania decyzji w korze mózgowej. Pojawia się wtedy, gdy stosujemy specjalny protokół stymulacji z dwoma typami bodźców: grupą bodźców stanowiących tło, wobec których pojawiają się inne bodźce z drugiej grupy. Pacjent powinien reagować angażując procesy poznawcze w odpowiedzi na pojawienie się różnych bodźców. Ważne jest, aby badany był zmuszony do aktywnej reakcji na pojawienie się bodźców drugiej grupy, na przykład poprzez ich zliczanie i naciskanie przycisku. Ponieważ fala P300 odzwierciedla proces podejmowania decyzji w korze mózgowej, można założyć, że zmniejszenie skuteczności procesów poznawczych (na przykład u pacjentów z demencją) utrudni odróżnienie drugiego rodzaju bodźców od bodźców tła, co będzie widoczna w ewolucji morfologii, amplitudy i latencji fali P300.

Aby poprawić skuteczność procesów poznawczych, w leczeniu pacjentów z chorobą Alzheimera stosuje się inhibitory acetylocholinoesterazy, na przykład donepezil, co powoduje zwiększenie ilości acetylocholino w korze mózgowej i wspiera procesy poznawcze. Innym lekiem stosowanym w leczeniu choroby Alzheimera jest memantyna, antagonist receptoru NMDA. Celem naszego badania była ocena latencji i amplitudy fali P300 zarejestrowanej podczas badania wzrokowych potencjałów wywołanych u pacjentów z chorobą Parkinsona i chorobą Alzheimera i porównanie wyników uzyskanych dla obu grup pacjentów. Szczególnie interesowały nas różnice między wynikami obu grup i możliwy wpływ leków przepisanych pacjentom.

2. Materiał i metody

Materiał badawczy składał się z wyników badań poznawczych potencjałów wzrokowych przeprowadzonych w naszej pracowni – 30 osób z chorobą Alzheimera (średnia wieku 76 lat) i 30 osób z chorobą Parkinsona (średni wiek 79 lat) losowo wybranych wśród pacjentów, którzy zgłosili się do naszej poradni neurologicznej w 2018 i w 2019 r. w związku z leczeniem. Każdy pacjent był testowany co najmniej dwa razy w odstępie co najmniej kilku miesięcy. Potencjały poznawcze zostały wygenerowane w odpowiedzi na bodźce wzrokowe zgodnie z własnym protokole zawierającym dwa różne wzory geometryczne pojawiające się naprzemiennie w nieregularnych odstępach. Nasz własny protokół stymulacji obejmował 200 powtarzalnych bodźców wzrokowych dwóch typów. Podczas pierwszej wizyty, oprócz badania neurologicznego, przeprowadzono test MMSE w celu oceny stopnia otępienia u pacjentów. Rejestracja została wykonana w naszej pracowni na dwóch typach urządzeń: Mindset MS-1000 i EBNeuro (stacja nagrywająca z kanałami Neurotravel 32). Podstawowe parametry głowicy neurotravel EBNeuro to: szum – $0,3 \mu\text{VRMS}$, współczynnik tłumienia sygnału (CMRR) – 114 dB, archiwizowane próbkowanie sygnału – 22 bity o częstotliwości 125, 250, 500, 1000 Hz (na kanał, zdefiniowany przez użytkownika). EEG EBNeuro Neurotravel jest wyposażony w specjalistyczne oprogramowanie EEG Galileo.NET i moduł wielostanowiskowej współpracy online. Nasz własny protokół bodźców składał się z 200 bodźców wzrokowych powtarzanych w dwóch typach: najczęściej była to odwracalna szachownica składająca się z pionowych i poziomych linii, wśród których losowo pojawiały się wzory drugiego typu: siatka złożona z czarno-białych trójkątów ograniczonych przez linie ukośne i poziome. Przed badaniem pacjent został poinformowany, że jego zadaniem jest policzenie szachownic drugiego rodzaju, a aby zwiększyć jego zaangażowanie, obiecano mu nagrodę za prawidłowy wynik: kolorowe broszury na tematy medyczne. Rejestracji dokonywano w każdym punkcie klasycznego systemu elektroencefalograficznego 10–20. Do uśredniania używaliśmy własnych aplikacji napisanych w C++ (dla EBNeuro Neurotravel) i Borland Delphi (dla Mindset).

3. Wyniki

Stwierdziliśmy wzrost latencji fali P300 podczas badania wzrokowych poznawczych potencjałów wywołanych wśród pacjentów z chorobą Alzheimera (średnia latencja P300 w tej grupie badanej wynosiła 390 ms). Stopień wydłużenia latencji fali P300 korelował z ciężkością choroby. Podczas podawania leków prokognitywnych: memantyny lub donepezilu zaobserwowaliśmy skrócenie latencji fali P300.

Zarejestrowana w badaniu fala P100 była punktem odniesienia i pozwoliła nam sprawdzić dokładność wykonanych testów i upewnić się co do ich fizycznej poprawności.

Wśród pacjentów z chorobą Parkinsona zaobserwowano wzrost latencji P300, ale w mniejszym stopniu (średnia latencja P300 w tej grupie badanej wynosiła 318 ms). Leczenie farmakologiczne choroby Parkinsona nie miało istotnego wpływu na parametry fali P300.

4. Dyskusja

Poznawcze potencjały wywołane są wykorzystywane do oceny skuteczności procesów poznawczych poprzez pomiar aktywności elektrycznej mózgu. Uzupełniają testy psychologiczne, które są metodą bardziej podatną na błędy wynikające z subiektywnych warunków badania.

Poznawcze potencjały wywołane, w szczególności fala P300, pozwalają na ilościowe określenie wydajności procesów poznawczych. Używamy ich od wielu lat w diagnostyce i obserwacji leczenia choroby Alzheimera, gdzie obserwujemy wydłużenie latencji fali P300. Doświadczenie kliniczne wykazuje czasami w chorobie Parkinsona współistnienie zaburzeń poznawczych, a objawy pozapiramidowe występują również podczas demencji. Tak więc obserwujemy w praktyce częściowe nakładanie się tych dwóch grup pacjentów.

Czy preparaty fagowe to dobry pomysł na zwalczanie wieloopornych bakterii?

Zuzanna Drulis-Kawa

Zakład Biologii Patogenów i Immunologii, Instytut Genetyki i Mikrobiologii,
Uniwersytet Wrocławski

Słowa kluczowe: bakteriofagi, bakterie, oporność na antybiotyki, nowe terapie

1. Wstęp

Bakteriofagi (wirusy infekujące bakterie) są najliczniejszą grupą cząstek biologicznych w środowisku, wpływającą na bioróżnorodność i liczebność bakterii oraz obieg materii organicznej. Pomiędzy fagami a bakteriami występuje relacja pasożyt–żywiciel, która warunkuje zachowanie równowagi w populacjach bakterii zamieszkujących daną niszę ekologiczną, jak również generuje zmienność bakterii poprzez horyzontalny transfer genów. Rosnąca oporność bakterii na antybiotyki spowodowała wzrost zainteresowania fagami jako środkami terapeutycznymi. Zastosowanie w leczeniu znaleźć mogą zarówno same fagi, jak i ich enzymy (lizyny i depolimerazy).

Fruktozo-1,6-bisfosfataza 2 jako kluczowe białko dla indukcji długotrwałego wzmocnienia synaptycznego

Przemysław Duda¹, Tomasz Wójtowicz², Janusz Wiśniewski¹,
Jakub Janczara^{1,3}, Dariusz Rakus¹

¹ Katedra Fizjologii i Neurobiologii Molekularnej, Uniwersytet Wrocławski

² Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Polska Akademia Nauk

³ Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Słowa kluczowe: FBP2, LTP, stres wapniowy, mitochondria

1. Wstęp

Mięśniowy izoenzym fruktozo-1,6-bisfosfatazy (FBP2), katalizując hydrolizę fruktozo-1,6-bisfosforanu do fruktozo-6-fosforanu i fosforanu nieorganicznego, jest enzymem regulatorowym procesów gluko- i glikoneogenezy, czyli resyntezy glukozy/glikogenu z prekursorów niewęglowodanowych. Jego aktywność regulowana jest przez inhibitory allosteryczne (AMP, NAD⁺) oraz inhibitor konkurencyjny – fruktozo-2,6-bisfosforan, a także przez jony wapniowe, które hamują aktywność FBP2, uniemożliwiając właściwe związanie kationów katalitycznych (Mg²⁺, Mn²⁺, Co²⁺ czy Zn²⁺) [1]. Co więcej, pokazano, że FBP2 wchodzi w interakcję z licznymi białkami mitochondrialnymi, a także chroni same mitochondria przed stresem wapniowym, zmniejszając odsetek mitochondriów spęczniałych [2].

Wapń, napływający do neuronów przez zaktywowane receptory NMDA, jest kluczowym czynnikiem indukującym procesy neuroplastyczności, jak długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (LTP). Proces ten, w wyniku którego dochodzi do przebudowy zakończeń postsynaptycznych i zwiększenia siły synapsy, jest zjawiskiem niezbędnym do powstawania nowych wspomnień, a więc i uczenia się [3]. Pomimo tego, że neurony nie przeprowadzają procesów gluko- i glikoneogenezy, stwierdza się w nich obecność FBP2.

2. Materiały i metody

Doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem pierwotnych hodowli neuronalnych izolowanych z eksplantów hipokampalnych z 0–2-dniowych myszy szczepu BALB/c. Hodowle prowadzono przez 14 dni w atmosferze o zwiększonej wilgotności i 5% CO₂. Celem określenia subkomórkowej lokalizacji FBP2 w wypustkach neuronów w komórkach wybarwiano mitochondria i przeprowadzono immunodetekcję FBP2. Utrwalone preparaty oglądano na konfokalnym mikroskopie fluorescencyjnym, a ko-

-lokalizowanie FBP2 z mitochondriami określano przy użyciu współczynnika Mander-
sa. Wpływ indukcji LTP na ko-lokalizację FBP2 z mitochondriami badano jak wyżej,
z tym że neurony preinkubowano ze strychniną i glicyną (celem indukcji „chemiczne-
go” LTP), a komórki utrwalano w 2, 4, 6, 8 i 10 sekundzie indukcji procesu. Wpływ
czwartorzędowej struktury FBP2 na zdolność oddziaływania z mitochondriami zbadano
poprzez inkubację komórek z 2,5-dichloro-N-(5-chloro-2-benzoksazolo)-benzeno-
sulfonamidem – związkiem indukującym tetrameryzację FBP2. Dodatkowo, mitochon-
dria neuronalne izolowano i poddawano procesowi pęcznienia wywołwanego obec-
nością jonów wapniowych w warunkach bez i z FBP2, celem określenia protekcyjnej
roli FBP2 na mitochondria poddane stresowi wapniowemu. Egzekucję procesu LTP
w warunkach z wyciszoną ekspresją FBP2 (przy użyciu shRNA antyFBP2) oraz w stanie
jej permanentnej tetrameryzacji określono poprzez immunodetekcję pT286 CaMK2a
oraz czynników transkrypcyjnych, jak c-Fos, c-Jun czy Arc, a także metodami elektrofi-
zjologicznymi. Interakcja pomiędzy FBP2 a CaMK2a została zidentyfikowana przy po-
mocy spektrometrii mas, a następnie potwierdzona *in vitro* metodą koimmunoprecypi-
tacji.

3. Wyniki

W pracy tej pokazano, że FBP2 ma zdolność oddziaływania z mitochondriami wy-
pustek neuronów hipokampalnych, a jej odsetek lokalizujący z mitochondriami jest
zależny od indukcji LTP, przyjmując wartości najniższe na początku stymulacji i stopnio-
wo wzrastając wraz z czasem jej trwania. Co więcej, FBP2 zmniejsza ilość mitochon-
driów spęczniałych w następstwie stresu wapniowego i najprawdopodobniej tylko jej
dimeryczna forma oddziałuje z mitochondriami neuronów. W warunkach, w których
FBP2 jest tetramerem, a także przy wyciszeniu jej ekspresji nie obserwuje się indukcji
ani wczesnej ani późnej fazy LTP. Zidentyfikowano nowego partnera białkowego FBP2,
CaMK2a, a także pokazano, że obecność FBP2 zwiększa ilość aktywnej CaMK2.

4. Dyskusja

Przedstawione powyżej wyniki pozwalają stwierdzić, że FBP2 jest kluczowym biał-
kiem regulującym aktywność CaMK2, a tym samym indukcję LTP w neuronach hipo-
kampalnych. Kwestią dalszych badań jest określenie roli subkomórkowej lokalizacji
FBP2 w kontekście generowania LTP. Pytanie, czy to cytozolowa frakcja FBP2 oddyso-
cjowanej od mitochondriów w pierwszych sekundach indukcji LTP jest kluczowa dla
autoaktywacji CaMK2, czy też jest to proces zachodzący w obrębie mitochondrium,
zależny od polarności tych organelli i $[Ca^{2+}]_m$, pozostaje bez odpowiedzi. Zaprezen-
towane wyniki otwierają zupełnie nowe pole do dalszych badań nad indukcją, podtrzy-
mywaniem i regulacją procesu LTP, które nie dość, że mogą pomóc lepiej poznać mo-
lekularny mechanizm leżący u podstaw formowania się pamięci, to w przyszłości mogą
także posłużyć do lepszej charakterystyki patofizjologii chorób neurodegeneracyjnych,
a tym samym przyczynić się do opracowania lepszych strategii terapeutycznych.

Piśmiennictwo

- [1] Gizak A., Duda P., Wiśniewski J., Rakus D., 2019, Fructose-1,6-bisphosphatase: From a glucose metabolism enzyme to multifaceted regulator of a cell fate, *Advances in Biological Regulation*, 72, pp. 41–50.
- [2] Gizak A., Piróg M. i Rakus D., 2012, Muscle FBPase binds to cardiomyocyte mitochondria under glycogen synthase kinase-3 inhibition or elevation of cellular Ca²⁺ level, *FEBS Letters*, 586(1), pp. 13–1.
- [3] Nicoll R.A., 2017, A brief history of long-term potentiation, *Neuron*, 93(2), pp. 281–290.

Model matematyczny wzrostu mięśnia dwugłowego uda w okresie prenatalnym

Krzysztof Dudek¹, Alicja Kędzia², Wojciech Kędzia³

¹ Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczny

² Zakład Anatomii Prawidłowej UM Wrocław

³ Niepubliczna Wyższa Szkoła Medyczna Wrocław

Słowa kluczowe: model matematyczny, mięsień dwugłowy uda, okres płodowy

1. Wstęp

Modele matematyczne w okresie płodowym były wykorzystywane w ocenie wzrostu płodowych struktur kostnych i mięśniowych w badaniach [1–5, 7], oraz wzrostu bakterii [6]. Cel pracy stanowił wybór najlepszych modeli matematycznych do charakterystyki wzrostu struktur płodowych, co wносиło elementy nowości do anatomii. Wybrany obiekt badań był mięsień dwugłowy uda w okresie prenatalnym.

2. Materiał i metody

Materiał badań stanowiło 150 preparatów sekcyjnych mięśnia dwugłowego uda pobranych od 75 płodów ze zbioru Zakładu Anatomii Prawidłowej UM we Wrocławiu (33 płody żeńskie i 42 męskie). Wiek morfologiczny płodów (HBD) znajdował się w przedziale 18. a 28. tydzień a przedział długości ciała v -tub między 70 a 237 mm. Metody: preparacyjna, akwizycja fotograficzna. Do dalszej oceny morfometrycznej preparatów wykorzystano profesjonalny system oprogramowania do graficznego przetwarzania obrazów bitmapowych z funkcjami projektowania grafiki wektorowej typu CAD *Scion Image for Windows*. Przeprowadzono analizę statystyczną – pakiet STATISTICA v. 12.5. Wykorzystano test t-Studenta, Shapiro-Wilka, współczynnik korelacji Pearsona. We wszystkich wykorzystanych testach statystycznych jako wynik istotny przyjęto poziom istotności $p < 0,05$.

3. Wyniki

Wybór funkcji matematycznej powinien wiernie aproksymować rzeczywisty przebieg krzywej wzrastania wymiaru Y we wszystkich tygodniach ciąży. Proporcje długościowe (L) i szerokościowe (W) głowy długiej (GD) względem głowy krótkiej (GK) były stałe ($p > 0,05$) i nie zmieniały się w analizowanym okresie życia płodowego. Do dalszej analizy zakwalifikowano wyniki pomiaru 150 preparatów. Wykresy rozrzutu wskazują na szybsze tempo wzrastania wymiarów liniowych (długości i szerokości) w tygo-

dniach 18. do 23. i wolniejsze w tygodniach 23. do 28. W badanym materiale 150 preparatów mięśnia dwugłowego uda nie zaobserwowano statystycznie istotnej asymetrii ani dymorfizmu płciowego wymiarów liniowych ($p > 0,05$). W analizowanym okresie życia płodowego przyrost długości i szerokości struktur MDU ma charakter nieliniowy. Przyrosty tygodniowe wymiarów w 18.–22. tygodniu są większe niż w 23.–28. tygodniu kostnych [1–3] i wzrostu bakterii [6]. Najbardziej przydatny w analizie wzrostu mięśnia dwugłowego uda okazał się model von Bertalanffy'ego. $Y = b_0 * \exp(1 - b_1 * \exp(-b_2 * t))^3$.

Największy tygodniowy wzrost bezwzględny mają wymiary długościowe: długość głowy długiej LGD wrasta przeciętnie o 2,4 mm/tydzień a głowy krótkiej LGK o 1,3 mm/tydzień. Proporcje długości i szerokości głowy długiej do głowy krótkiej mięśnia są stałe, podobnie jak wskaźniki długościowo-szerokościowe głowy długiej i krótkiej co świadczy o równomiernym wzrastaniu mięśnia dwugłowego uda (MDU) w obu kierunkach.

4. Dyskusja

Istnieją różne modele matematyczne: liniowy (model ten zakłada stałe tempo wzrostu wymiaru w całym okresie ciąży); odcinkowo-liniowy: wielomianowy: sklejana: model składa się z segmentów, w których krzywe trzeciego stopnia dopasowuje się metodą najmniejszych kwadratów do wyników badań, logarytmiczna, potęgowa, wykładnicza, potęgowo-wykładniczej, model Gompertza: funkcja $Y = b_0 * \exp(-b_1 * \exp(-b_2 * t))$. W przeprowadzonych badaniach najczęściej był wykorzystywano model liniowy, model Gompertza do opisu struktur kostnych [1-3] i wzrostu bakterii [6]. Wzrastanie wymiarów liniowych mięśnia czworobocznego w okresie prenatalnym dobrze opisuje model wykładniczy a wzrastanie jego pola powierzchni – model logarytmiczny. Dla oceny wzrostu długości mięśnia krawieckiego i jego powierzchni wykorzystano wielomianem drugiego stopnia, a w przypadku wymiarów szerokościowych, z uwagi na ich duży rozrzut przyjęto model regresji liniowej. Szpinda et al. [7] wykonali badania m. dwugłowego uda na materiale 30 płodów w wieku od 17–30 tygodnia za pomocą dysekcji anatomicznej, cyfrowej analizy obrazu (multiscan v.14.02), analizy statystycznej (ANOVA, analizy regresji Stwierdzili liniowy charakter wzrostu mięśnia w okresie prenatalnym oraz brak istotnej statystycznie asymetrii i dymorfizmu płciowego.

Najbardziej przydatny w analizie wzrostu mięśnia dwugłowego uda w badaniach własnych okazał się model von Bertalanffy'ego.

Piśmiennictwo

- [1] Merz E, Grusner A, Kern F: Mathematical modeling of fetal limb growth. J Clin Ultrasound 1989, 17, 179–185.
- [2] Woźniak J, Kędzia A, Dudek K: Mathematical assessment of foetal facial skeleton development. Arch Perinat Med. 2010, 16(4), 211–217.
- [3] Wojciech Kędzia, Emilia Kędzia, Alicja Kędzia, Krzysztof Dudek.: Matematyczny model rozwoju jamy nosowej w okresie prenatalnym. W: Komputerowe wspomaganie badań naukowych. T. 20; red. Jan Zarzycki; Wrocław Wrocławskie Towarzystwo Naukowe, 2013; s. 37–46 (Prace Wrocławskiego Towarzystwa Naukowego. Seria B; nr 219). ISBN 978-83-7374-086-0.

- [4] Alicja Kędzia, Ewa Wałek, Katarzyna Podleśny, Krzysztof Dudek.: Musculus sartorius metrology in the fetal period *Adv. Clin. Exp. Med.* 2011 Vol. 20 no. 5; s. 567–574.
- [5] Alicja Kędzia, Martyna Tomczyk-Socha, Monika Herlender, Krzysztof Dudek: Modele matematyczne i warianty morfologiczne musculus trapezius w okresie prenatalnym. W: *Komputerowe wspomaganie badań naukowych*. T. 19; red. Jan Zarzycki; Wrocław: Wrocławskie Towarzystwo Naukowe, 2012; s. 43–53. (Prace Wrocławskiego Towarzystwa Naukowego. Seria B; nr 218) ISBN 978-83-7374-081-5.
- [6] Elżbieta Rosiak Danuta Kołodyn-Krajewska: Modele wzrostu bakterii pseudomonas w produktach gotowych do spożycia. *Żywność* 5(44), 191–206.
- [7] Szpinda M, Wiśniewski M, Rolka Ł. The biceps femoris muscle In human fetuses – a morphometric, Digital and statistical study *Adv Clin Exp Med.* 2011, 20, 5, 575–582.

Nieinwazyjne metody pomiaru glukozy u pacjentów – ocena możliwości wykorzystania filmu łzowego

Katarzyna Dziergowska¹, Marlena Gąsior-Głogowska², Jerzy Detyna¹, Małgorzata Komorowska²

¹ Politechnika Wroclawska, Wydział Mechaniczny, Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej, ul. Smoluchowskiego 25, 50-300 Wrocław

² Politechnika Wroclawska, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Plac Grunwaldzki 13, 50-378 Wrocław

Słowa kluczowe: ciecz łzowa, stężenie glukozy, cukrzyca, metody nieinwazyjne, spektroskopia

1. Wstęp

W ciągu ostatnich lat można zaobserwować stały wzrost zachorowalności na cukrzycę. Ta nieuleczalna choroba cywilizacyjna nie dotyczy już wyłącznie mieszkańców krajów wysokorozwiniętych. Obecnie coraz częściej dotyka ona mieszkańców biedniejszych krajów. Spowodowane jest to wzrostem średniej długości życia, niezdrowym sposobem odżywiania się, brakiem ruchu oraz wieloma innymi czynnikami. Nieleczona cukrzyca może doprowadzić do wielu powikłań, a nawet do śmierci [1]. Z tego powodu tak ważna jest codzienna kontrola poziomu glukozy u osób z tym schorzeniem. Pomiary tradycyjnym glukometrem wiążą się z wykonywaniem kilka razy w ciągu dnia nakłucia na palcu, co jest bolesne i niekomfortowe [2–4]. W związku z tym wielu naukowców prowadzi badania nad innymi sposobami pomiaru stężenia glukozy we krwi. Metoda, która byłaby szybka, nieinwazyjna i tania, mogłaby także umożliwić wykonanie testów obrazujących stan całej populacji, co jest bardzo potrzebne, ze względu na ilość obecnie żyjących osób niezdiagnozowaną cukrzycą typu 2 [3]. Choć pierwszy glukometr powstał dopiero w 1966 r. [5], to pierwsze badania dotyczące pomiaru poziomu glukozy z cieczy łzowej zostały udokumentowane już w 1937 r. Świadczy to o tym, jak bardzo potrzebna jest bezinwazyjna metoda kontroli cukrzycy. Od tego czasu pojawiło się coraz więcej badań nad alternatywnymi sposobami pomiaru glukozy [6], nie tylko z cieczy łzowej, ale także ze śliny [8–13], potu [14] lub przezskórnie [14, 15]. Jednak żadna z tych metod nie została jeszcze wprowadzona do powszechnego użytku, a cukrzycy na całym świecie nadal korzystają z glukometrów.

2. Materiał i metody

Badania wykonano za pomocą techniki spektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni z wykorzystaniem zjawiska osłabionego całkowitego wewnętrznego odbicia (ATR-FTIR)

z użyciem spektrometru Nicolet 6700 oraz mikrospektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni przy użyciu mikroskopu FT-IR Nicolet iN10 (Thermo Scientific, USA). W obu przypadkach materiałem badawczym były wodne roztwory glukozy o stężeniach takich, jakie występują w cieczy łzowej (0,025–10,0 mM). Uzyskane widma analizowano w programie GRAMS/AI (Thermo Scientific, USA). Widma były wygładzane z zastosowaniem filtra wielomianowego Savitzkyego-Golaya (rzęd wielomianu: 2; wielkość okna: 35 punktów). Do stworzenia modelu kalibracyjnego wykorzystano metodę regresji cząstkowych najmniejszych kwadratów (PLS).

3. Wyniki

W widmach oscylacyjnych wodnych roztworów glukozy dominują pasma pochodzące od rozpuszczalnika, jak szerokie pasmo z maksimum przy 3350 cm^{-1} związane z drganiami rozciągającymi grup OH w wodzie i pasmo przy 1635 cm^{-1} pochodzące od drgań deformacyjnych tych grup. Dla glukozy charakterystyczne są dwa intensywne pasma pochodzące od drgań rozciągających C–O pierścieni piranozowych: 1035 i 1080 cm^{-1} . Absorbancja tych pasm rośnie wraz ze wzrostem stężenia glukozy w roztworze. Zakres liczb falowych $1185\text{--}940\text{ cm}^{-1}$ posłużył do wyznaczenia krzywej kalibracyjnej z wykorzystaniem metody PLS. Optymalny model uzyskano dla widm FT-IR na podstawie widm drugiej pochodnej i 5 czynników PLS. Współczynnik korelacji wyniósł 0,94.

4. Dyskusja

Analizując dane literaturowe można stwierdzić, iż istnieje zależność między stężeniem glukozy w cieczy łzowej a stężeniem glukozy we krwi. Przeprowadzone badania z wykorzystaniem technik spektroskopii oscylacyjnej wsparte analizą chemometryczną wykazały, że możliwe jest opracowanie nieinwazyjnej metody pomiaru stężenia glukozy w płynie łzowym.

Piśmiennictwo

- [1] International Diabetes Federation, IDF Diabetes Atlas Eighth edition. 2017.
- [2] Rohrscheib M., Robinson R., and Eaton R.P., "Non-invasive glucose sensors and improved informatics – The future of diabetes management," *Diabetes, Obes. Metab.*, vol. 5, no. 5, pp. 280–284, 2003.
- [3] Cunningham D.D. and Stenken J.A., *In vivo glucose sensing*. 2009.
- [4] Gamessa T.W., Suman D. and Tadesse Z.K., "Blood glucose monitoring techniques : recent advances, challenges and future perspectives," *Int. J. Adv. Technol. Eng. Explor.*, vol. 5, no. 46, pp. 335–344, 2018.
- [5] Moodley N., Ngxamngxa U., Turzyniecka M.J. and Pillay T.S., "Historical perspectives in clinical pathology: A history of glucose measurement," *J. Clin. Pathol.*, vol. 68, no. 4, pp. 258–264, 2015.
- [6] Bartlett P.N., *Bioelectrochemistry*. 2008.

- [7] Lin C.E., Ito Y., Deng A., Johns J., Matloff D., Cook C.B., Sode K. and La Belle J.T., "A disposable tear glucose biosensor—part 5: improvements in reagents and tear sampling component," *J. Diabetes Sci. Technol.*, vol. 12, no. 4, pp. 842–846, 2018.
- [8] Zhang W., Du Y. and Wang M.L., "On-chip highly sensitive saliva glucose sensing using multilayer films composed of single-walled carbon nanotubes, gold nanoparticles, and glucose oxidase," *Sens. Bio-Sensing Res.*, vol. 4, pp. 96–102, 2015.
- [9] Zhang W., Du Y. and Wang M.L., "Noninvasive glucose monitoring using saliva nano-biosensor," *Sens. Bio-Sensing Res.*, vol. 4, pp. 23–29, 2015.
- [10] Arakawa T., Kuroki Y., Nitta H., Chouhan P., Toma K., ichi Sawada S., Takeuchi S., Sekita T., Akiyoshi K., Minakuchi S. and Mitsubayashi K., "Mouthguard biosensor with telemetry system for monitoring of saliva glucose: A novel cavitas sensor," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 84, pp. 106–111, 2016.
- [11] Soni A. and Jha S.K., "A paper strip based non-invasive glucose biosensor for salivary analysis," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 67, pp. 763–768, 2015.
- [12] Soni A. and Jha S.K., "Smartphone based non-invasive salivary glucose biosensor," *Anal. Chim. Acta*, vol. 996, pp. 54–63, 2017.
- [13] Kim J., Campbell A.S. and Wang J., "Wearable non-invasive epidermal glucose sensors: A review," *Talanta*, vol. 177, pp. 163–170, 2018.
- [14] Saur N.M., England M.R., Menzie W., Melanson A.M., Trieu M.Q., Berlin J., Hurley J., Krystyniak K., Kongable G.L. and Nasraway S.A., "Accuracy of a novel noninvasive transdermal continuous glucose monitor in critically ill patients," *J. Diabetes Sci. Technol.*, vol. 8, no. 5, pp. 945–950, 2014.

Przemieszczenia odłamów kostnych jako czynnik kształtujący właściwości mechaniczne regeneratu

Jarosław Filipiak¹, Janusz Bieżyński², Piotr Kuropka³

¹ Politechnika Wroclawska, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów

² Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra i Klinika Chirurgii

³ Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt

Słowa kluczowe: wydłużanie kończyn, regenerat kostny, właściwości mechaniczne

1. Wstęp

Operacyjne wydłużanie kończyn jest złożonym procesem biologicznym, w którym wykorzystywana jest naturalna predyspozycja tkanek do regenerowania się. Istotą tego procesu są relacje pomiędzy zjawiskami biologicznymi związanymi z proliferacją i różnicowaniem się tkanek oraz czynnikami biochemicznymi i biomechanicznymi oddziałującymi na odtwarzającą się w przestrzeni międzyodłamowej tkankę kostną [1]. W niniejszej pracy skoncentrowano się na roli bodźców mechanicznych. Celem prezentowanych badań jest uzyskanie odpowiedzi na pytanie: jaki jest wpływ stymulacji mechanicznej regeneratu powstającego w procesie wydłużania kości kończyn na jego strukturę biologiczną, właściwości mechaniczne oraz ich zróżnicowanie w objętości regeneratu. W pracy skupiono się na analizie oddziaływania stymulacji mechanicznej w postaci cyklicznych, osiowych przemieszczeń odłamów kostnych o określonej amplitudzie.

2. Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 21 owcach rasy Merynos, u których wydłużaniu metodą Ilizarowa poddano kość śródstopia. Badane owce podzielono na trzy grupy pomiarowe, w których podczas eksperymentu aplikowano stymulację mechaniczną w postaci cyklicznych, osiowych przemieszczeń odłamów (CPO) o wartościach: CPO = 1 mm (grupa pomiarowa G1) lub CPO = 2 mm (G2). W trzeciej grupie, referencyjnej (R) realizowano jedynie wydłużanie bez stymulacji mechanicznej. W eksperymencie zastosowano stabilizator zewnętrzny wyposażony w sterowane mikroprocesorowo silniki krokowe, za pomocą których realizowano dobowe wydłużenie oraz odpowiednią dla danej grupy pomiarowej stymulację mechaniczną. Po 8 tygodniach od momentu przeprowadzenia zabiegu owce zostały uśmiercone zgodnie z obowiązującymi procedurami. Pobrane preparaty poddano badaniom właściwości mechanicznych oraz badaniom histologicznym. Wytrzymałość na ściskanie oraz moduł Younga wyznaczono na podsta-

wie testu jednoosiowego ściskania dla próbek pobranych z różnych rejonów regeneratu. Dla tych samych próbek przeprowadzono analizę histologiczną w celu określenia procentowego udziału nowopowstałej tk. kostnej.

3. Wyniki

Dla regeneratów z analizowanych grup pomiarowych przebadano próbki pobrane z dwóch stref: środkowej obejmującej strefę wzrostu (próbki oznaczone M, CM i PM) i strefy pododłamowej (próbki CB i PB). Dodatkowo przebadano próbki dojrzałej kości korowej (B) pobrane z trzonu. Wyznaczone wartości wytrzymałości R_m oraz moduły Younga E przedstawiono w tabeli 1.

Tabela. 1. Średnie wartości wytrzymałości na ściskanie i moduły Younga wyznaczone dla grup pomiarowych

	R		G1		G2	
	R_m [MPa]	E [MPa]	R_m [MPa]	E [MPa]	R_m [MPa]	E [MPa]
CB	49,92 (7,1)	2246 (346)	61,49 (9,6)	3519 (336)	70,70 (8,9)	4092 (312)
PB	58,63 (4,7)	2381 (314)	64,88 (6,8)	2798 (292)	76,51 (7,8)	3410 (328)
M	13,82 (3,5)	43,39 (8,71)	15,34 (4,6)	48,53 (9,93)	15,8 (5,2)	50,46 (10,06)
CM	15,17 (4,2)	51,33 (10,74)	18,87 (3,6)	60,72 (8,83)	20,79 (6,7)	70,91 (11,46)
PM	16,84 (5,1)	55,48 (9,74)	24,79 (6,2)	79,92 (10,25)	26,86 (6,1)	90,13 (8,92)
B	170,47 (12,37)	15804 (516)	165,73 (17,81)	15416 (427)	168,21 (14,16)	15692 (492)

Otrzymane wyniki obrazują znaczny stopień zróżnicowania charakterystyk mechanicznych w obrębie ośmiotygodniowego regeneratu kostnego. Znajduje to odzwierciedlenie zarówno w kształcie krzywych ??? wyznaczonych dla próbek pochodzących z analizowanych stref regeneratu oraz wyznaczonych wartościach parametrów opisujących właściwości mechaniczne próbek. Próbki ze strefy pododłamowej wykazują charakterystykę materiału sprężysto – plastycznego, natomiast próbki ze strefy środkowej zachowują się podobnie jak materiał hiperelastyczny. Badania histologiczne struktury ośmiotygodniowych regeneratów kostnych wykazały, że ich budowa jest zróżnicowana w stopniu uzależnionym od poziomu stymulacji mechanicznej. Porównanie grup *R* i *G1* ujawnia blisko dwukrotny wzrost udziału tkanki kostnej w strefie środkowej regeneratów poddawanych stymulacji mechanicznej. Jeszcze większy, 2,5-krotny wzrost udziału tk. kostnej zarejestrowano w regeneratach pochodzących z grupy pomiarowej *G2*.

4. Dyskusja

Porównanie wartości analizowanych parametrów wyznaczonych dla owiec z grupy *R* z wynikami grup *G1* i *G2* pozwala na stwierdzenie, że aplikacja stymulacji mechanicznej powoduje wzrost właściwości mechanicznych regeneratu we wszystkich jego strefach. Niezwykle ważne jest przyśpieszenie tempa „wzmocnienia” środkowej części regeneratu – strefy wzrostu, przejawiające się szczególnie intensywnym wzrostem wytrzymałości w obszarach: środkowym pododłamowym *CM* i środkowym skrajnym *PM*. W aspekcie biomechanicznym jest to niezwykle istotny efekt zwiększający potencjał regeneratu kostnego w zakresie przenoszenia obciążeń zewnętrznych. Należy podkreślić, że obserwowane zmiany właściwości mechanicznych mają związek ze zmianami struktury regeneratu. Aplikacja osiowych przemieszczeń odłamów skutkuje zdecydowanym wzrostem udziału nowopowstałej tkanki kostnej we wszystkich strefach regeneratu. Bardzo ważny jest wzrost udziału tkanki kostnej w środkowej strefie regeneratu – strefie wzrostu. Uzyskane wyniki mogą być w pomocne projektowaniu konfiguracji stabilizatora Ilizarowa o określonej sztywności w celu zapewnienia jak najkorzystniejszych warunków biomechanicznych do powstawania regeneratu kostnego [2].

Piśmiennictwo

- [1] Krawczyk A., Kuropka P., Kuryszko J., Wall A., Dragan S., Kulej M.: Experimental studies on the effect of osteotomy technique on the bone regeneration in distraction osteogenesis. *Bone*, 2007, 40, pp. 781–79.
- [2] Morasiewicz P., Filipiak J., Kryzstoforski K., Dragan S.: Biomechanical aspects of lower limb torsional deformation correction with the Ilizarov external fixator. *Annals of Biomedical Engineering*. 2014, vol. 42, nr 3, pp. 613–618.

Wpływ zastosowania różnych materiałów przekładkowych na parametry mechaniczne wybranej konstrukcji stopy protezowej

Katarzyna Frąk¹, Małgorzata Żak²

¹ Międzywydziałowe Koło Naukowe Biomechaników, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wroclawska

² Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wroclawska

Słowa kluczowe: stopa protezowa, parametry mechaniczne, symulacje numeryczne

1. Wstęp

Stopa ludzka jest narządem o skomplikowanej budowie, który pełni wiele ważnych funkcji związanych z lokomocją człowieka. Rodzaj dobranej stopy protezowej zależy przede wszystkim od poziomu amputacji i stopnia aktywności pacjenta. Najważniejszym zadaniem podczas próby odtworzenia amputowanej kończyny, szczególnie stopy, jest przywrócenie jej funkcjonalności i umożliwienie utrzymania naturalnego wzorca chodu, który w znacznym stopniu decyduje o aktywności i jakości życia człowieka [1].

Celem pracy jest ocena parametrów mechanicznych stopy protezowej Trias podczas jej obciążania w wybranej fazie cyklu chodu. W pracy wykazano wpływ zastosowania różnych materiałów przekładkowych, ponieważ dobór materiału na stopę protezową wpływa również od stopnia mobilności pacjenta.

2. Materiał i metody

Badania prowadzono na modelu stopy protezowej Trias 1C30 firmy Ottobock, przeznaczonej dla osób o masie do 80 kg, która charakteryzuje się stopniem mobilności 2–3, co oznacza, że proteza ta idealnie sprawdzi się u osób poruszających się na zewnątrz po nierównym terenie. Konstrukcja ta dzięki podwójnym elementom sprężynującym tłumi wstrząsy i pozwala na bezproblemowe pokonywanie przeszkód takich jak stopnie czy krawężniki. Stopa protezowa Trias składa się z podwójnej sprężyny piętowej, podwójnej sprężyny śródstopnej, podeszwy zwanej przez producenta sprężyną bazową, adaptera oraz z elementów mocujących (rys. 1a). Pomiędzy poszczególnymi elementami występują łączniki. Na podstawie wymiarów rzeczywistego obiektu wykonano model geometryczny protezy (rys. 1b).



Rys. 1. Stopa protezowa: a) budowa; b) model geometryczny; c) model obciążeniowy

Analizę wyników przeprowadzono na podstawie danych uzyskanych z symulacji numerycznych z zastosowaniem metody elementów skończonych w programie ANSYS. Model obciążono siłą 800 N co odpowiadało stanowi na jednej nodze użytkownika ważącego 80 kg (rys. 1c). Przyjęto, że główne elementy konstrukcji wykonane są z włókna węglowego natomiast adapter wykonany jest ze stali nierdzewnej. Natomiast górne łączniki to elementy polietylenowe, a dolne to komponenty wykonane z gumy silikonowej. W badaniach przeanalizowano kombinację zastosowanych materiałów przekładowych (tab. 1) przyjmując, że łączniki wykonano z: 1) z gumy i polietylenu (model wyjściowy), 2) wyłącznie z gumy, 3) wyłącznie z polietylenu.

Tabela 1. Parametry materiałowe przyjęte w modelu stopy protezowej [1]

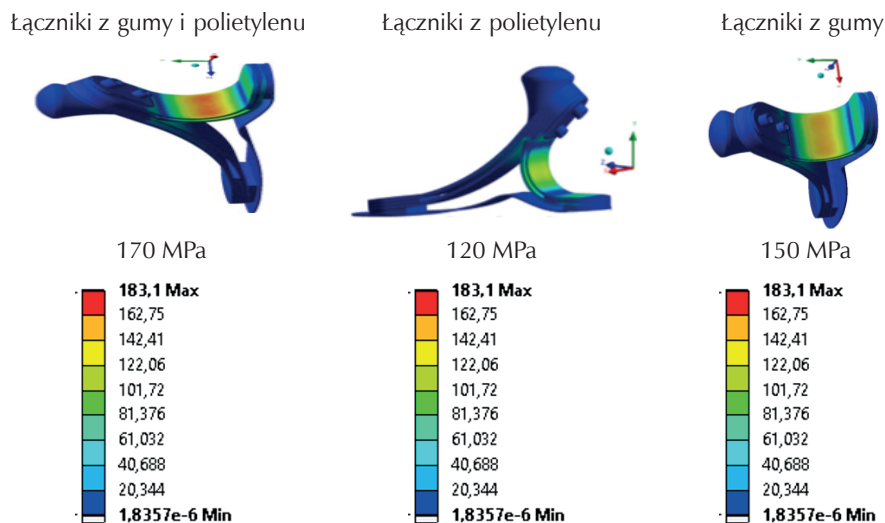
Materiał	Moduł Younga E [MPa]	Współczynnik Poissona ν [-]
Włókno węglowe	230000	0,30
Stal nierdzewna	200000	0,29
Polietylen	1000	0,46
Guma silikonowa	50	0,49

3. Wyniki i dyskusja

W pracy badano takie parametry jak przemieszczenia i naprężenia zredukowane. Dla wyjściowego modelu oraz dla modelu z łącznikami wyłącznie z gumy otrzymano podobne wartości wszystkich badanych parametrów. Analizując sumę przemieszczeń wykazano, że największe wartości osiągnął model z łącznikami wyłącznie z gumy (0,70 mm), natomiast dla modelu wyjściowego z gumy i polietylenu 0,63 mm. Model z klinami polietylenowymi charakteryzował się znacznie mniejszymi przemieszczeniami, co mogłoby oznaczać, że konstrukcja z takimi łącznikami jest zbyt sztywna i ogranicza możliwość dostosowywania się protezy do różnych powierzchni podłoża.

Maksymalne wartości naprężeń zredukowanych we wszystkich trzech modelach nie przekraczają wytrzymałości kompozytów ze zbrojeniem z włókna węglowego, które mają wytrzymałość nawet do 6370 MPa. Zastosowanie włókna węglowego jako mate-

riału na protezy sprawia, że zwiększa się jej odporność na uszkodzenia, a przy tym bezpieczeństwo użytkownika. Podczas analizy modeli można zaobserwować, że największe zmiany rozkładu naprężeń podczas obciążenia protezy zachodzą w sprężynie piętowej, głównie w jej zewnętrznej części. Oznacza to, że element ten jest najbardziej podatny na występowanie uszkodzeń.



Rys. 2. Przykładowy rozkład naprężeń zredukowanych dla konstrukcji z łącznikami z różnych materiałów

Piśmiennictwo

- [1] Bomanowski K., Łagan S., *Wpływ faz chodu na stan naprężenia w modelu stopy protezowej*, Aktualne Problemy Biomechaniki, nr 9/2015.

Udział białka SATB1 w procesie przejścia epitelialno-mezenchymalnego w niedrobnokomórkowych rakach płuc

Natalia Glatzel-Plucińska¹, Aleksandra Piotrowska¹,
Marzenna Podhorska-Okołów², Piotr Dzięgiel^{1, 3}

¹ Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

² Zakład Badań Ultrastrukturalnych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³ Zakład Biologii Człowieka, Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Słowa kluczowe: SATB1, EMT, non-small cell lung cancer, NSCLC

1. Wstęp

Rak płuc jest główną przyczyną zgonów powodowanych chorobami nowotworowymi. Najwięcej, bo aż 40–50% wszystkich przypadków, stanowi gruczolakorak płuc (*Adenocarcinoma*, AC), na drugim miejscu plasuje się rak płaskonabłonkowy (*Squamous-Cell Carcinoma*, SCC) – około 20–30% przypadków. Oba te nowotwory zaliczają się do grupy niedrobnokomórkowych raków płuc (*Non-Small Cell Lung Carcinoma*, NSCLC) [1]. Doniesienia literaturowe, a także wyniki naszych dotychczasowych badań wskazują, że jednym z białek zaangażowanych w rozwój i progresję NSCLC może być SATB1.

SATB1 (*Special AT-rich Binding Protein 1*) jest nazywany „globalnym czynnikiem transkrypcyjnym”. Białko to wiąże się ze specyficznymi sekwencjami w genomie i organizuje DNA w trzeciorzędowe struktury. Umożliwia to wiązanie innych czynników transkrypcyjnych oraz enzymów modyfikujących chromatynę. Dzięki SATB1 możliwa jest jednoczesna regulacja ekspresji całych zestawów genów – nawet tych, które znajdują się na oddalonych od siebie chromosomach. W warunkach fizjologicznych, SATB1 bierze udział w procesach wymagających szybkiej zmiany fenotypu komórki, jak np. różnicowanie tymocytów czy komórek naskórka. Wysoką ekspresję SATB1 stwierdzono również w przypadku wielu nowotworów – między innymi w rakach gruczołu piersiowego, jajnika, jelita i prostaty [2]. W komórkach nowotworowych obecność tego białka jest powiązana z agresywnym fenotypem i opornością na apoptozę, a jego wysoki poziom uznawany jest za negatywny czynnik prognostyczny [3].

Najnowsze doniesienia wskazują, że w komórkach nowotworowych SATB1 może być jednym z regulatorów przejścia epitelialno-mezenchymalnego (*Epithelial-Mesenchymal Transition*, EMT). EMT jest procesem, w wyniku którego komórki nabłonka nabywają charakteru mezenchymalnego – zmienia się ich morfologia, zanikają oddziaływania międzykomórkowe, komórki tracą kontakt z błoną podstawną i nabywają zdolność do migracji. Uważa się, że proces ten ma kluczowe znaczenie w progresji nowotworowej i warunkuje zdolność komórek nowotworowych do tworzenia przerzutów [4]. W NSCLC najlepiej poznanymi regulatorami EMT są czynniki transkrypcyjne SNAIL1, SLUG i Twist1 [4]. Wpływ SATB1 na przebieg EMT w tego typu nowotworach wciąż jest jednak niejasny.

Celem projektu było sprawdzenie, czy w materiale klinicznym NSCLC występuje korelacja pomiędzy ekspresją SATB1 i markerów EMT, a także, czy indukcja EMT w liniach komórkowych wpływa w zauważalny sposób na ekspresję SATB1.

2. Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły fragmenty guzów pobrane śródoperacyjnie od 277 pacjentów z NSCLC (SCC i AC), a także linie komórkowe NCI-H1703 (SCC) i A549 (AC). Na materiale tkankowym przeprowadzono reakcje immunohistochemiczne celem określenia ekspresji białek SATB1, SLUG, SNAIL, Twist1, E-kadheryny i N-kadheryny. Ocenę reakcji przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania QuantCenter (3DHistech).

Linie komórkowe NSCLC traktowano białkiem TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) w celu indukcji EMT w warunkach *in vitro* i sprawdzenia, jak wpłynie to na ekspresję SATB1. Przebieg EMT monitorowany był poprzez oznaczenie ekspresji mRNA dla genów kodujących białka SLUG, SNAIL, Twist1, E-kadherynę i N-kadherynę. Oznaczenia te wykonywano metodą Real Time PCR. Ekspresja mRNA dla genu *SATB1* w próbkach poddanych indukcji EMT oznaczana była metodą Droplet Digital PCR.

3. Wyniki

W badanym materiale tkankowym zaobserwowano istotną statystycznie, dodatnią korelację pomiędzy ekspresją białka SATB1 a ekspresją markerów EMT: białek SLUG, SNAIL i Twist1. Była ona szczególnie wyraźna w rakach płaskonabłonkowych (SCC). Ponadto, w badanych liniach komórkowych po indukcji EMT widoczny był istotny wzrost ekspresji genu *SATB1*.

4. Dyskusja

Uzyskane wyniki mogą sugerować udział białka SATB1 w proces EMT w niedrobnokomórkowych rakach płuc.

Projekt finansowany w ramach działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Projekt dla Młodych Naukowców, nr projektu STM.A110.17.023).

Piśmiennictwo

- [1] Travis W.D. et al., "The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification," *J. Thorac. Oncol.*, vol. 10, no. 9, pp. 1243–1260, 2015.
- [2] Wang S. et al., "Poor prognosis and SATB1 overexpression in solid tumors: a meta-analysis," *Cancer Manag. Res.*, vol. 10, pp. 1471–1478, 2018.
- [3] Kohwi-Shigematsu T., Poterlowicz K., Ordinario E., Han J.-H., Botchkarev V.A., and Kohwi Y., "Genome organizing function of SATB1 in tumor progression," *Semin. Cancer Biol.*, vol. 23, no. 2, pp. 72–9, Apr. 2013.

Narzędzia numeryczne w projektowaniu nowoczesnych antyseptyków

Beata Hanus-Lorenz¹, Dominik Drabik¹, Mateusz Rzycki²,
Sebastian Kraszewski¹

¹ MED. Lab, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wroclawska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, Poland

² Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wroclawska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, Poland

Słowa kluczowe: mechanika błon, substancje antybakteryjne, patogeny antybiotykooporne, QSAR

1. Wstęp

Środki zwalczające patogenne drobnoustroje są niewątpliwie jednym z największych wynalazków współczesnej medycyny. Dzięki postępowi metod w dziedzinie skutecznej eliminacji bakterii, możliwe było znaczne ograniczenie śmiertelności z powodu zakażeń i infekcji bakteryjnych. Pierwsze spostrzeżenia na temat hamowania proliferacji mikroorganizmów rozpoczęły się dzięki pracy Paula Ehrlinga na początku XX wieku. Od tego czasu odkryto mechanizm działania wielu cząsteczek antybakteryjnych. Ich upowszechnienie i nadmierne stosowanie w wielu dziedzinach (nie tylko medycyna i ochrona zdrowia człowieka, ale również hodowle przemysłowe zwierząt) spowodowały, że na przestrzeni kilkudziesięciu lat utraciły swoją wysoką skuteczność, z powodu modyfikacji szlaków metabolicznych lub zmian w procesach molekularnych. Bakterie patogenne stały się coraz bardziej odporne na antybiotyki. Wśród nich doszło do szybkiej ewolucji szczepów opornych na wiele antybiotyków [1]. Rosnące zainteresowanie wykorzystaniem naturalnie występujących peptydów przeciwdrobnoustrojowych, flawonoidów a nawet detergentów daje szansę na nowatorskie stosowanie ich przeciw opornym szczepom drobnoustrojów [2, 3]. W klasycznych terapiach antybakteryjnych celem molekularnym są pojedyncze białka/enzymy bakterii. Tymczasem w obecnym podejściu celem jest błona lipidowa, ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływań molekularnych o właściwościach powodujących zmiany w mechanice błony komórkowej bakterii.

2. Materiał i metody

Przy pomocy narzędzia online CHARMM-GUI utworzono molekularny model błony bakteryjnej składający się z 3 rodzajów lipidów (80% PE, 15% PG, 5% CL), który następnie ewaluowano w funkcji czasu przy użyciu programu NAMD 2.13 do symulacji dynamiki molekularnej. Następnie z otrzymanej trajektorii wyekstrahowano 20'000 konfiguracji, które zostały wykorzystane do określenia powinowactwa energetycznego

wybranych substancji antybakteryjnych (m.in. chlorheksydyna, oktenidyna, triclosan, detergenty typu gemini), przy użyciu metody masywnego dokowania molekularnego (ang. Enhanced Molecular Docking, EMD) z wykorzystaniem programu Autodock Vina. Ostatecznie wykonano analizę poszukiwania ilościowych relacji struktura-funkcja (ang. Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR) na dostępnych danych eksperymentalnych, wynikach powinowactwa energetycznego z EMD, parametrach makroskopowych zgodnych z Regułą 5ciu (CMC – critical micelle concentration, pKa, log P, TPSA – topological polar surface area) oraz kombinacji 438 parametrów kwantowych przy użyciu oprogramowania SCIGRESS 3.3.3.

3. Wyniki

Wykorzystując zestaw dobrze znanych środków antyseptycznych, między nimi oktenidyny, chlorheksydyny, triclosanu oraz detergentów typu gemini, uzyskano wyniki potwierdzające nowatorską metodę numeryczną do szybkiego przewidywania własności antybakteryjnych nowych molekuł. Raport z analiz QSAR wyraźnie wskazuje na wysoką korelację wskaźników pochodzącą ze zrównoważonego balansu obecności czwartorzędowych naładowanych grup amoniowych (ang. Quaternary Ammonium Compounds, QAC) w stosunku do całkowitej masy cząsteczki. Obdarzone ładunkiem podwójne cząsteczki QAC typu gemini wykazują zwiększoną efektywność antybakteryjną, jednakże nie można jednoznacznie określić udziału długości łańcuchów bocznych tych surfaktantów, wbrew temu co sugerują niektórzy autorzy.

4. Dyskusja

Do przygotowania nowego podejścia zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w zakresie opracowywania nowoczesnych narzędzi informatycznych w unikalny sposób wykorzystano narzędzia numeryczne do symulacji molekularnych. Jednym z najbardziej obiecujących podejść jest stworzenie cząsteczki, która selektywnie doprowadzi do głębokiej destabilizacji błony bakteryjnej przez zmianę jej właściwości mechanicznych. Komórka ma niewielką możliwość tworzenia odporności na taki atak, jednakże konieczny jest szybki screening parametrów, które mogłyby wskazywać na skuteczność proponowanego antyseptyka destabilizującego błonę lipidową bakterii. Istnieją wskazania literaturowe, że pewne oddziaływania cząstka/dwuwarstwa lub lokalizacja cząstki w dwuwarstwie może być takim parametrem [4]. Eliminuje to możliwość masowego bezpośredniego porównywania różnych cząsteczek, stanowiąc podstawę metody wysokowydajnych badań przesiewowych (HTS), i wymaga nowego podejścia uwzględniającego właściwości testowanej cząsteczki, pochodzące z obliczeń mechaniki kwantowej (QM), z ulepszonej analizy masowego dokowania (EMD) oraz z poszukiwania ilościowych relacji struktura-funkcja (QSAR). Dzięki zaproponowanej procedurze szybka klasyfikacja własności molekuł daje nadzieję na szczegółowe zrozumienie mechanizmów molekularnych rządzących selektywnością i destabilizacją błony komórkowej co bezpośrednio przekłada się na rozwój zoptymalizowanych cząsteczek o wysoce wyspecjalizowanych właściwościach antyseptycznych skutecznych wobec multioopornych bakterii.

Praca została wykonana dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki (numer grantu 2015/19/B/NZ7/02380), a obliczenia przeprowadzono przy użyciu zasobów udostępnionych przez Wrocławskie Centrum Sieciowo-Superkomputerowe (<http://wcss.pl>), grant nr 274.

Piśmiennictwo

- [1] Tan, Y.-T., D.J. Tillett, and I.A. McKay, Molecular strategies for overcoming antibiotic resistance in bacteria. *Molecular Medicine Today*, 2000. 6: p. 309–314.
- [2] Bocchinfuso, G., et al., Different mechanisms of action of antimicrobial peptides: insights from fluorescent spectroscopy experiments and molecular dynamics simulations. *Journal of Peptide Science*, 2009. 15(9): p. 550–558.
- [3] Cushnie, T.P. and A.J. Lamb, Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavanoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2011. 38(2): p. 99–107.
- [4] Lopez, C.F., et al., Probing Membrane Insertion Activity of Antimicrobial Polymers via Coarse-Grain Molecular Dynamics. *Journal of Theory and Computation*, 2006. 2: p. 649–655.

Rola reszty glutaminianu (β 2E155) znajdującej się w miejscu wiązania agonisty receptora GABAA w mechanizmie aktywacji tego receptora

Magdalena Jatczak-Śliwa^{1, 2}, Magdalena Kisiel¹, Marta M. Czyżewska¹,
Marek Brodzki^{1, 2}, Jerzy W. Mozrzymas^{1, 2}

¹ Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra Biofizyki, Laboratorium Neurobiologii

² Uniwersytet Wrocławski, Katedra Fizjologii i Neurobiologii Molekularnej

Słowa kluczowe: receptor GABAA, preaktywacja, patch-clamp, elektrofizjologia

1. Wstęp

Receptor GABAA odgrywa kluczową rolę w transmisji hamującej w mózgu dorosłych ssaków. Wiele ważnych farmakologicznie substancji oddziałuje z receptorem GABAA (beznodiazepiny, barbiturany, anestetyki, neurosteroidy). Miejsce wiązania dla agonisty (kwasu γ -aminomasłowego – GABA) w receptorze znajduje się na styku podjednostek α i β . Co ciekawe, usytuowane jest ono w odległości aż 5nm od poru kanału – miejsca, w którym usytuowana jest tzw. bramka kanału. Mimo tak dużej odległości, reszty aminokwasowe znajdujące się w tzw. kasetce hydrofobowej miejsca wiążącego, biorąc udział w wiązaniu agonisty, mogą mieć również wpływ na dalsze etapy aktywacji receptora [1]. Glutaminian 155, zlokalizowany na podjednostce β 2, bezpośrednio oddziałuje z agonistą w trakcie wiązania [2]. Dodatkowo wcześniejsze badania sugerują, że może on być zaangażowany także w kolejne etapy aktywacji receptora [3]. Prezentowane przez nas badania wskazują, że E155 odgrywa kluczową rolę w procesie wiązania i preaktywacji (etapu poprzedzającego otwarcie kanału) receptora.

2. Materiał i metody

Wykorzystując technikę pomiarów elektrofizjologicznych patch-clamp z systemem ultraszybkiej perfuzji roztworów oraz wolniejszym systemem wymiany BioLogic, przeprowadzono badania aktywności makroskopowej, a także pojedynczych kanałów, rekombinowanych natywnych i zmutowanych receptorów GABAA (α 1 β 2 γ 2L i α 1 β 2E155 γ 2L), ekspresjonowanych w, uprzednio transfekowanych metodą wytrącania fosforanów wapnia lub przy użyciu czynnika transfekcyjnego FuGene, komórkach linii HEK293. Prądy płynące przez kanały rejestrowano za pomocą wzmacniacza Axopatch 200B (Molecular Devices). Przebiegi filtrowano przy 10kHz z próbkowaniem 100kHz używając karty akwizycyjnej Digidata 1440 (Molecular Devices). Do analizy otrzymanych danych pomiarów makroskopowych wykorzystano program Clampfit 10.3 (Molecular Devices), a w przypadku pomiarów mikroskopowych – oprogramo-

wanie SCAN i EKDIST (udostępnione przez prof. David Colquhoun, DCWinprogs). Symulacje modelistyczne przeprowadzono wykorzystując program Channel Lab (Synaptosoft) dla danych makroskopowych oraz program HJCFit (DCWinprogs) dla danych aktywności pojedynczych kanałów.

3. Wyniki

Analiza prądów makroskopowych pokazuje, że mutacja reszty E155 powoduje mocne przesunięcie w prawo krzywej dawka-odpowiedź dla podania agonisty GABA, w porównaniu do receptora natywnego. Dodatkowo, pod wpływem mutacji zmienia się kinetyka prądów wywołanych przez wysokie stężenia GABA – istotnie redukuje się szybka składowa desensytyzacji oraz przyspiesza deaktywacja. Niestecjonarna analiza wariancji wskazuje na zmniejszone maksymalne prawdopodobieństwo otwarcia receptorów zmutowanych w porównaniu do natywnych, jednocześnie nie zmienia się przewodnictwo pojedynczego kanału, co potwierdziły również wyniki pomiarów mikroskopowych. Mutacja E155 powoduje również istotne wzmocnienie spontanicznej aktywności receptora GABAA. Ponadto, musymol (MSC – inny agonista receptora) generuje bardzo duże zwiększenie amplitudy prądów w porównaniu do aplikacji GABA, co wskazuje na efekt superagonizmu dla receptorów zmutowanych. Badania wpływu mutacji na modulację receptora przez flurazepam (FLU) wskazują na istotne zwiększenie amplitudy prądów, przyspieszenie desensytyzacji i spowolnienie deaktywacji pod wpływem modulatora. Wszystkie powyższe analizy sugerują, że E155 może być zaangażowana w procesy wiązania i bramkowania receptora GABAA. Symulacje modelistyczne danych makroskopowych pokazują, że mutacja E155 mocno upośledza proces wiązania agonisty, a także spowalnia wejście receptora w stan preaktywacji. Dodatkowo, pomiary aktywności pojedynczych kanałów wskazują na wydłużenie i zmniejszenie udziału procentowego drugiej składowej w rozkładzie czasów zamkniętych podczas aplikacji GABA dla receptorów zmutowanych w porównaniu do natywnych. Efekt ten zanika, gdy jako agonistę użyjemy muscimolu. Dopasowanie otrzymanych mikroskopowych danych eksperymentalnych do modelu kinetycznego aktywacji receptora potwierdza, obserwowany w przypadku makroskopowych symulacji, wpływ mutacji na etap preaktywacji.

4. Dyskusja

Zastosowane przez nas protokoły pomiarów makroskopowych oraz analiza aktywności pojedynczych kanałów zgodnie wskazują, że reszta E155 zaangażowana jest w proces wiązania agonisty oraz preaktywację receptora GABAA. Eksperymenty wykorzystujące aplikację MSC jako agonisty, jak również zbadanie modulacji zmutowanego receptora przez FLU dodatkowo potwierdziły nasze wnioski, że mutacja ta faktycznie zmienia kinetykę przejścia receptora do stanu preaktywacji.

Piśmiennictwo

- [1] Szczot, M., Kisiel, M., Czyżewska, M.M. i Mozrzyk, J.W., 2014. α 1F64 Residue at GABAA Receptor Binding Site Is Involved in Gating by Influencing the Receptor Flipping Transitions. *The Journal of Neuroscience*, 34(9), str. 3193–209.
- [2] Cromer, B.A., Morton, C.J. i Parker, M.W., 2002. Anxiety over GABA(A) receptor structure relieved by AChBP. *Trends in Biochemical Sciences*, June, 27(6), str. 280–7.
- [3] Newell, J.G., McDevitt, R.A. & Czajkowski, C., 2004. Mutation of glutamate 155 of the GABA receptor beta2 subunit produces a spontaneously open channel: a trigger for channel activation. *The Journal of Neuroscience*, 24(50), str. 11226–11235.

Analiza efektów ubocznych terapii przeciwnowotworowej u psów i kotów ze szczególnym uwzględnieniem kardiotoksyczności doksorubicyny

Karolina Kapturska¹, Agnieszka Noszczyk-Nowak²

¹ Studenckie Koło Naukowe Medyków Weterynaryjnych „Chiron”,
karolina.a.kapturska@gmail.com

² Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, agnieszka.noszczyk-nowak@upwr.edu.pl

Słowa kluczowe: chemioterapia, kardiotoksyczność, doksorubicyna

1. Wstęp

Antybiotyki antracyklinowe stanowią podstawę większości protokołów terapeutycznych w chemioterapii. Leki te posiadają wiele działań niepożądanych (adverse events, AE), do których prócz supresji szpiku, objawów gastrycznych i zmian skórnych zalicza się dawkozależną kardiotoksyczność ostrą (zaburzenia rytmu) i przewlekłą (zmiany ultrastrukturalne mięśnia sercowego) [1, 2]. Cechy dysfunkcji skurczowej obserwowano u psów po przyjęciu dawki kumulacyjnej doksorubicyny $> 150 \text{ mg/m}^2$, a nawet niższej [1]. Dawka progowa dla kardiotoksyczności epirubicyny jest ponad dwukrotnie wyższa [2].

2. Materiał i metody

Przeprowadzono analizę retrospektywną dokumentacji medycznej 420 psów i 112 kotów poddanych chemioterapii w latach 2005-2018, w prywatnej praktyce lekarsko-weterynaryjnej na terenie Wrocławia. Psy podzielono na 4 podgrupy: DOX-EPI ($n = 17$, 4–15 lat), DOX ($n = 192$, 1–15 lat), EPI ($n = 20$, 1–12 lat) i NON ($n = 191$, 0,75–14 lat), a koty na 2 podgrupy: DOX ($n = 15$, 4–14 lat) i NON ($n = 97$, 0,3–17 lat). W grupie DOX-EPI psy przyjmowały zarówno doksorubicynę jak i epirubicynę (wśród innych leków cytostatycznych), w grupach DOX psy i koty otrzymywały doksorubicynę bez epirubicyny, psy w grupie EPI – epirubicynę bez doksorubicyny, natomiast grupy NON obu gatunków nie przyjmowały antracyklin. Oceniano rasę, wiek, masę ciała, strukturę płci, rozpoznanie, czas trwania terapii, zastosowane leki i ich dawki kumulacyjne wraz z występującymi podczas ich stosowania AE. Wyniki analiz porównano pomiędzy grupami za pomocą testów statystycznych na poziomie istotności $p < 0,05$, przy użyciu oprogramowania GraphPad Prism 5.01 (USA, 2007).

3. Wyniki

W grupie badanej znalazło się 420 psów i 112 kotów w wieku od 4 miesięcy do 17 lat (Me wieku psów – 8 lat, kotów – 7 lat) o masie ciała od 1,5 do 88 kg (Me 25,5 kg). W grupie psów dominowały samce (55,48%), wśród kotów – samice (73,45%). Najczęściej występowały psy rasy mieszanej (22,14% psów) i koty europejskie (79,65% kotów). Dominującym nowotworem był chłoniak (> 81,% rozpoznań u obu gatunków). Średni czas trwania terapii psów wynosił 18,72 tyg., z Me równą 12 tyg., w przedziale od 1 (19,05%) do 177 tyg. (0,24%), kotów – 11,61 tyg. z Me równą 5 tygodni, w przedziale od 1 (20,69%) do 133 tyg. (0,86%). AE wystąpiły u 225 psów i 37 kotów. Najczęściej występowała apatia (odpowiednio 84,88% psów; 70,27% kotów z AE), brak apetytu (54,22%; 45,95%), biegunka (40,88%; 8,10%), wymioty (38,22%; 37,84%) i gorączka (26,22%; 45,95%). Podgrupy psów były zbliżone pod względem masy ciała, wieku, struktury płci, jednak wśród kotów w grupie DOX znalazły się osobniki istotnie statystycznie starsze niż w grupie NON. Czas terapii był istotnie dłuższy u psów przyjmujących antracykliny. Psy przyjmujące dokсорubicynę lub dokсорubicynę z epirubicyną wykazywały wyższy odsetek powikłań (apatia, brak apetytu, biegunka) niż psy w grupie NON, natomiast w grupie EPI odsetek ten był zbliżony. Zastosowanie epirubicyny bez dokсорubicyny istotnie zmniejsza ryzyko wystąpienia wymiotów ($p = 0,0036$). Wysokość dawki kumulacyjnej antracyklin nie wpływa na zwiększenie częstości występowania AE. U kotów nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w częstości występowania AE pomiędzy grupami. Powikłania kardiologiczne (spadek frakcji skracania – FS, zwiększenie rozmiaru końcoworozkurczowego lewej komory serca, nagłe zejścia śmiertelne) i gorączka występowały ze zbliżoną częstością w każdej z podgrup psów. Dawkę progową dla kardiotoxyczności dokсорubicyny (> 150 mg/m²) przyjęły 32 psy i 1 kot. Objawy z układu sercowo-naczyniowego odnotowano u 10 psów (2,38%): 3 przypadki nagłej śmierci i 7 przypadków dysfunkcji skurczowej lewej komory z FS < 25%, natomiast w grupie kotów nie odnotowano objawów kardiotoxyczności.

4. Dyskusja

W zależności od zastosowanego protokołu chemioterapii oraz kryteriów dla AE, powikłań doświadcza od 25 do 89% pacjentów. Jedynie w 3–24% są to stany zagrażające życiu i/lub wymagające hospitalizacji [2–5]. U naszych pacjentów odnotowano dość wysoki odsetek AE jednak były to głównie łagodne objawy gastryczne, występujące z częstością zbliżoną do notowanej u poprzednich autorów [3]. Wyniki badań potwierdziły również doniesienia o zwiększonym ryzyku występowania objawów gastrycznych u pacjentów leczonych antracyklinami [2, 3]. Psy z objawami kardiologicznymi stanowiły niski odsetek grupy badanej. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy częstością ich występowania a zastosowanym leczeniem, a nawet dawką antracyklin, choć objawy te notowane były u 8–64% psów przyjmujących antracykliny [1, 2, 6]. Rzadko dochodzi do manifestacji klinicznej subtelnych zmian ultrastruktury kardiomiocytów, a zgodnie z obecnym stanem wiedzy zastoinowa niewydolność serca rozwija się u < 2,5% pacjentów leczonych dokсорubicyną [1, 6]. Brak jest doniesień o rozwoju niewydolności serca spowodowanej zastosowaniem epirubicyny, bez udziału dokсорubicyny w protokole terapeutycznym [2]. Przepuszczalnie przyczyną nagłej śmierci 3 psów była ostra

reakcja anafilaktyczna, niezwiązana z kardiotoxycnością antracyklin. Pacjenci weterynaryjni rzadko otrzymują dawkę doksorubicyny powyżej progu kardiotoxycności. Protokoły nie zawierające antracyklin cechują się mniejszą skutecznością, prawie dwukrotnie większym ryzykiem wznowy i zgonu oraz krótszym czasem przeżycia [4].

Wykonano w ramach MIEJSKI PROGRAM WSPARCIA PARTNERSTWA SZKOLNICTWA WYŻSZEGO I NAUKI ORAZ SEKTORA AKTYWNOŚCI GOSPODARCZEJ „MOZART” VII edycja.

Ocena recyprokalności płodowych zatok opony twardej

Alicja Kędzia¹, Emilia Kędzia², Wojciech Kędzia³,
Wojciech Derkowski⁴

¹ Zakład Anatomii Prawidłowej UM Wrocław

² Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii UM Wrocław

³ Niepubliczna Wyższa Szkoła Medyczna we Wrocławiu

⁴ Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu

Słowa kluczowe: zatoki opony twardej, płód, recyprokalność

1. Wstęp

Problem recyprokalności zatok opony twardej w okresie prenatalnym nie był poruszany w piśmiennictwie. Okres prenatalny jest słabo poznany, większość badań związana jest z USG, angio-TK głowy. Uwagę zwraca wpływ na zmienność morfologiczną przetrwałych różnych elementów płodowych w wieku dojrzałym [1]. Zmienność formy i topografii ma ważne znaczenie diagnostyczne i kliniczne [4].

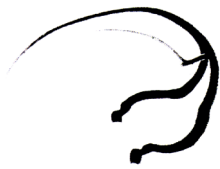
2. Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło 50 płodów od IV do VII miesiąca (kolekcja Zakładu Anatomii Prawidłowej lata 70–80 ubiegłego stulecia). Metody preparacyjna, iniekcyjna, syntetyczny lateks LBS 3022, komputerowa analiza obrazu, metoda Pickwortha.

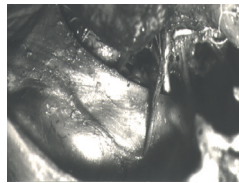
3. Wyniki

Recyprokalność tj. wzajemne oddziaływanie i nakładanie się obszarów naczyniowych, w przypadku słabszego rozwoju dorzecza naczyniowego jednej zatoki następuje silniejsze wykształcenie się innego obszaru naczyniowego. Zatoki opony twardej w okresie prenatalnym znacznie różnią się od wieku dojrzałego. W badaniach własnych obserwowano w okresie trzeciego i czwartego miesiąca specyficzny wygląd zatoki strzałkowej górnej (s.s.s.). Przypominała ona odwróconą literę Y, łączyła się z zatoką poprzeczną za pomocą żył brzeżnych „venae marginales”, termin wprowadzony przez [2, 3]. W pierwszych czterech miesiącach okresu płodowego zatoka strzałkowa górna jest rozwinięta słabo, odgrywa drugorzędą rolę w porównaniu z dużą zatoką poprzeczną i namiotową. Rolę zastępczego rejonu stanowiła zatoka namiotowa (s.t.) zlokalizowana w dole środkowym czaszki, łączy żyły okolicy wyspy z zatoką poprzeczną, dominował odpływ w kierunku podstawy mózgu. W miarę wzrostu mózgu i zmiany położenia zatoki poprzecznej, na bardziej przyśrodkowej, zatoka namiotowa zaczyna się

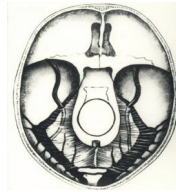
wyprostowywać i traci esowate wygięcia. Z jej przedniego odcinka wytwarza się zatoka klinowo-ciemieniowa, a zanika tylny odcinek. W piątym i szóstym miesiącu zatoka strzałkowa górna ma już morfologię bardzo podobną do okresu dojrzałego. Obserwano jednak duże indywidualne wahania, a stopień wykształcenia się zatoki strzałkowej górnej był lepszy u niektórych młodszych płodów niż u starszych. Połączenie się obu żył brzeżnych daje znaczny wzrost szerokości zatoki strzałkowej górnej w tylnym jej odcinku. Zatoka poprzeczna należy do najsilniej rozwiniętych zatok w okresie płodowym. U płodów młodszych w trzecim, czwartym i piątym miesiącu zwraca uwagę znaczna jej szerokość zajmująca 1/2 lub 1/3 dołu tylnego czaszki. Podczas rozwoju wykonuje zwrot przyjmując ostateczne z pionowego ułożenie poprzeczne. Jest miejscem spływu „zatoki namiotowej” wg [2–4]. Często jest rozwinięta niesymetrycznie, ze znaczną przewagą prawej strony. Zatoki potyliczne spełniają u płodu ważną rolę, łączą



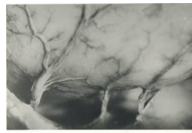
Schemat
tworzenia się s.s.s.



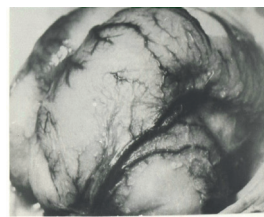
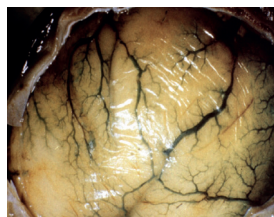
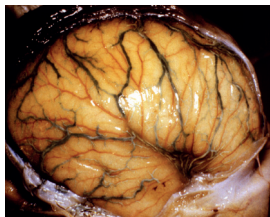
Zatoka namiotowa
(s.t.)



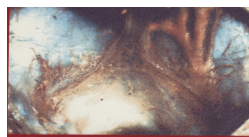
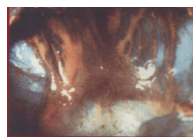
Schemat s.t.



Dorzecze naczyniowe s.t.



Boczna powierzchnia mózgu VI miesiąc życia prenatalnego



Typy zatoki potylicznej: symetryczny,
asymetryczny

dół tylny czaszki ze zlewiskiem zatok i żyłami spłotów kręgowych. Zatoka potyliczna zbiera krew ze spłotu potylicznego, występowały różne typy: symetryczny: 45%, drugi typ asymetryczny w 30%, typ – siatkowaty w 5%. Te żyłne kanały szybko ulegają regresji po piątym i szóstym miesiącu życia płodowego. Wzrost mózgu wywołuje szereg zmian dotyczących płodowych zatok. Część z nich zanika, lub pozostają niektóre jej fragmenty [4].

4. Dyskusja

Niektóre zatoki płodowe mogą przetrwać do wieku dojrzałego. Mizutani i inni opisują w badaniach neuroobrazowych przetrwałe trzy embrionalne zatoki: namiotową, potyliczną i sierpu. Ich znajomość pozwala na zrozumienie wielu wariantów morfologicznych, wpływu na zmienność morfologii i topografii zatok, co jest pomocne w interwencji pediatrycznej, neuroradiologów interwencyjnych i neurochirurgów prenatalnych [1]. Okres prenatalny jest trudny do badania z uwagi na brak materiału, jak i luki w piśmiennictwie. W trakcie życia płodowego zmienia się morfologia zatok, związane to jest ze wzrostem czaszki i mózgu, rozwojem wypustek opony twardej. Uwagę zwraca wielokierunkowość dróg odpływu krwi, wieloetapowość rozwoju [4].

Piśmiennictwo

- [1] Mizutani K. et al. Fate of the three embryonic dural sinuses in infants: the primitive tentorial sinus, occipital sinus, and falcine sinus *Neuroradiology*. 2018. Volume 60, Issue 3, pp 325–333.
- [2] Markowski J.: *Entwicklung der sinus durae matris und der Hirnvenen des Menschen. 1. Teil Embryonen aus dem 2 und 3. Monate unter Teilweiser Berücksichtigung von 4–7 monatlichen Foeten. Bull. International de l'Acad. Pol. des Sciences et des Lettres Suppl. Imprimerie de l, Universite Cracovie 1922.*
- [3] Paget D.H.: The cranial venous system in man in references to development, adult configuration and relation to the arteries. *Am J. Anat* 1956, 98: 307–355.
- [4] Kędzia A.: *Układ żylny mózgu człowieka i jego znaczenie kliniczne*, Wrocław: Urban & Partner, 2004, 198 str.

Mechaniczne uwarunkowania procesu przenoszenia obciążeń przez ściany naczyń krwionośnych

Magdalena Kobielarz¹, Agnieszka Chwiłkowska²

¹ Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska

² Katedra i Zakład Biologii Molekularnej i Komórkowej, Wydział Farmaceutyczny z O. Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Słowa kluczowe: tętnice, właściwości mechaniczne, tętniaki, włókna, kolagen, elastyna, komórki mięśni gładkich, patologiczna przebudowa

1. Wstęp

Głównymi komponentami nośnymi w strukturze ścian naczyń krwionośnych są (1) włókna kolagenowe i elastynowe, które odpowiadają za bierne właściwości mechaniczne tej struktury i (2) komórki mięśni gładkich, które są odpowiedzialne za aktywną odpowiedź ściany na bodziec mechaniczny. Degradacja tych komponentów strukturalnych prowadzi do zaburzeń w procesie przenoszenia obciążeń mechanicznych przez zdegenerowaną ścianę naczyń krwionośnych. Zdolności ścian tętniaków czy ścian naczyń krwionośnych zmienionych miażdżycowo do przenoszenia obciążeń mechanicznych uwarunkowana jest przez udział biernych i aktywnych elementów przenoszących obciążenia mechaniczne. Zdolność każdego materiału, w tym materiałów biologicznych, do przenoszenia obciążeń można ocenić na podstawie analizy jego właściwości mechanicznych.

2. Materiał i metody

Badania właściwości mechanicznych przeprowadzono dla ścian pełnej grubości, a także dla odseparowanych od siebie warstw (intima, media, przydanka) budujących ścianę aorty. Badania właściwości mechanicznych wykonano dla dwóch kierunków: obwodowego oraz wzdłużnego, zdefiniowanych względem długiej osi naczynia. Testy przeprowadzono na maszynach wytrzymałościowych dla próbek prostopadłościennych rozciąganych z prędkością 4 mm/min. Prędkość odkształcania próbek dobrano na podstawie badań wstępnych dla ścian zdrowych aort brzusznych, gdzie testowano dodatkowo prędkość: 2 mm/min oraz 10 mm/min. Wykazano nieznaczące zróżnicowanie przebiegu charakterystyk naprężenie–odkształcenie dla obu skrajnych prędkości, przy czym nie odnotowano istotnych różnic w wartościach wyznaczanych parametrów mechanicznych. Etap rozciągania aż do zniszczenia poprzedzony był procesem wstępnego, cyklicznego kondycjonowania próbek, który polega na ich cyklicznym obciążaniu i odciążaniu. Na etapie badań wstępnych wykazano, że próbki pozbawione wstępnego

kondycjonowania charakteryzowały się wyższym modułem sprężystości o nawet 30–60% (w zależności od stanu funkcjonalnego tkanki). Dla wszystkich przebadanych przypadków uzyskano nieliniowe charakterystyki naprężenie-odkształcenie (odkształcenia Green'a oraz naprężenia Cauchy'ego) i na ich podstawie wyznaczono podstawowe parametry mechaniczne, takie jak wytrzymałość na rozciąganie (σ_{\max}), odkształcenie maksymalne (ε_{\max}) oraz moduł sprężystości (E). Badania budowy strukturalnej przeprowadzono dla ścian tętniaków i ścian zdrowych aort w płaszczyźnie przekroju poprzecznego stosując techniki histochemiczne (barwienie hematoksyliną i eozyną) oraz immunohistochemiczne, za pomocą których znakowano elastynę (przeciwciałem: H-300, Sc25736, Santa Cruz), kolagen typu I (przeciwciałem: COL 1A1 (D-13), Sc-25974, Santa Cruz), α -aktynę (przeciwciałem: HHF35, ab7813, Abcam) oraz kolagen typu IV (przeciwciałem: COL-94, C1926, Sigma-Aldrich). Ponadto, zawartość elastyny (H-300, Sc25736, Santa Cruz) i kolagenu typu I (COL-1, MA1-26771, Thermo Scientific) oznaczana była na podstawie ilościowych badań biochemicznych ELISA.

3. Wyniki

Badania właściwości mechanicznych ścian pełnej grubości wykonano zarówno dla tętniaków, jak i aort bez zmian patologicznych, które zostały pobrane śródsekcyjnie i które przechowywano w roztworze soli fizjologicznej. Ze względu na anizotropowe właściwości ścian naczyń krwionośnych wykonano badania próbek w kierunku obwodowym i wzdłużnym. Dla próbek ścian tętniaków w kierunku obwodowym uzyskano istotne obniżenie wartości wytrzymałości na rozciąganie w porównaniu do zdrowych aort ($0,38 \pm 0,19$ MPa vs. $0,96 \pm 0,45$ MPa, $p < 0,01$), a dla kierunku wzdłużnego redukcja wartości tego parametru była nieznaczna ($0,40 \pm 0,29$ MPa vs. $0,49 \pm 0,24$ MPa). Moduł sprężystości dla ścian tętniaków jest niższy w porównaniu do zdrowych naczyń dla kierunku obwodowego o $\sim 30\%$ ($10,17 \pm 7,64$ MPa vs. $14,21 \pm 5,3$ MPa, $p < 0,05$) i o $\sim 20\%$ dla kierunku wzdłużnego ($9,56 \pm 5,54$ MPa vs. $11,57 \pm 4,34$ MPa). Z punktu widzenia procesu przenoszenia obciążeń mechanicznych ściana tętniaka charakteryzuje się gorszymi parametrami mechanicznymi, tj. niską wytrzymałością, szczególnie w kierunku obwodowym i większą podatnością na odkształcenia. Ponadto, charakterystyczne dla zdrowego naczynia silne anizotropowe właściwości mechaniczne, dla ścian tętniaków zanikają; struktura charakteryzuje się izotropią właściwości mechanicznych. Na podstawie analizy korelacji rangowej Spearmana odnotowano, że im wyższy stopień degeneracji ściany tętniaka związany z ubytkiem kolagenu typu I (poziomo wyznaczone metodą ELISA) tym niższa wytrzymałość mechaniczna ($r = 0,73$, $p < 0,05$) i nieznacznie niższy moduł sprężystości ($r = 0,39$, $p > 0,05$). Oznacza to, że w przypadku tętniaków, wraz ze stopniową redukcją zawartości kolagenu typu I w ścianach dochodzi do obniżenia zdolności nośnych tętniaka i zaniku anizotropii właściwości mechanicznych.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/D/ST8/04007.

Wpływ składników diety na procesy tlenowe zachodzące w mitochondriach płytek krwi u młodych prosiąt

Paweł Kowalczyk¹, Karolina Ferenc², Romuald Zabielski², Beata Cieślak³

¹ Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Zakład Żywienia Zwierząt ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna e-mail: p.kowalczyk@ifzz.pl

² Wydział Medycyny Weterynaryjnej. Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

³ Labsoft, sp. z o.o., ul. Puławska 469, 02-844 Warszawa

Słowa kluczowe: jugry, stres oksydacyjny, naprawa DNA

1. Wstęp

Tlen cząsteczkowy jest kluczowym substratem metabolizmu tlenowego w procesie fosforylacji oksydacyjnej który służy do monitorowania utlenowania komórek, funkcjonowania mitochondriów i metabolicznych implikacji sygnalizacji komórkowej. Zaburzenie homeostazy tlenowej w komórkach prowadzi do wytworzenia reaktywnych form tlenu które utleniają tłuszcze, białka i kwasy nukleinowe. Może to prowadzić do powstawania stresu oksydacyjnego i indukcji stanów zapalnych w organizmie jak zapalenie jelitowego układu odpornościowego u młodych zwierząt. Co może spowodować biegunkę, utratę masy ciała, zapalenie nabłonka jelitowego lub opóźnione dojrzewanie prowadząc do powstawania wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i raka jelita. Jedną z metod umożliwiających pomiar poziomu wewnątrzkomórkowego stężenia tlenu cząsteczkowego w czasie rzeczywistym jest Oxygen Consumption Assay. Metoda ta pozwala na analizę gradientu stężenia tlenu cząsteczkowego w reakcjach zachodzących w pojedynczej warstwie komórek i ich zmian aktywności metabolicznej w oddychaniu komórkowym. Umożliwia również badanie stanów fizjologicznych (normoksji), niedotlenienia (hipoksji) lub nadtlwienia (hipernoksji) zawartych w mitochondriach płytek krwi ssaków pod wpływem różnych związków chemicznych o działaniu farmakologicznym.

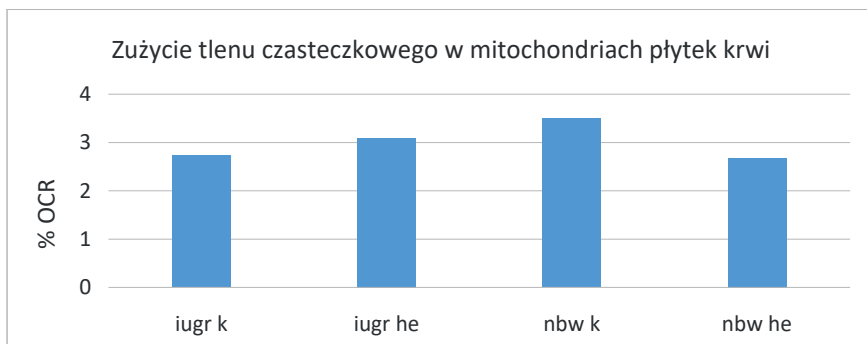
Celem pracy było zbadanie czy składniki zawarte w diecie mają wpływ na metabolizm tlenowy mitochondriów płytek krwi i naprawę utlenionych zasad u młodych prosiąt oraz jugrów. Model zastosowany w badaniach *in vivo* dotyczył noworodków prosiąt ze względu na ich zbliżone fizjologiczne i metaboliczne właściwości do noworodków innych ssaków w tym ludzi u których układy antyoksydacyjne – są słabo rozwinięte.

2. Materiał i metody

Badania były przeprowadzone na izolowanych płytkach krwi w każdej z czterech grup prosiąt po 10 sztuk oznaczonych jako iugr k, iugr he (prosięta z defektami genetycznymi) nbw k, nbw he (prosięta zdrowe), będących na diecie suplementowanej w substancje antyoksydacyjne. Do analiz użyto zestawu MitoXpressXtra (Luxcel) do fluorescencyjnego do oznaczania wewnątrzkomórkowego stężenia tlenu cząsteczkowego w zakresie długości fali o 360–660 nm wg. zaleceń producenta.

3. Wyniki

W obu analizowanych grupach zwierząt, z których izolowane były płytki krwi zawierające mitochondria zaobserwowano u kontroli iugr spadek metabolizmu tlenowego względem próby badanej (iugr he) (rys. 1.). Natomiast u normalnych prosiąt w kontroli (oznaczonych jako nbw k) zaobserwowano nieznaczny wzrost zużycia tlenu cząsteczkowego względem próby badanej (nbw he), (rys. 1). W każdej z analizowanych grup obserwowano nie jednakowe poziomy hiperoksji czy hipoksji, np. u młodych prosiąt zaobserwowano 2 normoksje i 2 hipoksje. Natomiast u jugrów zauważono 3 normoksje i 1 hipoksje. Świadczy to o tym, iż procesy te przebiegają niezwykle szybko w milisekundach a sonda MitoXpress rozpoznaje ich efekt zaistniały w komórkach. Stąd podobne poziomy hiperoksji w obu analizowanych grupach.



4. Dyskusja

Składniki diety u jugrów indukują większy wewnątrzkomórkowy stres oksydacyjny w mitochondriach płytek krwi. Prawdopodobnie jest to efektem zbyt małej podaży tlenu do mitochondrium co może powodować zaburzenia w produkcji ATP i apoptozę komórki. Jednocześnie, zwiększona ilość tlenu w mitochondrium powoduje wzrost fosforylacji oksydacyjnej, wzmożoną produkcję ATP przez co zwiększa się przepuszczalność błon komórkowych. Może to prowadzić do przedostawania się reaktywnych cząsteczek tlenu do światła komórki i zaburzenia homeostazy (rys. 1).

Analiza statystyczna zaburzeń funkcji prymarnych i artykulacyjnych w wyniku udaru mózgu

Anna Krzesińska-Nowacka¹, Alicja Kędzia², Krzysztof Dudek³,
Agata Trafalska⁴

¹ Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu,
Zamiejscowy Oddziały Rehabilitacji Neurologicznej

² Katedra i Zakład Anatomii Prawidłowej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³ Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczny

⁴ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu,
Zakład Rehabilitacji w Dysfunkcjach Narządu Ruchu

Słowa kluczowe: funkcje prymarne, artykulacja, udar mózgu

1. Wstęp

Udar mózgu dotyka 15 mln osób rocznie na całym świecie i jest najczęstszą niepełnosprawnością fizycznej [6]. Z badań prowadzonych przez M. Niewada i wsp. wynika, że z powodu udarów mózgu 15% chorych umiera w ciągu pierwszego miesiąca od zachorowania, 25% w ciągu trzech miesięcy, 60% pacjentów przeżywa i wymaga długotrwałej specjalistycznej opieki wraz z opieką neurologopedyczną włącznie [12]. Częstym powikłaniem udaru są zaburzenia czynności prymarnych, które mogą być przyczyną zaburzeń połykania oraz prawidłowej artykulacji [2, 13]. Bez prawidłowej funkcji mięśni języka i warg utrudniona jest faza ustna połykania, ale również prawidłowa artykulacja [1, 3].

Celem pracy była ocena występujących zaburzeń funkcji prymarnych i artykulacyjnych u pacjentów po udarze mózgu, przed terapią i po terapii neurologopedycznej.

2. Materiał i metody

Badaniem zostali objęci pacjenci po przebytych udarze mózgu, hospitalizowani w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Zamiejscowym Oddziale Rehabilitacji Neurologicznej. Grupę badawczą stanowiło 150 pacjentów w wieku od 22 do 93 lat, większą grupę stanowili mężczyźni 56,7%, kobiety 43,3%.

3. Wyniki

Materiał badawczy poddano analizie statystycznej w trzech grupach pacjentów z podziałem na rodzaj udaru mózgu i metodę leczenia. Grupa I: 102 pacjentów z udarem niedokrwiennym, grupa II udar krwotoczny: 33 pacjentów, grupa III – 15 pacjentów po leczeniu trombolitycznym.

Dokonując oceny motoryki aparatu artykulacyjnego stwierdzono, iż zaburzenia prakcji występowały u 95,33% badanych, po terapii przetrwały u 60% badanych. W grupie pacjentów młodszych do 70 roku życia poprawa motoryki aparatu artykulacyjnego była bardziej widoczna, niż w grupie pacjentów w wieku ponad 70 lat. Na poprawę zaburzeń prakcji wpływał czas terapii, najlepsze efekty uzyskano w drugim miesiącu terapii neurologopedycznej [7, 8]. Poprawę motoryki aparatu artykulacyjnego zdecydowanie lepszą osiągnęli pacjenci z udarem niedokrwiennym. Pacjenci z udarem krwotocznym uzyskali mniejsze efekty terapii neurologopedycznej w poprawie zaburzeń funkcji prymarnych.

4. Dyskusja

Przeprowadzone badania dowodzą że ok. 80 % badanych pacjentów miało zaburzenia aparatu artykulacyjnego. Miało to również swoje odzwierciedlenie w kwestii przyjmowania pożywienia i trudnościach z tym związanych. Podobne badania prowadzili D.P. Moraes, C. RF. Andrade. Potwierdzili, że w grupie badanych pacjentów ok. 67% dotkniętych udarem ma zaburzenia połykania, co czyni go najczęściej występującym powikłaniem w tych przypadkach [11]. Pojawiające się problemy neurologiczne, mogą utrudniać połykanie, zaburzać motorykę języka i warg, wpływać na wyrazistość mowy. Zaburzenia połykania są szczególnie niebezpieczne ze względu na możliwość aspiracji pokarmu do dróg oddechowych (krztuszenie, dławienie, zachłyśnięcie) i w konsekwencji doprowadzić do zachyłstowego zapalenia płuc, ale mogą również wpływać na niedożywienie pacjenta. Trudności w przyjmowaniu pokarmów mogą być wynikiem głębokich zaburzeń motoryki warg i języka [5, 9]. Wyniki badań wykazują, jak ważne jest prowadzenie terapii logopedycznej, która wpływa na poprawę jakości życia pacjentów przez ułatwienie przyjmowanie pokarmów, polepszenie artykulacji oraz wyrazistości mowy, co prowadzi do sprawniejszej komunikacji werbalnej pacjentów.

W świetle badania R. Dziewas i wsp. wskazane jest, aby rozpocząć terapię pacjentów z ograniczoną możliwością połykania karmionych przez PEG lub sondę nosową, jak najszybciej [4].

Wyniki rehabilitacji mowy pokazują znaczenie interwencji neurologopedycznej w usprawnianiu aparatu artykulacyjnego. Wczesna diagnoza i ukierunkowana terapia zmniejszają zarówno powikłania związane z zaburzeniami funkcji prymarnych i artykulacyjnych.

Piśmiennictwo

- [1] Bogart K., Tickle-Degnen L., Ambady N.: Communicating without the Face: Holistic Perception of Emotions of People with Facial Paralysis. *Basic Appl Soc Psych.* 2014 Jul 1;36(4):309–320.
- [2] Daniels Sk., Pathak S., Stach CB., Mohr TM., Morgan RO., Anderson JA.: Dysphagia 2015 Jul 24. *Speech Pathology Reliability for Stroke Swallowing Screening Items.*
- [3] Davis LA.: Quality of Life Issues Related to Dysphagia. *Topics in Geriatric Rehabilitation.* 2007;23(4):352–65.
- [4] Dziewas R., Warnecke T., Hamacher C., Oelenberg S., Teismann I., Kraemer C., Ritter M., Ringelstein E.B., Schaebitz W.R.: Do nasogastric tubes worsen dysphagia in patients with acute stroke. *BMC Neurol* 2008;8:28.

- [5] Gatkowska I.: *Diagnoza dyzartrii u dorosłych w neurologii klinicznej*. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego Kraków 2012.
- [6] Gomes F.C., Hookway C.E.: Weekes Royal College of Physicians Intercollegiate Stroke Working Party evidence-based guidelines for the nutritional support of patients who have had a stroke *J Hum Nutr Diet*. 2014 Apr;27(2):107–21. doi: 10.1111/jhn.12185. 2013 Nov 20.
- [7] Krześcińska-Nowacka A., Kędzia A., Dudek K.: Ocena wyrazistości mowy u pacjentów po udarach mózgu W: XXXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Anatomicznego. Katowice, 22–24 czerwca 2017. Książka streszczeń; s. 182,
- [8] Krześcińska-Nowacka A., Kędzia A., Dudek K.: Wstępna ocena skuteczności terapii neurologopedycznej u pacjentów z udarem mózgu W: *Komputerowe wspomaganie badań naukowych*. T. 22; red. Jan Zarzycki; Wrocław: Wrocławskie Towarzystwo Naukowe, 2015; s. 29–40 (Prace Wrocławskiego Towarzystwa Naukowego. Seria B; nr 221) ISBN 978-83-7374-091-4.
- [9] Krześcińska-Nowacka A., Kędzia A., Dudek K.: Zaburzenia językowe w wyniku udaru mózgu, wpływ terapii neurologopedycznej na komunikację werbalną – analiza statystyczna. W: *Komputerowe wspomaganie badań naukowych*. T. 23; red. Jan Zarzycki; Wrocław Wrocławskie Towarzystwo Naukowe, 2016; s. 57–68 (Prace Wrocławskiego Towarzystwa Naukowego. Seria B; nr 221) ISBN 978-83-7374-93-8-4.
- [10] Langhorne P., O'Donnell M.J., Chin S.L. et al. Practice patterns and outcomes after stroke across countries at different economic levels (INTERSTROKE): an international observational study. *Lancet* 2018; 391:2019.
- [11] Moraes D.P., Andrade C.R.F.: Quality indicators for integrated care of dysphagia in hospital settings. *J Soc Bras Fonoaudiol*. 2011;23(1):89–94.

Resorpcja hydrożeli na bazie alginianu sodu w sztucznym moczu

Jagoda Kurowiak, Agnieszka Kaczmarek-Pawelska, Agnieszka Mackiewicz,
Romuald Będziński

Zakład Inżynierii Biomedycznej, Wydział Mechaniczny, Uniwersytet Zielonogórski,
Licealna 9, 65-547 Zielona Góra, e-mail: j.kurowiak@ibem.uz.zgora.pl

Słowa kluczowe: bioresorpcja, alginian sodu, regeneracja tkanek

1. Wstęp

Autorzy pracy uważają, że warto podjąć się opracowania biodegradowalnego stentu dla leczenia urazów cewki moczowej na bazie alginianu sodu. Głównym powodem wyboru tego polimeru jest fakt, iż w organizmie człowieka nie występuje enzym alginaza, w związku z tym polimer charakteryzuje się wysoką biokompatybilnością w środowisku żywych tkanek, biodegradacją oraz hydrofilowością. Odpowiednio dobrane parametry przygotowania struktury chemicznej i fizycznej materiału oraz gęstości sieciowania umożliwiają uzyskanie pożądanych właściwości mechanicznych. Pozwala to na dopasowanie właściwości wytworzonego materiału hydrożelowego do wybranych struktur tkanek, celem jej regeneracji i przywróceniu częściowo lub całkowicie utraconych funkcji. Alginian sodu pozyskiwany jest z brązowych wodorostów morskich. Jest kopolimerem blokowym zawierającym bloki M kwasu mannuronowego i bloki G kwasu guluronowego. Wytwarzanie hydrożeli alginianowych, polega na oddziaływaniu najczęściej dwuwartościowymi kationami Ba^{2+} lub Ca^{2+} na bloki G alginianu, co prowadzi do rozpoczęcia procesu żelowania i formowania się hydrożelu. Rozsięciowanie hydrożelu występuje w obecności jednowartościowych kationów, które są obecne w moczu [A, B, C].

W ostatnim czasie polimery naturalne są szczególnie pożądanym materiałem do badań nad możliwością wykorzystania ich do wspomagania procesów regeneracji tkanek układu moczowo-płciowego przede wszystkim struktur moczowodów, rzadziej cewki moczowej. Zadaniem autorki było opracowanie biodegradowalnego materiału hydrożelowego wraz z oceną jego charakterystyki materiałowej jako wysokoodkształcalnego materiału na bazie alginianu sodu z punktu widzenia jego przyszłej aplikacji w postaci stentu do leczenia urazów cewki moczowej.

2. Materiał i metody

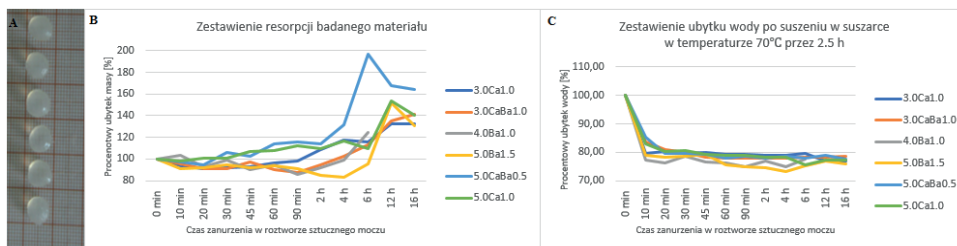
W badaniach eksperymentalnych wykorzystywano alginian sodu i CaCl_2 (Sigma-Aldrich) i BaCl_2 (Chempur). Metoda wytworzenia hydrożeli polegała na zapoczątkowaniu procesu żelowania poprzez rozpylenie kationów Ba^{2+} lub Ca^{2+} na rozproszony w formie alginian sodu. Hydrożele otrzymano w kształcie kulek. Skład materiału charakteryzował się różną kombinacją stosunku stężenia alginianu (3.0, 4.0 i 5.0 M) i substancji sieciującej (0.5, 1.0, 1.5 M). Badane stężenia i rodzaje próbek wybrano spośród tych, które wykazują najbardziej zbliżony Moduł Younga do cewki moczowej (tabela 1). Badania resorpcji prowadzono w sztucznym moczu, przygotowanym według receptury AU-5 Mayrovitz and Sims [1]. Hydrożel zanurzano w sztucznym moczu na określony czas (10, 20, 30, 45, 60 min oraz 2, 4, 6, 12 i 16 h). Przed każdym zanurzeniem i wynurzeniu materiał ważono. Następnie materiał suszono w temperaturze 70°C przez 2 h i ponownie ważono. Etapem końcowym było określenie resorpcji oraz ubytku wody po suszeniu.

Tabela 1. Zestawienie wartości Modułu Younga dla wybranych próbek

Moduł Younga [MPa]	1.89	0.84	1.11	0.71	0.57	0.25
Próbka	5.0Ba1.5	5.0Ca1.0	5.0CaBa0.5	4.0Ba1.0	3.0Ca1.0	3.0CaBa1.0

3. Wyniki

W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano bioresorbowalne kulki alginianowe usieciowane CaCl_2 i BaCl_2 (rys. 1A). Z analizy wykresów resorpcji (rys. 1B, C) zaproponowanych struktur wynika, że materiał ulega degradacji. Zaobserwowano, że materiał w zależności od ilości czasu zanurzania w sztucznym moczu degraduje (jego masa się zmniejsza), bądź momentami ulega pęcznieniu (masa się zwiększa). Wraz z upływem czasu inkubacji w 70°C ubytek wody był coraz większy i dla wszystkich próbek utrzymywał się na poziomie 75%. Zaobserwowano, że próbka zanurzona w sztucznym moczu przez 6, 12, 16 h staje się bardzo miękka i delikatna.



Rys. 1. Przedstawia przykładowe otrzymane kulki alginianowe (A), wykres zestawienia badań resorpcji w roztworze sztucznego moczu dla wszystkich badanych próbek (B), wykres zestawienia ubytku wody po suszeniu w temperaturze 70°C przez 2.5 h (C).

4. Dyskusja

W badaniach sprawdzono tempo resorpcji opracowanego materiału w bezpośredni kontakcie z jednowartościowymi jonami obecnymi w moczu. Badania wstępne resorpcji przeprowadzono w warunkach statycznych, poprzez zanurzenie i pozostawienie próbki w sztucznym moczu. Eksperyment udowodnił, że zaproponowany materiał na bazie alginianu sodu ulega degradacji. Kolejnym ważnym krokiem będzie wykonanie badań z uwzględnieniem dynamiki przepływu na specjalnie zbudowanym stanowisku do symulacji przepływu moczu. Na tym etapie prac stwierdza się, że na szybkość i czas degradacji ma wpływ stopień usieciowania oraz stosunek zawartości alginianu i substancji sieciującej. Czas przebywania i degradacji stentu w organizmie powinien mieścić się w granicach do 12 tygodni [5].

Piśmiennictwo

- [1] Chutipongtante S., Thongboonkerd V., "Systematic comparisons of artificial urine formulas for in vitro cellular study", *Analytical Biochemistry* 402 (2010) 110–112.
- [2] Cicha I., Detsch R., Singh R., Reakasame S., Alexiou Ch., Boccaccini A.R., "Biofabrication of vessel grafts based on natural hydrogels", *Current Opinion in Biomedical Engineering* 2017, 2:83–89.
- [3] Gasperini L., Mano J.F., Reis R.L. 2014 „Natural polymers for the microencapsulation of cells”, *J. R.Soc. Interface* 11: 20140817.

Rola proteazy MMP-3 w plastyczności transmisji hamującej w hipokampie

Anna Lech¹, Patrycja Brzdąk¹, Anna Buszka¹, Katarzyna Lebida²,
Grzegorz Wiera², Jerzy Mozrzyński²

¹ Katedra Fizjologii i Neurobiologii Molekularnej, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

² Katedra Biofizyki, Uniwersytet Medyczny, Wrocław, Polska

Słowa kluczowe: plastyczność synaptyczna, transmisja GABAergiczna, MMP-3

1. Wstęp

Na poziomie synaps, stanowiących kluczowy element obwodów neuronalnych, zdolność do zmian siły połączeń jest nazywana plastycznością synaptyczną. Zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* podczas procesów uczenia się plastyczność synaptyczna manifestuje się jako funkcjonalne i strukturalne modyfikacje połączeń synaptycznych. Podczas procesów pamięciowych istotną rolę odgrywa zarówno plastyczność synaps pobudzających [1] jak i hamujących [2]. O ile dużo już wiadomo na temat plastyczności synaps glutaminianergicznych, to badania nad zagadnieniem plastyczności synaps GABAergicznych rozpoczęły się relatywnie niedawno (ostatnie 5–8 lat). Aktualnie, rozwijają się one z dużą dynamiką, albowiem plastyczność tych synaps okazuje się być niezwykle istotnym elementem neuroplastyczności mózgu. Co więcej, wykazano że w prawidłowym funkcjonowaniu mózgu, niebawie istotnym aspektem jest utrzymanie odpowiedniej równowagi pomiędzy transmisją pobudzającą i hamującą, a dysfunkcje plastyczności GABAergicznej mogą być podłożem różnych chorób psychicznych takich jak schizofrenia czy depresja. Nie ulega również wątpliwości, że proteoliza określonych elementów macierzy zewnątrzkomórkowej synaps glutaminianergicznych, odgrywa kluczową rolę w przebudowie strukturalnej i funkcjonalnej połączeń synaptycznych. Istnieją silne dowody, że proteazy MMP są niezwykle istotne z punktu widzenia trwałości plastyczności, procesów uczenia się i zapamiętywania [3]. Pojawia się coraz więcej dowodów eksperymentalnych na występowanie długotrwałych zmian plastycznych w synapsach hamujących, ale wciąż niewiele wiadomo na temat ich molekularnych mechanizmów. Celem prezentowanych badań było zbadanie roli proteolizy zewnątrzkomórkowej, a w szczególności proteazy MMP-3, w odniesieniu do plastyczności synaps GABAergicznych.

2. Materiał i metody

Badania prowadzono z wykorzystaniem myszy szczepu C57Bl/6J w modelach skrawków hipokampalnych (P18-21) oraz pierwotnych hodowli rozproszonych neuronów hipokampa (DIV12-18). Przy pomocy techniki patch-clamp rejestrowano miniatu-

rowe prądy hamujące (mIPSC) w konfiguracji „whole-cell”. Długotrwałe wzmocnienie synaps hamujących (iLTP) indukowano chemicznie podając związek NMDA (20 μM) w warunkach kontrolnych, jak również w obecności inhibitora MMP-3, UK-356618 (2 μM). Dodatkowo wykorzystując techniki immunofluorescencyjne badaliśmy zmiany w morfologii synaps GABAergicznych i ruchliwość błonowych receptorów GABA.

3. Wyniki

W warunkach kontrolnych, indukcja iLTP przy użyciu NMDA skutkuje istotnym wzrostem amplitudy mIPSC do wartości 116% amplitudy rejestrowanej przed podaniem NMDA ($n = 9$). Natomiast, indukcja iLTP w obecności specyficznego inhibitora UK356618, nie prowadzi do wzrostu amplitudy mIPSC (96%, $n = 8$, $p = 0.02$). Dodatkowo, analizując morfologię synapsy po indukcji iLTP zaobserwowano istotny wzrost wielkości synaptycznych punktów skupisk gefiryny (121%, $n = 23$). Co istotne, w obecności inhibitora UK-356618 nie obserwowano powyższej plastyczności strukturalnej towarzyszącej iLTP (98%, $n = 25$, $p < 0.001$). Tym samym zablokowanie aktywności proteazy MMP-3 upośledza indukcję iLTP zarówno na poziomie funkcjonalnym jak i morfologicznym. Aby lepiej zrozumieć wpływ MMP-3 na synapsy GABAergiczne, zbadano również oddziaływanie egzogennej rekombinowanej proteazy rMMP-3 na morfologię synaps, ruchliwość błonową receptorów GABAA oraz na amplitudę mIPSC. Uzyskane wyniki wykazały, że krótkotrwała aplikacja rMMP-3 (2 min 15 sek) prowadzi do wzmocnienia amplitudy mIPSC do 121% wartości początkowej ($n = 11$, $p = 0.009$) oraz do zwiększenia średniej powierzchni synaptycznych skupisk gefiryny (108%, $n = 16$, $p = 0.034$), co jednoznacznie sugeruje indukcję iLTP w wyniku samej aplikacji proteazy MMP-3. Dodatkowo, analiza ruchliwości błonowej receptorów GABAA z podjednostką alfa1 za pomocą obrazowania kropek kwantowych, wykazała zmniejszenie stałej dyfuzji tych receptorów w synapsie po podaniu rMMP-3 (D przed aplikacją rMMP-3: $0.019 \pm 0.0017 \mu\text{m}^2/\text{s}$; D 20 min. po podaniu rMMP-3: $0.015 \pm 0.0016 \mu\text{m}^2/\text{s}$, $n = 6$, $p = 0.008$). Spowolnienie dyfuzji synaptycznych receptorów GABAA wskazuje na wzmocnienie synaps hamujących poprzez pułapkowanie receptorów w synapsie w efekcie aktywności proteazy rMMP-3.

4. Dyskusja

Rezultaty przeprowadzonych badań wskazują na istotny udział proteazy MMP-3 w indukcji długotrwałego wzmocnienia synaps GABAergicznych. Świadczy to więc o kluczowej roli zewnątrzkomórkowej proteolizy w zjawiskach plastycznych zachodzących w synapsach hamujących. Należy podkreślić, że mechanizmy molekularne i funkcje neurofizjologiczne plastyczności GABAergicznej (w odróżnieniu od plastyczności transmisji pobudzającej) są dopiero poznawane. W tym kontekście odkrycie kluczowej roli proteazy MMP-3 w indukcji iLTP rzuca nowe światło na funkcję macierzy zewnątrzkomórkowej i jej modyfikacji w plastyczności synaps hamujących.

Piśmiennictwo

- [1] Citri A. and Malenka R.C. 2008. *Neuropsychopharmacology*. 2008, Vol. 33(1), pp. 18–41.
- [2] Castillo P, Chiu C. and Carroll R.: 2011. *Current Opinion in Neurobiology*. 2011, 21, pp. 328–338.
- [3] Wiera G. et al.: 2017. *J Neuroscience*. 2017, 11, pp. 1–22.

Molekularne mechanizmy modulacji receptora GABA_A przez protony

Michał A. Michałowski¹, Marta M. Czyżewska², Jerzy W. Mozrzyński²

¹ Katedra Fizjologii i Neurobiologii Molekularnej, Uniwersytet Wrocławski

² Samodzielna Pracownia Biofizyki Układu Nerwowego, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Słowa kluczowe: GABA, receptor, kanał jonowy, modulacja, proton, pH, struktura, funkcja, sensor

1. Wstęp

Do rodziny pentamerycznych kanałów jonowych bramkowanych ligandem (pLGIC) należą takie białka jak m.in. receptor acetylocholino, receptor glicyny, receptor kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) czy bakteryjny receptor GLIC. Receptor GABA typu A (GABA_AR) jest głównym receptorem hamującym w mózgu dorosłych ssaków. Zachowuje on jednak pewne podobieństwa do swojego bakteryjnego homologa jakim jest GLIC. Aktywacja GLIC zachodzi pod wpływem niskiego pH (wzrostu stężenia protonów, pełniących w jego przypadku funkcję ligandu). GABA_AR nie ulega bezpośredniej aktywacji poprzez spadek poziomu pH, ale oprócz tego zmiana poziomu pH jest istotnym czynnikiem modulującym właściwości kinetyczne tego receptora [1, 2]. Molekularny mechanizm tego zjawiska jest poznany w niewielkim stopniu i nie wiadomo również, na ile jest on podobny do mechanizmu występującego w bakteryjnym białku homologicznym. Celem przedstawionych badań jest odnalezienie molekularnych determinantów modulacji GABA_AR przez protony.

2. Materiał i metody

Modelowanie homologiczne wykonane zostało z użyciem skryptów w języku Python z wykorzystaniem pakietu Modeller. Do przyrównania sekwencji pLGIC pozyskanych z webserwera UniProt użyto pakietu T-Coffe. Przyrównania były manualnie korygowane w programie JalView. Wartości pK_a poszczególnych pozycji aminokwasowych były estymowane z pomocą pakietu PROPKA. Analiza strukturalna oraz wizualizacje modeli receptora zostały przygotowane w programie VMD. 3.0. Pomiar elektrofizjologiczne zostały przeprowadzone na komórkach HEK 273 transfekowanych metodą precypitacji fosforanów wapnia. Pomiar wykonany został w konfiguracji whole cell. Analiza uzyskanych przebiegów prądowych została wykonana w programie Clampfit.

3. Wyniki

Aby wyznaczyć molekularny mechanizm modulacji GABA_AR przez protony zbudowano szereg strukturalnych modeli homologicznych receptora w najpowszechniejszej

konfiguracji stechiometrycznej podjednostek, tj. $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ oraz wyestymowano wartości pK_a wszystkich pozycji aminokwasowych, które mogą ulegać zmianie stanu protonacji pod wpływem zmian pH. Spośród aminokwasów, których wartości pK_a okazały się być zbliżone do wartości pH fizjologicznego, większość okazała się być podatna na zmianę stanu protonacji przy spadku poziomu pH, a nie jego wzroście. Jednocześnie większość potencjalnych sensorów pH została odnaleziona na podjednostce α_1 , czyli podjednostce komplementarnej względem głównej podjednostki tworzącej miejsce wiązania (podjednostka β_2). Większość tych pozycji znajduje się w pobliżu interfejsów podjednostek receptora (m.in. H56, E59, E138, H142). Inaczej ułożone są aminokwasy potencjalnie zależne od pH z jednostki β_2 . Można odnaleźć je w miejscu wiązania ligandu (pozycja E155) oraz w górnej części poru jonowego (pozycje H267 i E270). Wstępne badania elektrofizjologiczne wykazały, że wprowadzenie mutacji E155C zmniejsza podatność receptora na modulację poprzez zmianę wartości pH. Widoczne jest to głównie przez mniejszy wzrost amplitudy odpowiedzi po zwiększeniu stężenia protonów. Potencjalne sensory pH z podjednostki γ_2 wykazują schemat rozmieszczenia zbliżony do obserwowanego na podjednostce α_1 .

4. Dyskusja

Otrzymane wyniki wskazują na potencjalnie złożony mechanizm modulacji $GABA_A$ R przez poziom pH. Większość pozycji aminokwasowych, których stan protonacji jest zależy od pH, będzie reagować na wzrost stężenia protonów, a nie jego spadek. Jest to zgodne ze znanym z wcześniejszych badań faktem, że mocniejsze działanie modulacyjne ma właśnie spadek wartości pH, a nie jego wzrost [1, 2]. Również bakteryjny homolog $GABA_A$ R, GLIC, ulega aktywacji przy wzroście stężenia protonów. Dokładny mechanizm molekularny tej modulacji wydaje się być związany z wieloma rejonami w strukturze receptora – potencjalne efekty modulacji przez pH zostały wyestymowane zarówno w miejscu wiązania ligandu jak i w porze jonowym oraz na interfejsach podjednostek. Weryfikacja eksperymentalna hipotezy dotyczącej miejsca wiązania wykazała, że ten region jest związanych z modulacją przez pH, jednak nie odpowiada za całość efektu. Wskazuje to na konieczność dalszych badań, głównie poprzez pomiary elektrofizjologiczne receptorów z mutacjami w rejonie poru jonowego oraz interfejsów podjednostek celem sprecyzowania roli tych regionów w modulacji przez poziom pH.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2018/29/N/NZ1/02834 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Piśmiennictwo

- [1] Mozrzymas J.W., Żarnowska E.D., Pytel M., Mercik K., (2003) Modulation of $GABA_A$ receptors by hydrogen ions reveals synaptic GABA transient and a crucial role of the desensitization process. *J. Neurosci.* 23(22):7981–7992.
- [2] Mercik K., Pytel M., Cherubini E., Mozrzymas J.W. (2006) Effect of extracellular pH on recombinant $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ and $\alpha_1\beta_2GABA_A$ receptors. *Neuropharmacology* 51(2), 305–14.

Regulacja ekspresji genów *CsNRT2* w różnych warunkach odżywiania azotowego

Natalia Napieraj, Anna Wdowikowska, Grażyna Kłobus

Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej,
Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

Słowa kluczowe: azot, ogórek siewny, transportery błonowe NRT2, białka NAR2

1. Wstęp

Azot jest jednym z pierwiastków biogenych niezbędnych do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin. Efektem niedoboru azotu jest m.in. zahamowanie wzrostu części nadziemnych i podziemnych rośliny, karłowatość, chloroza i przedwczesne opadanie liści, co skutkuje obniżeniem plonowania roślin [1, 2]. Aby zapobiegać negatywnym skutkom niedoboru azotu, stosuje się powszechnie nawozy azotowe, jednakże ich nadmierne użycie koreluje z problemami środowiskowymi tj. eutrofizacja, efekt cieplarniany i kwaśne deszcze. Dodatkowo, użycie zanieczyszczonej wody gruntowej lub roślin pochodzących z upraw przenawożonych azotem może mieć negatywny wpływ na zdrowie ludzkie [3]. Dlatego poznanie strategii związanych z pobieraniem i dystrybucją azotanów u roślin wydaje się istotnym krokiem ku poprawie wydajności wykorzystania azotu, a w konsekwencji zmniejszenia kosztów produkcji upraw oraz szkód dla środowiska.

Za pobieranie i dystrybucję NO_3^- w roślinach odpowiadają transportery należące do rodziny: NPF (NRT1/PTR family), NRT2 (NO_3^- transporter 2 family), CIC (chloride channel) oraz SLAC/SLAH (slow anion channel-associated homologues). Spośród nich, rodzina NRT2 składa się z transporterów azotanowych odznaczających się wysokim powinowactwem względem azotanów [4]. Badania genomu ogórka siewnego *Cucumis sativus* L. wykazały obecność 3 genów należących do rodziny NRT2 (*CsNRT2.1*, *CsNRT2.2* oraz *CsNRT2.5*), które ulegają ekspresji w korzeniu (Lange i Kłobus, dane niepublikowane). Wykazano także obecność genu *CsNAR2*. Białka NAR2 zidentyfikowane i opisane u innych roślin, są niezbędne do prawidłowego transportu azotanów przez NRT2 [5]. W związku z powyższym podjęto się zbadania ekspresji genów *CsNRT2.1*, *CsNRT2.2*, *CsNRT2.5* oraz *CsNAR2* w korzeniach ogórka siewnego w różnych warunkach żywienia azotowego.

2. Materiał i metody

Materiał biologiczny stanowiły rośliny ogórka siewnego *Cucumis sativus* L. cv. Krak. uprawiane na pożywce hydroponicznej w obecności lub braku azotanów, w różnych wariantach czasowych. Z korzeni wyizolowano RNA oraz oznaczono jego czystość i stężenie metodą spektrofotometryczną. RNA oczyszczono z zanieczyszczeń DNA,

a następnie wykonano syntezę cDNA. Poziom ekspresji badanych genów określono metodą Real-Time PCR. Ponadto badane fragmenty genów namnożono w reakcji PCR i zsekwencjonowano w celu potwierdzenia ich zgodności z genomem ogórka siewnego, dostępnego na stronie NCBI.

3. Wyniki

Wykazano, że profile ekspresji genów *CsNRT2.1*, *CsNRT2.2* oraz *CsNAR2* w korzeniach ogórka wzrastających w różnych warunkach odżywiania azotanowego, odznaczają się dużym podobieństwem, podczas gdy profil ekspresji genu *CsNRT2.5* jest wyraźnie odmienny. Ekspresja *CsNRT2.1*, *CsNRT2.2* i *CsNAR2* jest indukowana jonami azotanowymi, a najsilniejsza ekspresja obserwowana była po 4 godzinach ekspozycji na egzogenne NO_3^- . Natomiast głodzenie azotanowe skutkowało wzrostem ekspresji genu *CsNRT2.5*. Odnotowano również, że egzogenne aplikowane jony azotanowe nie wpływają na ekspresję genu *CsNRT2.5*.

4. Dyskusja

Profile ekspresji genów z rodziny *CsNRT2* u ogórka, podobnie jak ich odpowiedniki u *Arabidopsis thaliana*, zmieniają się pod wpływem różnego odżywiania azotowego. Ekspresja genów *CsNRT2.1* oraz *CsNRT2.2* ma charakter indukcyjny, przez co wykazują one podobieństwo do genów *AtNRT2.1* i *AtNRT2.2*, których ekspresja również wzrasta w obecności jonów NO_3^- [6]. Egzogenne jony azotanowe indukowały także ekspresję genów *ZmNRT2.1* i *ZmNRT2.2* u kukurydzy zwyczajnej oraz *OsNRT2.1* i *OsNRT2.2* u ryżu siewnego [7].

U *A. thaliana* wykazano, że do aktywności transporterów *AtNRT2* niezbędna jest obecność białka *AtNAR2*, a kompleks *AtNRT2.1* oraz *AtNAR2.1* jest funkcjonalnym transporterem jonów azotanowych [5]. Podobieństwa w profilach ekspresji genów *CsNRT2.1*, *CsNRT2.2* oraz *CsNAR2* u ogórka uprawianych w warunkach zróżnicowanego żywienia azotowego, sugerować może, że *CsNAR2* także stanowi niezbędny element do transporterowej aktywności *CsNRT2.1* i *CsNRT2.2*. Natomiast wzrost ekspresji genu *CsNRT2.5* w warunkach głodzenia azotanowego, wskazuje na istotną funkcję białka *CsNRT2.5* w zaopatrzeniu roślin w azotany i podtrzymaniu ich wzrostu w warunkach deficytu N. Podobne wyniki uzyskano u *A. thaliana* gdzie jednak wykazano, że *AtNRT2.5* tworzy kompleks z *AtNAR2.1* [4, 5]. Ze względu na odmienny profil ekspresji *CsNRT2.5* i *CsNAR2* można przypuszczać, że u ogórka białko *CsNAR2* nie jest konieczne do transporterowej aktywności *CsNRT2.5*. Przeprowadzone analizy stanowią wstęp do dalszych badań nad mechanizmami kontrolującymi pobieranie azotanów u ogórka, należącego do grupy najważniejszych warzyw uprawianych na świecie.

Piśmiennictwo

- [1] Wójcik P., Zrównoważone nawożenie roślin ogrodnich, Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice, 2014, ISBN 978-83-89800-57-2.
- [2] Naprzal M., Janota A., Szopiński M. (2016) Pobieranie i transport jonów azotanowych w roślinach oraz ich wpływ na architekturę korzeni. *Kosmos*. 65(3):411–417.
- [3] Liu C.W., Sung Y., Chen B.C. (2014) Effects of Nitrogen Fertilizers on the Growth and Nitrate Content of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 11:4427–4440.
- [4] Kiba T., Krapp A. (2016) Plant Nitrogen Acquisition Under Low Availability: Regulation of Uptake and Root Architecture *Plant Cell Physiology*. 57(4): 707–714.
- [5] Kotur Z., Glass A. (2015) A 150 kDa plasma membrane complex of AtNRT2.5 and AtNAR2.1 is the major contributor to constitutive high-affinity nitrate influx in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ*. 38(8):1490–1502.
- [6] Wang Y.Y., Hsu P.K., Tsay Y.F. (2012) Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science*. 17(8):458–467.
- [7] Feng H., Fan X., Yan M. (2011) Multiple roles of nitrate transport accessory protein NAR2 in plants. *Plant Signaling & Behavior*. 6(9):1286–1289.

Biologiczna aktywność kationowych surfaktantów wobec wybranych patogenów oportunistycznych

E. Obłąk, A. Dudąła, W. Szlauer, W. Salwińska

Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. Przybyszewskiego 67/77, 51-148 Wrocław

Słowa kluczowe: kationowe surfaktanty, biofilm, adhezja

1. Wstęp

Czwartorzędowe sole amoniowe (CSA) jako kationowe surfaktanty znajdują zastosowanie w medycynie (jako dezynfektanty, nośniki genów lub leków), przemyśle (detergenty, konserwanty, biocydy) i rolnictwie (fungicydy, herbicydy). Szerokie stosowanie tych związków spowodowało powstanie oporności wśród drobnoustrojów na te surfaktanty. Dlatego też obecnie poszukuje się nowych struktur chemicznych związków, które działałyby bójczo na mikroorganizmy zarówno w formie planktonicznej jak i biofilmu. Związki te mają zdolność oplatczania różnych powierzchni (metal, szkło, polistyren, silikon) i w ten sposób zapobiegają adhezji drobnoustrojów i tworzenia biofilmu.

2. Materiał i metody

Badane czwartorzędowe sole amoniowe były zsyntetyzowane przez zespół prof. S. Witka z Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Bakterio- i grzybobójczość CSA była badana według standardów CLSI, metodą mikrorozcieńczeń w bulionie i posiewu na LB/YPC agar [1]. Aktywność H^+ -ATPazy *in vivo* mierzono przy udziale pH-metru sprzężonego z komputerem [2]. Adhezję mikroorganizmów do różnych powierzchni jak również eradykację biofilmu badano wg metody [3]. Wpływ testowanych związków na hemolizę erytocyków krwi baraniej badano wg procedury [4].

3. Wyniki

W badaniach wykazano silną aktywność bakterio- i grzybobójczą CSA w zależności od struktury chemicznej związku. Wśród grupy badanych surfaktantów największą aktywność biologiczną wobec wybranych mikroorganizmów (*S. epidermidis* i *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *S. cerevisiae*) wykazywał związek PPM-11. Stwierdzono również, że kationowe surfaktanty PPM-11 i DMM-11 hamują filamentację *C. albicans*. Sole amoniowe oplatczając różne powierzchnie (szkło, metal, polistyren) inhibują adhezję drobnoustrojów

do tych powierzchni i zapobiegają powstawaniu biofilmu produkowanego przez patogenne mikroorganizmy. I tak związek MRM-11 hamował adhezję *S. epidermidis* i *P. aeruginosa* do polistyrenu. Natomiast adhezja *C. albicans* do powierzchni metalu była hamowana przez związki DMM-11 i MRM-11, *P. aeruginosa* przez PYM-11, a *S. epidermidis* przez DMM-11. Badane CSA również eradykowały biofilm bakteryjny jak i grzybowy. Surfaktant PPM-11 powodował w 50% niszczenie biofilmu wytworzonego przez *P. aeruginosa*. Natomiast biofilm *S. epidermidis* był eradykowany w 80% przez związek MRM-11. Surfaktant DMM-11 powodował 70% zniszczenia biofilmu wytworzonego przez *C. albicans*. Ponadto, stwierdzono, że CSA (DMM-11) są inhibitorami H⁺-ATPazy błony komórkowej drożdży. Związki te w badanych stężeniach (20–160 μM) powodują hemolizę erytrocytów baranich na poziomie ok. 10%, a tylko jeden z testowanych surfaktantów DMM-11 w stężeniu 320 μM powodował hemolizę w ok. 30%.

4. Dyskusja

Kationowe surfaktanty hamują wzrost bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych, grzybów oraz wirusów z otoczką lipidową (HIV, HBV) [5].

Badano czwartorzędowe sole amoniowe o różnej budowie główki polarnej i 11-węglowym łańcuchu alkilowym. Związki te wykazywały różną aktywność wobec wybranych mikroorganizmów. Najbardziej aktywnym surfaktantem wobec wszystkich testowanych drobnoustrojów okazał się związek PPM-11. W badaniach wykazano, że surfaktanty mają zdolność oplatczania różnych powierzchni (szkła, metalu, polistyrenu) i redukowania adhezji komórek drobnoustrojów do tych powierzchni. Ponadto, badane CSA eradykują biofilm produkowany przez patogenne bakterie i grzyby oraz hamują filamentację *C. albicans*. Podobne wyniki były uzyskane dla kationowych surfaktantów gemini i wielofunkcyjnych [3, 4, 6, 7]. CSA jako związki o budowie amfifilowej wykazują powinowactwo do lipidów błony komórkowej. Wbudowując się w dwuwarstwą fosfolipidową wpływają na jej płynność, przepuszczalność oraz na aktywność enzymów błonowych [8]. Jeden z testowanych związków był inhibitorem H⁺-ATPazy błony komórkowej drożdży *S. cerevisiae*. Enzym ten jest istotny dla funkcjonowania komórki, gdyż odpowiada on za gradient elektrochemiczny błony komórkowej, transport substancji do komórki (np. aminokwasów). Podobne działanie inhibicyjne tego enzymu powodował chlorek N-(dodecyloksykarboksymetylo)-N,N,N-trimetyloamoniowy [2]. Testowane tutaj surfaktanty nie wykazywały działania hemolitycznego, podobnie jak glicynopochodne CSA gemini [1]. Badane związki mogą znaleźć zastosowanie aplikacyjne w medycynie lub przemyśle w niszczeniu patogennych mikroorganizmów zarówno w formie planktonicznej jak i biofilmu.

Piśmiennictwo

- [1] Obłąk E., Piecuch A., Krasowska A. and Łuczyński J. Antifungal activity of gemini quaternary ammonium salts. *Microbiol. Res.* 168 (2013) 630–638.
- [2] Obłąk E., Bącal J., Lachowicz T.M. A quaternary ammonium salt as an inhibitor of plasma membrane H⁺-ATPase in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell. Biol. Mol. Lett.* 5 (3) (2000) 315–324.

- [3] Obłąk E., Piecuch A., Dworniczek E., Olejniczak T. The Influence of Biodegradable Gemini Surfactants, N,N'-bis(1-Decyloxy-1-Oxopronan-2-yl)-N,N,N',N'-Tetramethyl-propane-1,3 Diammonium Dibromide and N,N'-bis(1-Dodecyloxy-1-Oxopronan-2-yl) N,N,N',N'-Tetramethylethane-1,2-Diammonium Dibromide, on Fungal Biofilm and Adhesion. *J Oleo. Sci.* 64 (2015) 527–537.
- [4] Obłąk E., Piecuch A., Guz-Regner K., Dworniczek E. Antibacterial Activity of Gemini Quaternary Ammonium Salts. *FEMS Microbiol. Lett.* vol. 350 (2) (2014) 190–198.
- [5] Obłąk E., Gamian A., Adamski R., Ułaszewski S. The physiological and morphological phenotype of a yeast mutant resistant to the quaternary ammonium salt N-(dodecyloxycarbonylmethyl)-N,N,N-trimethyl ammonium chloride. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 15 (2) (2010) 215–233.
- [6] Piecuch A., Lamch Ł., Paluch E., Obłąk E., Wilk K.A. *Biofilm prevention by dicephalic surfactants and their interactions with DNA.* *J Appl. Microbiol.* 121(2016) 682–692.
- [7] Paluch E., Piecuch A., Obłąk E., Lamach Ł., Wilk K.A. *Antifungal activity of newly synthesized chemodegradable dicephalic-type cationic surfactants.* *Colloids Surf B: Biointerfaces* 164 (2018) 1–8.
- [8] Obłąk E., Piecuch A., Maciaszczyk-Dziubinska E., Wawrzycka D. Quaternary ammonium salt N-(dodecyloxycarbonylmethyl)-N,N,N-trimethylammonium chloride induced alterations in *Saccharomyces cerevisiae* physiology. *J Biosci.* 41 (2016) 601–614.

Potential of ATR-IR spectroscopy for monitoring of effect of NIR radiation on skin components

S. Olsztyńska-Janus¹, Z. Kiełbowicz², M.A. Czarnecki³

¹ Department of Biomedical Engineering, Wrocław University of Science and Technology, pl. Grunwaldzki 13, 50-370 Wrocław, Poland

² Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, Poland.

³ Faculty of Chemistry, University of Wrocław, F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław, Poland

Słowa kluczowe: Near infrared, skin, phase transition, denaturation, ATR-IR

1. Introduction

It is well known that near infrared (NIR) region is effective in phototherapy, playing an important role in the tissue functioning [1]. NIR radiation stimulates the immune system, promotes vascular and lymphatic microcirculation, reduces inflammations, supports central nervous system regeneration, induces an acceleration of wound healing processes, reduces and controls pain [2]. And what is very important, NIR radiation is absorbed by many tissue components, mainly by water [3], and also by proteins, glucose and lipids [4]. Despite of many reports on effect of NIR radiation on biological samples, molecular mechanism of phototherapy has not been fully established yet.

The present work was undertaken to investigate the effect of NIR irradiation on bovine skin components, such as lipids, proteins and water. Modifications of these tissue elements after NIR exposure as a function of temperature (from 20 to 90°C) have been investigated using Attenuated Total Reflectance Infrared (ATR-IR) spectroscopy. The analysis of ATR-IR spectra clearly reveals modifications of amide I and water bands. Besides, the spectra were used for determination of the temperature of phase transitions. This work is a continuation of our previous studies on the temperature effect on skin [5].

2. Materials and methods

Healthy skin used for this study was of porcine origin (Polish Landrace breed, age of the pigs: two months). Skin was provided by Department of Surgery the Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland. The samples of skin were taken from pigs with the approval of the Second Local Ethics Committee for Affairs of Experiments on animals. After removal of excess hair and the subcutaneous fat, the skin was stored in the presence of cryoprotectant (20 wt% glycerine) solution. Next, the thawing procedure was carried out and washing the material in a 0.9% NaCl solution to remove the glycerol. ATR-IR spectra of skin were re-

corded before and after NIR radiation. To investigate the effect of NIR radiation, skin was exposed to the radiation of a halogen lamp with a 700–2000 nm filter. A constant temperature of irradiation ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) was maintained by using of water-cooling system. The lipid transition temperatures were determined by using two different methods as described in our previous paper [1].

3. Results

Spectroscopic analysis has shown that NIR radiation influenced all bands. Some of the bands were blue-shifted after irradiation. This indicates the weakening of hydrogen bonding under NIR exposure [6].

Under NIR exposure we received higher temperatures of phase transitions. This indicates more stable lipid ordering and the protective role of NIR radiation. Arrangement of lipids of the horny layer in the skin is closely related to the content of water (global/bound), which strongly depends on the temperature. An increase in temperature decreases the water content in the skin, and disturb the structure of biological components like proteins, and lipids. Our results prove that the heating at first removes the global water from the tissue. At higher temperature also the bound water structure is destroyed. For comparison, for intact skin samples these effects were observed at lower temperatures. Analysis of amide I band reveals that after NIR irradiation a smaller amount of aggregates originating from thermal denaturation has appeared [1]. This observation provides additional confirmation of the protective role of NIR radiation on the skin.

4. Discussion

In our work we evidence the usefulness of ATR-IR spectroscopy for exploration of biochemical changes of lipids, proteins and water components of skin. This technique is very powerful tool for distinguishing irradiated and intact samples, however the analysis should be carried out very carefully since ATR-IR is very sensitive to small changes in the sample state or composition.

This work provides new information on consequences of NIR irradiation on the skin and suggest that NIR light may increase an efficiency of the photochemical effects. Identification of regions of special interest in the vibrational spectra may help to differentiate various skin components and aid in a more accurate diagnosis. Our present and previous results led us to the conclusion that the more comprehensive results on changes at a molecular level are obtained from simultaneous examination of all main skin components.

References

- [1] S. Olsztyńska-Janus, Z. Kielbowicz, M.A. Czarnecki, *Spectrochim. Acta Part A* 202 (2018) 93.
- [2] G. Cieślak, M. Adamek, *Magnetotherapy and lasertherapy*, Polish ed., Silesian Academy of Medicine, Katowice, 1994.
- [3] D.M. Goodall, R.C. Greenhow, *Chem. Phys. Lett.* 9 (1971) 583.
- [4] O.S. Khalil, *Clin Chem* 45 (1999) 165.
- [5] S. Olsztyńska-Janus, A. Pietruszka, Z. Kielbowicz, M.A. Czarnecki, *Spectrochim. Acta Part A* 188 (2018) 37.
- [6] Y. Maréchal, *J. Mol. Struct.* 416 (1997) 133.

Acknowledgements:

This work was supported by statutory funds of Department of Biomedical Engineering, Faculty of Fundamental Problems of Technology, Wrocław University of Science and Technology, Poland. Measurements were taken with ATR Accessory with Heated Diamond Top-plate purchased under a grant for Scientific Research of Ministry of Education No 6180/IA/119/2012.

Ekspresja testyny w niedrobnokomórkowych rakach płuc

Maciej Ornat¹, Adam Rzechonek², Aleksandra Piotrowska¹,
Natalia Glatzel-Plucińska¹, Piotr Dziegiel¹

¹ Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka, Zakład Histologii
i Embriologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

² Dolnośląskie Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu

Słowa kluczowe: testyna, rak płuc, TES

1. Wstęp

Testyna jest produktem białkowym genu *TES* zlokalizowanym na chromosomie 7 w regionie łamliwym tego chromosomu – q31.2. Jej ekspresja stwierdzana jest we wszystkich prawidłowych tkankach organizmu ludzkiego. Zaobserwowano obniżenie jej ekspresji w licznych chorobach nowotworowych, m.in. raku gruczołu piersiowego, okrężnicy, endometrium, nosogardła, głowy i szyi, żołądka, a także w ostrej białaczce limfoblastycznej i chłoniakach B-komórkowych.

2. Materiał i metody

Materiał stanowiło 203 przypadki raków niedrobnokomórkowych płuc (83 przypadki raka płaskonabłonkowego oraz 120 przypadków raka gruczołowego), kontrolę stanowiło 100 przypadków zdrowego mięszu płucnego z marginesu cięcia chirurgicznego. Materiał uzyskany został z Dolnośląskiego Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu. Nasilenie reakcji immunohistochemicznej oceniono metodą komputerową z zastosowaniem oprogramowania 3D-HISTECH, natomiast analizę statystyczną przeprowadzono z zastosowaniem programu Statistica.

3. Wyniki

Wykazano istotnie wyższą ekspresję białka testyny w rakach niedrobnokomórkowych płuc w porównaniu z kontrolą ($p < 0,05$). Ponadto wykazano dodatnią korelację pomiędzy odsetkiem komórek z pozytywną ekspresją testyny i Ki-67 w zależności od stadium zaawansowania choroby nowotworowej (odpowiednio dla I stadium: $r = 0,2$; dla II stadium $r = 0,3$; dla III stadium $r = 0,53$).

4. Dyskusja

Istotnie wyższa ekspresja testyny w rakach niedrobnokomórkowych płuc w porównaniu z tkanką kontrolną oraz korelacja ze stadiem zaawansowania choroby świadczyć mogą o roli jaką pełni nadekspresja testyny w procesie nowotworzenia. Dotychczas wykazano istotnie obniżony poziom ekspresji testyny w licznych chorobach nowotworowych, co stoi w opozycji do wstępnych wyników osiągniętych w powyższych badaniach. Próbą wyjaśnienia tego zjawiska może być kumulowanie się białka o nieprawidłowej strukturze, które nie pełni swojej biologicznej funkcji lub pełni funkcje promujące rozwój choroby nowotworowej. Niezbędnym jest przeprowadzenie dalszych badań mających na celu wyjaśnienie obserwowanej zależności.

Projekt współfinansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu Diamentowy Grant 2017 o numerze 0121/DIA/2017/46.

Piśmiennictwo

- [1] Weeks R.J., Kees U.R., Song S., & Morison I.M. (2010). Silencing of TESTIN by dense biallelic promoter methylation is the most common molecular event in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Molecular Cancer*, 9, 163.
- [2] Dong R., Pu H., Wang Y., Yu J., Lian K., & Mao C. (2015). TESTIN was commonly hypermethylated and involved in the epithelial-mesenchymal transition of endometrial cancer. *APMIS*, 123(5), 394–400.
- [3] Steponaitis G., Kazlauskas A., Skiriute D., Valiulyte I., Skauminas K., Tamasauskas A., & Vaitkiene P. (2016). Testin (TES) as a candidate tumour suppressor and prognostic marker in human astrocytoma. *Oncology Letters*, 12(5), 3305–3311.
- [4] Weeks R.J., Ludgate J.L., LeMée G. & Morison I.M. (2016). TESTIN Induces Rapid Death and Suppresses Proliferation in Childhood B Acute Lymphoblastic Leukaemia Cells. *PLOS ONE*, 11(3), e0151341.
- [5] Zhu J., Li X., Kong X., Moran M.S., Su P., Haffty B.G. & Yang Q. (2012). Testin is a tumor suppressor and prognostic marker in breast cancer. *Cancer Science*, 103(12), 2092–2101.
- [6] Zhong Z., Zhang F. & Yin S.C. (2015). Effects of TESTIN gene expression on proliferation and migration of the 5-8F nasopharyngeal carcinoma cell line. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(6), 2555–2559.
- [7] Li H., Huang K., Gao L., Wang L., Niu Y., Liu H., ... Wang J. (2014). TES inhibits colorectal cancer progression through activation of p38. *Oncotarget*, 7(29), 45819–45836.
- [8] Sarti M., Seignani C., Calin G.A., Aqeilan R., Shimizu M., Pentimalli F., ... Croce C.M. (2005). Adenoviral transduction of TESTIN gene into breast and uterine cancer cell lines promotes apoptosis and tumor reduction in vivo. *Clinical Cancer Research*, 11(2), 806–813.

Przezskórna aplikacja wybranych hormonów jako alternatywna droga ich podania. Badania wstępne

Aneta Ostróżka-Cieślak¹, Barbara Dolińska^{1, 2}, Kamil Sokołowski¹,
Florian Ryszka²

¹ Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

² Farmaceutyczny Zakład Naukowo-Produkcyjny „Biochefa”, Sosnowiec

Słowa kluczowe: maść, hydrożel, nośniki hormonów

1. Wstęp

Rozwój technologii postaci leku umożliwia opracowanie nowych formułacji dla substancji czynnych (API) już stosowanych, zapewniając wysoką skuteczność ich działania, bezpieczeństwo stosowania oraz dogodną formę aplikacji dla pacjenta. Hormony charakteryzują się szerokim spektrum aktywności biologicznej i potencjalnie mniejszą toksycznością w porównaniu ze związkami niskocząsteczkowymi. Niestety doustna podaż leków peptydowych powoduje ich ograniczoną biodostępność (często dezaktywację) i niską przepuszczalność przez błony biologiczne. Aktualnie najczęściej stosowaną drogą aplikacji hormonów jest podanie podskórne w formie iniekcji. Podejmuje się próby podania związków białkowo-peptydowych drogą dożylną, wziewną, przezśluzówkową oraz przezskórną [1]. Wiele z tych opracowań znajduje się obecnie w trakcie badań klinicznych, co wskazuje na ogromny potencjał hormonów w projektowaniu nowych metod terapeutycznych.

Celem naszych badań było opracowanie przezskórnej postaci leku zawierającej wybrane hormony o odpowiednich parametrach jakościowych. Do analizy włączono maści i hydrożele jako jedne z najprostszych i najlepiej akceptowanych przez pacjentów form podania API. Pozwalają one na uproszczenie schematów terapeutycznych oraz ograniczenie działań niepożądanych hormonów [2].

2. Materiał i metody

Do badań zastosowano cztery typy podłoży tj. eucerynę, lekobazę, maść glicerolową i hydrożel na bazie metylocelulozy. Skuteczność zastosowanych nośników analizowano w oparciu o wybrane hormony tj. prolaktynę (PRL) i insulinę (INS). Formułacje sporządzono zgodnie z wymaganiami Farmakopei Polskiej XI z wykorzystaniem miksera recepturowego typu Unguator. Dokonano analizy parametrów fizykochemicznych sporządzonych postaci leku oraz analizę dostępności farmaceutycznej z podłoży. Badanie dostępności farmaceutycznej przeprowadzono zgodnie z wytycznymi ICH i Farma-

kopei Polskiej XI. Analizę szybkości uwalniania API wykonano w aparacie łopatkowym (DT 600, ERWEKA GmbH, Germany) w komorach typu Enhancer Cell stosując półprzepuszczalną błonę dializacyjną Spectra/Por 2 o wielkości porów 12–14 kDa oraz Spectra/Por 2 o wielkości porów 50 kDa. Masa cząsteczkowa hormonu determinowała dobór błony (PRL 23 kDa, INS 5,8 kDa). Badania prowadzono w warunkach: $T = 32 \pm 1^\circ\text{C}$, szybkość obrotów łopatek 100 ob/minutę, 50 ml H_2O lub 0,9% NaCl/płyn akceptorowy. Kontrolę jakości sporządzonych formułacji przeprowadzono w oparciu o pomiary reologiczne (reometr rotacyjny Lamy RM 200 Touch wyposażony w odpowiedni system pomiarowy MK-CP 2445 lub MK-DIN 3) oraz analizę gęstości, rozsmarowywalności i pH.

3. Wyniki

Preferowanym podłożem do wykonania maści typu emulsja z prolaktyną jest leko-baza. Nie stwierdzono uwalniania PRL z euceryny. Na wykresie zależności uwalniania PRL [mg/cm^2] w funkcji czasu [min] zaobserwowano fazę plateau, która jest charakterystyczna dla pulsacyjnego wydzielania prolaktyny w rytmie dobowym w organizmie człowieka. W przypadku insuliny stwierdzono spowolnione jej uwalnianie z hydrożeli, co pozwala na utrzymanie nietoksycznej, ale skutecznej, rozłożonej w czasie dawki hormonu po aplikacji.

Maści z prolaktyną należą do układów dyspersyjnych z nienewtonowską fazą ciągłą, pseudoplastycznych o właściwościach tiksotropowych. Obecność granicy płynięcia na reogramach wskazuje na ich dobre właściwości reologiczne. Badane hydrożele z insuliną posiadają cechy układów nienewtonowskich pseudoplastycznych. W miarę wzrostu szybkości ścinania wykazywały tendencję do rozrzedzania, zmniejszania lepkości.

4. Dyskusja

Przeprowadzone badania wskazują na dobre cechy aplikacyjne sporządzonych preparatów. Hydrożele ze względu na dużą zawartość wody są przyjemniejsze dla skóry w porównaniu z maściami, można również dokonywać ich modyfikacji pod kątem kontroli szybkości uwalniania API oraz regulacji zasięgu przenikania przez skórę. Opracowane formułacje mogą stanowić potencjalną alternatywę dla innych dróg podania prolaktyny i insuliny. Badania w tym kierunku są nadal prowadzone.

Piśmiennictwo

- [1] Cichocka E, Wietchy A, Nabrdalik K, Gumprecht J. Insulin therapy – new directions of research. *Endokrynol Pol.* 2016; 67(3): 314–24.
- [2] Górecki M. Fizykochemiczne problemy układów substancja lecznicza–polimer. *Farm Pol.* 1998; 54: 590–592.
- [3] Pluta J, Karolewicz B. Hydrożele: właściwości i zastosowanie w technologii postaci leku. II. Możliwości zastosowania hydrożeli jako nośników substancji leczniczej. *Zakład Farmacji Aptecznej Akademii Medycznej we Wrocławiu.* 2004, 304, 1–41.

Ekspresja zyksyny w niedrobnokomórkowych rakach płuc – badania pilotażowe

Aleksandra Partyńska¹, Agnieszka Gomułkiewicz¹, Aleksandra Piotrowska¹,
Piotr Dziegiel^{1, 2}

¹ Zakład Histologii i Embriologii, Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka,
Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Zakład Biologii Człowieka, Katedra Kosmetologii, Wydział Fizjoterapii,
Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Słowa kluczowe: zyksyna, rak płuc

1. Wstęp

Rak płuc jest nowotworem charakteryzującym się wysokim odsetkiem zachorowalności oraz śmiertelności, zarówno wśród kobiet, jak i mężczyzn [1, 6]. Najczęściej diagnozowanymi nowotworami płuc (ok. 85%) są niedrobnokomórkowe raki płuc (NSCLC, *non-small cell lung cancer*) [2]. Pomimo postępów w diagnostyce i leczeniu, wciąż stanowią one duży problem terapeutyczny. Konieczne wydają się zatem dalsze badania, mające na celu poszukiwanie nowych czynników o znaczeniu prognostycznym i predykcyjnym. Jednym z takich białek może być zyksyna (ZYX). Przeprowadzone dotychczas badania sugerują rolę tego białka w rozwoju m.in. raka gruczołu piersiowego, czerniaka oraz raka jelita grubego [3–5]. Badania nad funkcją zyksyny w raku płuc są nieliczne, niejednoznaczne i prowadzone głównie w oparciu o linie komórkowe. Celem naszej pracy było zbadanie ekspresji zyksyny w przypadkach NSCLC, a także sprawdzenie poziomu tego białka w wybranych liniach komórkowych NSCLC.

2. Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło 610 przypadków NSCLC oraz 49 wycinków tkanki płucnej niezmięnionej nowotworowo, pobranych z marginesu cięcia chirurgicznego. Na materiale klinicznym wykonano reakcje immunohistochemiczne za pomocą aparatu Autostainer Link 48 (Dako) i systemu EnVision Flex (Dako). Do oceny reakcji immunohistochemicznych zastosowano skalę Remmele i Stegnera oraz skalę oceny nasilenia ekspresji antygeny jądrowego, uwzględniającą procent komórek pozytywnych. Poziom białka ZYX określono ilościowo metodą Western Blot, z wykorzystaniem przeciwciał anti-ZYX (Abcam, ab109316) oraz beta-aktyny jako białka referencyjnego. Real-time PCR z wykorzystaniem specyficznych starterów i sond typu TaqMan (Applied Biosystems) posłużył do określenia poziomu mRNA zyksyny w badanym materiale. Wyniki normalizowano względem ekspresji genu referencyjnego beta-aktyny. Dodatkowo, w badaniach użyto linie komórkowe reprezentujące dwa podtypy NSCLC: NCI-H1703

(płaskonabłonkowy rak płuca), NCI-H522 (gruczolakorak) i A549 (gruczolakorak). Linią kontrolną były prawidłowe fibroblasty płucne – IMR-90. W powyższych liniach komórkowych zbadano poziom białka metodą Western Blot oraz mRNA metodą real-time PCR. Wyniki poddano analizie statystycznej.

3. Wyniki

Badania immunohistochemiczne wykazały istotnie wyższy poziom zyxyny cytoplazmatycznej i jądrowej w tkance płucnej niezmienionej nowotworowo w porównaniu do komórek nowotworowych (odpowiednio $p < 0,0001$ i $p < 0,0001$). Ponadto, poziom ZYX cytoplazmatycznej był wyższy w tkance płucnej niezmienionej nowotworowo w porównaniu do komórek podścieliska nowotworowego ($p < 0,0001$). Analiza metodą Western Blot wykazała istotnie niższy poziom ZYX w guzach NSCLC niż w tkance płucnej niezmienionej nowotworowo ($p = 0,0275$). Zależność tą potwierdzają również wyniki poziomu mRNA zyxyny ($p < 0,0001$). Wykazano, że poziom białka ZYX jest niższy we wszystkich badanych liniach komórkowych NSCLC, w porównaniu do linii prawidłowej. Istotne różnice zaobserwowano w przypadku linii IMR-90 i NCI-H522 ($p = 0,0027$). W linii NCI-H522 poziom ZYX jest istotnie niższy niż w liniach NCI-H1703 ($p = 0,0009$) i A549 ($p = 0,0186$). Poziom mRNA ZYX jest niższy w liniach komórkowych gruczolaka płuc, porównując do linii IMR-90. Istotność statystyczna występuje w przypadku linii NCI-H522 ($p < 0,0001$).

4. Dyskusja

Obniżony poziom ZYX w guzach nowotworowych oraz w liniach komórkowych NSCLC sugeruje, że białko to może pełnić rolę supresorową w rozwoju niedrobnokomórkowych raków płuc. Dalsze badania są jednakże niezbędne do weryfikacji tej hipotezy.

Piśmiennictwo

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A.: Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.*, 2018; 68: 394–424.
- [2] Chen Z., Fillmore C.M., Hammerman P.S., Kim C.F., Wong K.K.: Non-small-cell lung cancers: A heterogeneous set of diseases. *Nat. Rev. Cancer*, 2014; 14: 535–546.
- [3] Fukumoto M., Kurisu S., Yamada T., Takenawa T.: α -Actinin-4 enhances colorectal cancer cell invasion by suppressing focal adhesion maturation. *PLoS One*, 2015; 10: e0120616.
- [4] van der Gaag E.J., Leccia M.T., Dekker S.K., Jalbert N.L., Amodeo D.M., Byers H.R.: Role of Zyxin in Differential Cell Spreading and Proliferation of Melanoma Cells and Melanocytes. *J. Invest. Dermatol.*, 2002; 118: 246–254.
- [5] Ma B., Cheng H., Gao R., Mu C., Chen L., Wu S., Chen Q., Zhu Y.: Zyxin-Siah2–Lats2 axis mediates cooperation between Hippo and TGF- β signalling pathways. *Nat. Commun.*, 2016; 7: 11123.
- [6] Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A.: Cancer statistics, 2019. *CA. Cancer J. Clin.*, 2019; 69: 7–34.

Zmiany elastyczności i sztywności tętnic udowych świń domowej w okresie wzrostu w pomiarach eTracking

Robert Paślawski^{1, 2}, Urszula Paślawska^{1, 2, 3}, Adrian Janiszewski^{2, 4},
Andrzej Szuba^{2, 5}

¹ Veterinary Center Nicoalus Copernicus University Toruń ul. Gagarina 7,
87-100 Toruń r.paslawski@umk.pl

² WROVASC – Regional Specialist Hospital in Wrocław, Research and Development Centre,
ul. Kamieńskiego, 73a 51-124 Wrocław, Poland

³ Department of Internal and Diseases with Clinic for Horses, Dogs and Cats,
Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences,
pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, Poland

⁴ Faculty of Veterinary Medicine and Life Science Institute Poznań University
of Life Sciences, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

⁵ Division of Angiology, Wrocław Medical University, Pasteur 1 str, 50-367 Wrocław

Słowa kluczowe: elastyczność tętnic, wartości fizjologiczne, świnia

1. Wstęp

Jedną z nowoczesnych technik ultrasonograficznych pozwalających ocenić elastyczność ścian tętnic jest automatyczna detekcja ruchu ścian tętnic (wywołanego przez falę tętna – eTracking). Zastosowanie ultradźwięków o długości fali radiowej 10MHz pozwala na uzyskanie bardzo wysokiej rozdzielczości (0,01 mm) umożliwiającej precyzyjne śledzenie ruchu tętnicy w stosunkowo długim okresie czasu np. 20 fal tętna.

Celem niniejszego eksperymentu było określenie wartości prawidłowych elastyczności ścian tętnic u świń domowej mierzonych metodą e Tracking w okresie wzrostu.

2. Materiał i metody

Badania wykonano u 10 świń domowych okresie od 3 (tj. po uzyskaniu masy ciała 40 kg) do 15 miesiąca życia. Pomiarów wykonywano co trzy miesiące. Po uzyskaniu maksymalnie szerokiego przekroju podłużnego przez ścianę tętnicy udowej w obrazowaniu B-mode umieszczano znaczniki na hyperechogenicznej ścianie przedniej i tylnej naczynia a oprogramowanie aparatu (wykorzystujące tryb B i M-mode) automatycznie śledziło przemieszczanie się tych znaczników wraz z cyklami jego rozszerzania się pod wpływem przepływającej fali tętna. Uzyskany zapis analizowany był łącznie z symultanicznie rejestrowanym zapisem EKG. Analizowano następujące wskaźniki: AC – Arterial Compliance indeks rozciągliwości ściany naczynia $AC = \pi/4(Ds^2 - Dd^2)/(Ps - Pd)$, β – wskaźnik sztywności ścian tętnic, AI – Augmentation Index $AI = \Delta P/PP$, E_p – wskaźnik epsilon, pressure-strain elasticity modulus $E_p = (Ps - Pd)/[(Ds - Dd)/Dd]$, współczynnik

$\beta = \log_n(P_s/P_d)/[(D_s - D_d)/D_d]$, $PWV\beta$ – One-point pulse wave velocity $PWV\beta = \sqrt{(\beta \times Pd/2 \times p)}$, gdzie p stanowi gęstość krwi = 1.05 kg/m^3 , D_{\max} – maksymalna średnica tętnicy udowej wyliczana z kilkunastu pomiarów fali tętna, D_{\min} – minimalna średnica tętnicy udowej. Ponieważ świnie w czasie trwania doświadczenia rosły, co mogło wpływać na zmianę wielkości średnicy naczynia włączono do analizy wskaźnik otrzymany przez podzielenie średnicy naczynia przez masę ciała. Doświadczenie uzyskało zgodę 2 Lokalnej Komisji Etycznej we Wrocławiu.

3. Wyniki

	Start	3 miesiące	6 miesięcy	9 miesięcy	12 miesięcy	Poziom istotności
Masa ciała [kg]	40 ± 28	132 ± 9,7*	195 ± 17	237 ± 29	247 ± 28	NS
AC [mm ² /kPa]	0,16 ± 0,08	0,18 ± 0,13	0,24 ± 0,16	0,58 ± 0,37*	0,48 ± 0,3	0,04
AI [%]	16,6 ± 28,3	11,4 ± 32	-6,6 ± 34	28 ± 23	22,4 ± 20	NS
Ep [kPa]	323 ± 197	557 ± 28	439 ± 258	172 ± 81	239 ± 193	NS
PWVβ [m/s]	10,75 ± 3,1	14,3 ± 4	12,7 ± 4,06	7,7 ± 1,9	9,2 ± 3,7	0,04
β	24,5 ± 15	39,6 ± 20	34 ± 19,8	11 ± 5,3*	17 ± 5,6*	0,038
D max [mm]	5,07 ± 0,64	7,1 ± 0,74	6,96 ± 0,96	7,2 ± 0,65	7,4 ± 1,2	NS
D min [mm]	4,96 ± 0,6	7 ± 0,7	6,84 ± 0,95	6,9 ± 0,78	7,1 ± 1,25	NS

* różnica istotna statystycznie w porównaniu do badania poprzedzającego, NS – różnica nieistotna statystycznie. AC – indeks rozciągliwości ściany naczynia, β – wskaźnik sztywności ścian tętnic, AI – index wzmocnienia $AI = \Delta P/PP$, Ep – wskaźnik epsilon, Ep pressure-strain elasticity modulus, współczynnik β, $PWV\beta$ – One-point pulse wave velocity, D_{\max} – maksymalna średnica tętnicy udowej, D_{\min} – minimalna średnica tętnicy udowej.

4. Dyskusja

Stwierdzono, że podatność ścian naczyń wzrasta z wiekiem do 9 miesiąca życia – w tym wieku jest najwyższa, po czym nieznacznie spada. Sprężystość podłużna ściany naczynia nie zmieniała się istotnie. Natomiast sztywność naczynia określona wskaźnikami β i $PWV\beta$ spada z wiekiem do 9 miesiąca życia – w tym wieku jest najniższa, po czym nieznacznie wzrasta.

W pierwszych 9 miesiącach życia obserwuje się stopniowy wzrost elastyczności naczynia, po czym zaczyna wzrastać jego sztywność. Sprężystość podłużna nie ulega w tym okresie istotnym zmianom.

Badania morfologiczne krwi whippetów w Polsce

Robert Paślawski¹, Joanna Skonieczna², Agnieszka Kurosad³,
Michał Płóciennik⁵, Kacper Nowak⁵, Urszula Paślawska^{1, 3, 4}

¹ Veterinary Center Nicoalus Copernicus University Toruń ul. Gagarina 7,
87-100 Toruń r.paslawski@umk.pl

² Division of Histology and Embriology Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University
of Environmental and Life Sciences, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, Poland

³ Department of Internal and Diseases with Clinic for Horses, Dogs and Cats,
Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences,
pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, Poland

⁴ Faculty of Veterinary Medicine and Life Science Institute Poznań University of Life
Sciences, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań

⁵ Students Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental
and Life Sciences, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, Poland

Słowa kluczowe: erycyty, wartości fizjologiczne, pies, whippet

1. Wstęp

Ścisła selekcja w hodowli psów rasowych dążyła do podnoszenia wartości użytkowej psów, co spowodowało utrwalenie różnic anatomicznych i fizjologicznych. W latach 2000–2013 opublikowano normy badań morfologicznych i biochemicznych krwi whippetów (chartów średniej wielkości wyhodowanych w Anglii, głównie z przeznaczeniem do użytkowania wyścigowego) oraz badań RTG i EKG. Badaniami nie objęto chartów trenowanych wyścigowo.

Celem niniejszego eksperymentu było określenie które z odmienności badania morfologicznego krwi są związane z treningiem wyścigowym, a które są cechą typową dla rasy whippet.

2. Materiał i metody

Psy: Badaniem objęto 95 psów będących prywatną własnością. Badanie nie wymagało zgody komisji etyki, ponieważ nie wykraczało poza rutynowe czynności diagnostyczne dorocznej kontroli zdrowia. Do badania włączano zdrowe psy 47 samców i 48 samic, o wadze ($14,18 \pm 2,58$), w wieku 6 mies.–14 lat ($4 \pm 3,1$; median 3). Psy podzielono na 3 grupy 1) młode – 6 mies.–2 lat ($n = 30$), 2) dorosłe – 2–8 lat ($n = 30$), 3) starsze > 8 lat ($n = 10$). Do badania włączano psy nie trenujące wyczynowo.

Badanie krwi: Krew do badań pobierano z żyły dostopowej do probówek z EDTA i probówek bez antykoagulantu. Krew badano niezłocznie analizatorem Animal Blood Counter ABC Vet (Gurnee, USA): WBC (white blood cells), RBC (red blood cells) PLT

(plattelet), HGB (concentration of hemoglobine), HCT (hematocrit), MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobine) and MCHC (mean corpuscular hemoglobine concentration). Dodatkowo wykonywano rozmaz krwi i mierzono średnicę 30 erytrocytów. Średnia z wykonanych pomiarów od poszczególnych psów była używana do dalszych obliczeń.

Poziom erytropoetyny oznaczano za pomocą Dog Erythropoietin Elisa Kit MyBioSource Inc USA catalog nr MBS289678.

3. Wyniki

	Whippet nie trenujące			Whippet wyścigowe ¹	Wartości fizjologiczne psy
	zakres	samce n = 47	samice n = 44		
RBC T/L	7.4–8.5	8.29 ± 0.7	7.7 ± 0.7*	5.9–9.9	4.6–8.5
HCT %	54.5–62.4	59.9 ± 4.6	56.9 ± 7*	44–65.6	0.37–0.55
HGB g%	17.9–20.6	20.3 ± 1.4	1873 ± 2*	15.3–22.8	7.4–11.27
MCV fL	69.9–77	72.4 ± 4.4	73.5 ± 4.7	65.7–80.1	60–77
MCH pg	23.5–25.1	24.5 ± 1.6	24.2 ± 1.6	21.5–27.4	19–24
MCHC g/dl	32–34.8	33.8 ± 2.2	33 ± 1.8	29.8–36.4	19.8–22.3
WBC G/L	4.85–6.97	6.2 ± 1.9	6.13 ± 1.8	3.3–10.4	6–16.5
PLT G/L	167–231	194 ± 41	215 ± 58	82–270	200–580
EPO µg/ml	2.17 ± 0.73	2.35 ± 0.01	2.15 ± 0.8*		6–32

* różnica istotna statystycznie w porównaniu do badania poprzedzającego, NS- różnica nieistotna statystycznie, ¹ Uhrikova 2013.

4. Dyskusja

Wcześniejsze badania wykazały że whippet wyścigowe mają w porównaniu do psów innych ras podwyższoną liczbę RBC, HCT i HB. Wzrost liczby RBC może być spowodowany m.in. zmniejszeniem wielkości erytrocytów [2]. Porównanie średnicy komórek i ich objętości whippetów i psów innych ras nie wykazało różnic. Kolejną hipotezą, którą testowano było założenie, że intensywny wysiłek tj. sprinterski galop może skutkować gwałtownym zużyciem tlenu i powodować powtarzające się epizody niedotlenienia tkanek. Hipoksja jest znanym czynnikiem stymulującym erytropoezę za pośrednictwem erytropoetyny [3]. Nie stwierdzono u badanych whippetów podwyższonego poziomu EPO. Whippet nie trenujące miały mniej RBC niż whippet wyścigowe. 51 % miało leukopenia, ale miały one więcej WBC niż whippet wyścigowe. U whippetów podobnie jak u pozostałych chartów eozynofile wykazują słabą barwliwość ziarnistości, które nie są typowo różowe, ale przyjmują barwę szarą. Pomimo zmian barwliwości nie

stwierdzono zaburzeń czynności eozynofili, tak jak nie zauważono wzrostu zachorowalności u psów z leukopenia.

Wzrost liczby RBC i spadek WBC jest cechą rasową, ale ich stopień jest zależny od treningu. Erytrocytoza nie ma związku z wzrostem EPO. Whippetty podobnie jak inne charty mają „szare eozynofile” o prawidłowej funkcji.

Piśmiennictwo

- [1] Uhrikova I, Lacnakova A, Tandlerova K, Kucharova V, Rehakova K, Janova E, Doubek J. Haematological and biochemical variations among eight sighthound breeds. *Aust Vet J* 2013; 91:452–459.
- [2] Holman HH: A negative correlation between size and number of the erythrocytes of cows, sheep, goats and horses. *J Path Bacteriol* 1952, 64(2), 379–384.
- [3] Faiss R, Girard O, Millet GP: Advancing hypoxic training in team sports: from intermittent hypoxic training to repeated sprint training in hypoxia. *Br J Sports Med.* 2013, 47, 45–50.

Ruchomość odcinka lędźwiowego kręgosłupa a kąt przodopochylenia miednicy u młodych dorosłych kobiet

Patrycja Proskura, Małgorzata Sobera

Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Słowa kluczowe: ruchomość kręgosłupa, kąt przodopochylenia miednicy, ból kręgosłupa

1. Wstęp

Bóle kręgosłupa stanowią w dzisiejszych czasach poważny problem i występują u coraz młodszych ludzi. Dolegliwości dolnego odcinka kręgosłupa, mogą być związane z zaburzeniami w ruchomości kręgosłupa [1]. Kolejną z możliwych przyczyn występowania bólu kręgosłupa, mogą być nieprawidłowo ukształtowane przednio-tylne krzywizny kręgosłupa. Fundamentem prawidłowego ukształtowania krzywizn kręgosłupa jest położenie miednicy tzn. wielkość kąta przodopochylenia miednicy. Wartość tego kąta u młodych kobiet powinna mieścić się w zakresie od 12 do 20 stopni mierzona przyrządem o nazwie Duometr [2]. Zakłada się, że zarówno kąt przodopochylenia miednicy, jak i zwiększona lub zmniejszona ruchomość kręgosłupa w odcinku lędźwiowym może być przyczyną bólu.

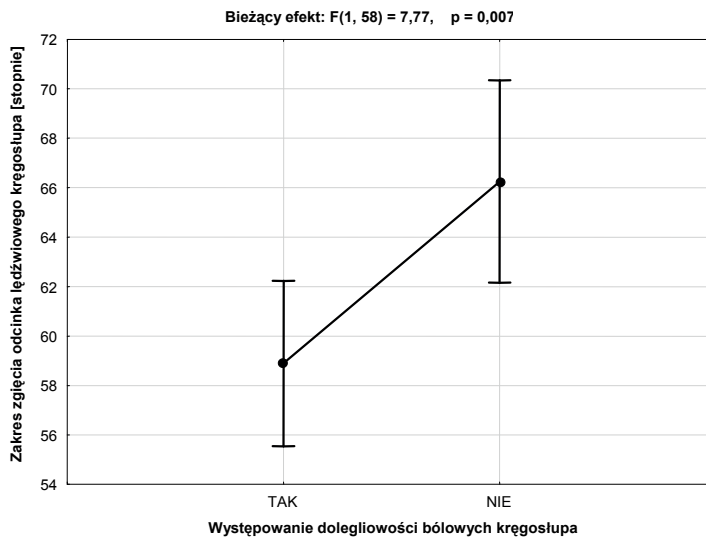
Celem badań jest określenie związków występowania bólu z ruchomością kręgosłupa w odcinku lędźwiowym oraz z wielkością kąta przodopochylenia miednicy u młodych kobiet.

2. Materiał i metody

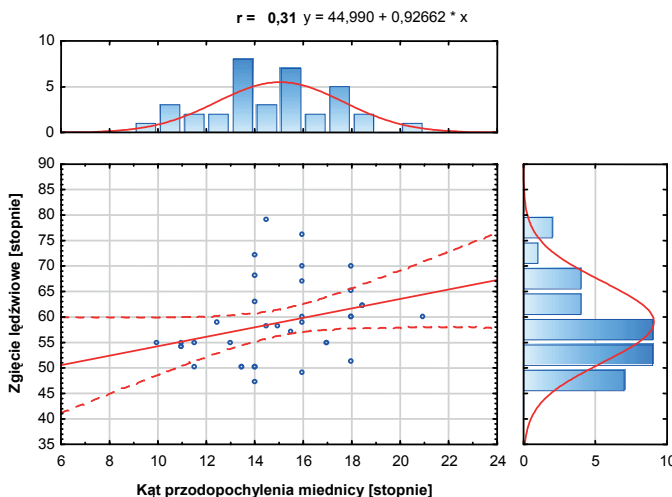
Badaniami objęto 60 studentek Akademii Wychowania Fizycznego w wieku od 19–23 lat. Grupę badawczą stanowiło 42 studentek Wydziału Wychowania Fizycznego i 18 studentek Wydziału Fizjoterapii, od których w wywiadzie zebrano informację na temat bólu w odcinku lędźwiowym kręgosłupa. Badane podzielono na 2 grupy: z bólem i bez bólu. W celu zbadania ruchomości odcinka lędźwiowego kręgosłupa wykorzystano Cyfrowy Inklinometr Saundersa (Cyfrowy Pochyłomierz Saundersa. Instrukcja obsługi. Technomex, Sp. z O.O. Gliwice). Natomiast w celu zbadania wielkości kąta przodopochylenia miednicy wykorzystano Duometr firmy OPIW (www.opiw.pl). Normalność rozkładu wyników wielkości kąta przodopochylenia miednicy i ruchomości kręgosłupa w odcinku lędźwiowym w płaszczyźnie strzałkowej sprawdzono testem Shapiro-Wilka z uwzględnieniem czynnika bólu u badanych. Rozkłady te spełniały warunek normalności. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) w celu określenia związków występowania bólu z ruchomością kręgosłupa.

3. Wyniki

Po przeprowadzeniu zaobserwowano jedną istotną statystycznie różnicę w wielkości zakresu zgięcia odcinka lędźwiowego kręgosłupa w grupach kobiet z dolegliwościami bólowymi kręgosłupa i bez (ryc. 1). Grupy te nie różniły się istotnie statystycznie w wielkości kąta przodopochylenia miednicy, a także w wielkości zakresu wyprustu odcinka lędźwiowego. Jednakże w grupie kobiet bez dolegliwości bólowych obserwuje się nieznacznie większe wartości obu tych miar w porównaniu do grupy kobiet deklarujących ból kręgosłupa. Zaobserwowano również jedną istotną statystycznie korelację pomiędzy wielkością kąta przodopochylenia miednicy a zakresem zgięcia odcinka lędźwiowego kręgosłupa (ryc. 2).



Ryc. 1. Rozkład wyników zakresu zgięcia odcinka lędźwiowego kręgosłupa w grupie osób z dolegliwościami bólowymi kręgosłupa (n = 36) i bez dolegliwości (n = 24).



Ryc. 2. Związek zakresu zgięcia odcinka lędźwiowego kręgosłupa i wielkości kąta przodopochylenia miednicy (n = 36).

4. Dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, iż zakres ruchu zgięcia odcinka lędźwiowego kręgosłupa jest większy wśród osób bez dolegliwości bólowych kręgosłupa, co potwierdzają inne badania [1]. Może być to związane z tym, że wśród osób, które odczuwają ból kręgosłupa następuje tzw. adaptacja nerwowo-mięśniowa w celu zmniejszenia sił i deformacji w tkankach dolnej części pleców i uniknięcia nasilenia bólu [3].

Biorąc pod uwagę występowanie dodatniej korelacji wielkości kąta przodopochylenia miednicy tylko z ruchomością w zgięciu kręgosłupa do przodu i tylko u osób z dolegliwościami bólowymi kręgosłupa możemy wnioskować, że wśród osób odczuwających ból kręgosłupa większy kąt miednicy jest związany z większą ruchomością kręgosłupa w kierunku do przodu, co potwierdzają także inne badania [2, 3].

Podsumowując ból kręgosłupa u młodych dorosłych kobiet jest związany głównie z ruchomością kręgosłupa w odcinku lędźwiowym w zgięciu do przodu czego nie obserwuje się w przypadku zgięcia kręgosłupa do tyłu.

Wpływ regularnych treningów piłki nożnej na postawę ciała chłopców w wieku 12–13 lat

Justyna Pustelnik¹, Sylwia Szotek²

¹ Międzywydziałowe Koło Naukowe Biomechaników, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska

² Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska

Słowa kluczowe: postawa ciała, piłka nożna, metoda fotogrametryczna, młodzież

1. Wstęp

Prawidłowa postawa ciała to ważny element biologicznego rozwoju młodzieży. W erze smartfonów i komputerów, wielu młodych ludzi nadal spędza swój wolny czas na uprawianiu różnych dyscyplin sportowych. Wśród chłopców od zawsze prym wiodła piłka nożna, czy to początkowo na zajęciach wychowania fizycznego czy też na dodatkowych zajęciach poza szkołą. Długotrwały i regularny wysiłek, jakim niewątpliwie jest uczęszczanie na treningi sportowe, może mieć jednak negatywny wpływ dla postawy ciała młodych i ciągle rosnących nastolatków [1]. Celem przeprowadzonych pomiarów było zbadanie wpływu regularnych treningów piłkarskich na postawę ciała chłopców w wieku 12–13 lat.

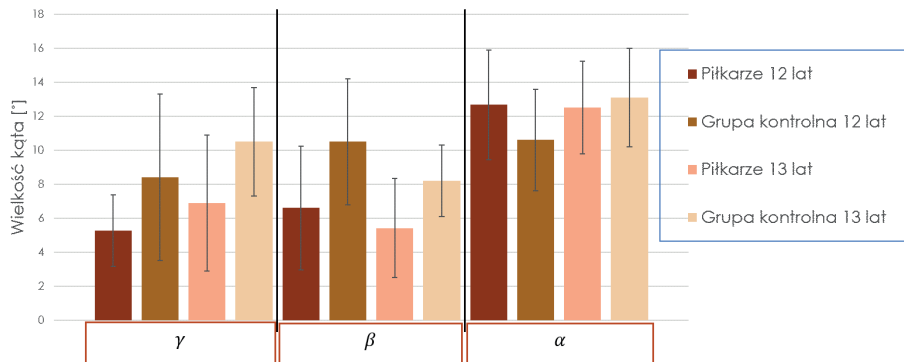
2. Materiał i metoda

Grupę badawczą stanowiło 33 zawodników klubu WKS Śląsk z Wrocławia. Przebadano 8 zawodników w wieku 12 lat oraz 25 zawodników w wieku 13 lat. Zawodnicy odbywali 3 treningi trwające 90 minut oraz mecz trwający ok. 60 minut, w ciągu tygodnia. Każdy trening poprzedzała rozgrzewka trwająca ok. 15 minut. Do diagnostyki postawy zawodników zastosowano metodę fotogrametryczną z wykorzystaniem mory projekcyjnej. Pomiary przeprowadzono z użyciem urządzenia Mora3G (CQ Electronics System, Polska).

Wyniki otrzymane dla grupy badawczej, zostały zestawione z danymi literaturowymi, uzyskanymi w badaniach przeprowadzonych przez Mrozkowiaka [2]. W badaniu wyznaczano kąty nachylenia odcinków kręgosłupa w płaszczyźnie strzałkowej dla odcinków: piersiowego – górnego (α), piersiowo-lędźwiowego (β) oraz lędźwiowo-krzyżowego (γ). Parametry te pozwoliły na klasyfikację postawy ciała badanych osób, zgodnie z typami Wolańskiego w modyfikacji Zeyland-Malawki [3].

3. Wyniki

Porównując wyniki otrzymane dla grupy badawczej, z wartościami literaturowymi stwierdzono, że 12- i 13-latkowie grający w piłkę, charakteryzują się mniejszą wartością kąta nachylenia odcinka lędźwiowo-krzyżowego (γ) niż ich nie trenujący rówieśnicy. Różnica między 12-latkami wynosiła średnio 38%, a między 13-latkami, 27%. Odwrotną relację zaobserwowano dla kąta nachylenia odcinka piersiowo-lędźwiowego kręgosłupa (β), który większą wartość osiągnął u chłopców opisanych w literaturze. Dla tego parametru, różnice wynosiły 36% dla 12-latków i 39% dla 13-latków. Powodem takich wyników może być obciążenie odcinka lędźwiowego kręgosłupa, podczas treningów piłkarskich. Porównując wartości kąta nachylenia odcinka piersiowego-górnego kręgosłupa (α) nie zauważono wyraźnego trendu. Otrzymane wyniki zestawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Zestawienie wartości kątów α , β oraz γ otrzymanych dla grupy badawczej z danymi literaturowymi

Uzyskane wyniki pozwoliły na określenie typu sylwetki zgodnie z typologią Zeyland-Malawki. W grupie badanych zawodników 18% osób posiadało typ postawy równoważny I (RI), sklasyfikowany jako bardzo dobry. Pozostała część grupy, uzyskała typy: kifotyczny I (KI) – 73%, równoważny II (RII) – 6% lub lordotyczny I (L1) – 3%, które zostały określone jako dobre. Nie zaobserwowano wystąpienia pozostałych typów postawy, czyli tych które uznane są za wadliwe lub złe.

4. Dyskusja

Wpływ na prawidłową postawę zawodników, ma bardzo wiele czynników, dlatego ocena konkretnej przyczyny wad czy nieprawidłowości, jest problematyczna. Można jednak wnioskować, że uzyskane wyniki, spowodowane były treningami piłkarskimi i ich wpływem na obciążenie odcinka lędźwiowego kręgosłupa. Podobne tendencje uzyskano dla dorosłych piłkarzy, co może sugerować, że wieloletnie treningi piłkarskie, utrwalają cechy sylwetki, powstałe w wieku młodzieńczym. Regularnie przeprowadzanie badań, umożliwia kontrolę nad sylwetkami zawodników, co jest istotne przy upra-

wianiu sportów asymetrycznych, takich jak piłka nożna [4]. Pozwala to na wprowadzanie ćwiczeń, które mogą kompensować istniejące wady postawy. Monitorowanie postawy młodych zawodników, pozwala również wyeliminować metody treningowe, które mogą być przyczyną problemów zdrowotnych sportowców.

Piśmiennictwo

- [1] Pietraszewska J., Pietraszewski B., Burdukiewicz A., *Komputerowa ocena postawy ciała młodych piłkarzy nożnych – wybrane parametry biomechaniczne*, Acta Bio-Optica et Informatica Medica 2009;4(15):352–355.
- [2] Mrozkowiak M., *Modulacja, wpływ i związki wybranych parametrów postawy ciała dzieci i młodzieży w wieku od 4 do 18 lat w świetle mory projekcyjnej*, Tom I i Tom II, Wydawnictwo Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego, Bydgoszcz, 2015.
- [3] Zeyland-Malawka E., *Klasyfikacja i ocena postawy ciała w modyfikacjach metody Wolańskiego i Nowojorskiego Testu Klasyfikacyjnego*, Zakład Antropometrycznych Podstaw Zdrowia AWF, Gdańsk, 1999.
- [4] Mrozkowiak M., Sokołowski M., Kaiser A., *Wpływ wysiłku fizycznego wybranych dyscyplin sportowych na habitualną postawę ciała = The effect of physical exercise on selected sports on habitual posture*. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(10):131.

Proapoptotyczne działanie resweratrolu w raku trzustki

Katarzyna Ratajczak¹, Małgorzata Drag-Zalesińska¹,
Natalia Glatzel-Plucińska¹, Aleksandra Piotrowska¹,
Agnieszka Gomułkiewicz¹, Katarzyna Nowińska¹, Piotr Dziegiel^{1, 2},
Sylvia Borska¹

¹ Katedra Morfologii i Embriologii Człowieka, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. T. Chałubińskiego 6a, 50-368 Wrocław

² Katedra Fizjoterapii, Akademia Wychowania Fizycznego, Al. Ignacego Paderewskiego 35, 51-612 Wrocław

Słowa kluczowe: resweratrol, apoptoza, rak trzustki

1. Wstęp

Pomimo postępu, jaki dokonał się w dziedzinie programów wczesnego wykrywania nowotworów, nadal stanowią one jeden z największych problemów współczesnej medycyny [1]. Szczególny problem stanowią nowotwory przewodu pokarmowego, zwłaszcza nowotwory trzustki, które ze względu na brak charakterystycznych objawów są diagnozowane zbyt późno, aby móc wdrożyć skuteczne metody leczenia. Ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych można zmniejszyć poprzez dobór odpowiednio zbilansowanej diety, bogatej w warzywa i owoce, co potwierdziły wyniki licznych badań naukowych. Z tego względu coraz częściej wykonywane są badania nad prozdrowotnym działaniem substancji naturalnych, wykazujących zróżnicowany szereg aktywności biologicznych [2]. Przykładem takich substancji są polifenole roślinne, w tym *trans*-resweratrol [3].

Celem naszych badań była ocena w warunkach *in vitro* proapoptotycznego działania różnych dawek resweratrolu na wybrane linie raka trzustki.

2. Materiał i metody

Do badań wykorzystano linie komórkowe ludzkiego raka trzustki: EPP85-181P, EPP85-181RNOV, AsPC-1 oraz (jako kontrolę) linię prawidłową trzustki H6c7. Hodowlę linii EPP85-181P oraz EPP85-181RNOV prowadzono w medium hodowlanym L-15 z dodatkiem odpowiednich suplementów [4]. Do hodowli komórek linii AsPC-1 i H6c7 wykorzystano odpowiednio medium RPMI-1640 ATCC Modification i Keratinocyte-SFM. W celu określenia proapoptotycznego działania resweratrolu, komórki poddano działaniu związku w stężeniach: 25, 50 i 100 μM przez 48 godzin. Oceny uszkodzeń apoptotycznych dokonano za pomocą metody cytometrii przepływowej, metody TUNEL oraz real-time PCR.

3. Wyniki

Działanie resweratolem w trzech wybranych stężeniach: 25, 50 i 100 μM pozwoliło zaobserwować istotny statystycznie, zależny od dawki, wpływ tego związku na indukowanie apoptozy w badanych liniach komórkowych. Najbardziej efektywne działanie uzyskano dla stężenia 100 μM w przypadku wszystkich linii nowotworowych trzustki. Największy wpływ resweratrolu na indukowanie apoptozy odnotowano w komórkach linii EPP85-181RNOV, natomiast najmniejszą aktywność proapoptotyczną w przypadku linii AsPC-1.

4. Dyskusja

Pomimo licznych badań na przestrzeni wielu lat, mechanizm antynowotworowego działania resweratrolu nie został do końca poznany. Wiadomo jednak, że jest związkiem wykazującym aktywność na wszystkich etapach procesu kancerogenezy [5]. Wyniki naszych badań wskazują, że proapoptotyczne działanie resweratrolu zależy od użytego stężenia i czasu inkubacji oraz rodzaju linii komórkowej. Ustalenie najbardziej efektywnych dawek tego związku pozwoli na dalsze badania nad oszacowaniem mechanizmów prowadzących do śmierci komórek na drodze apoptozy w przypadku raka trzustki.

Piśmiennictwo

- [1] Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, Ahmedin Jemal. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CANCER J CLIN* 2018; 68:394–424.
- [2] An-Na Li, Sha Li, Yu-Jie Zhang, Xiang-Rong Xu, Yu-Ming Chen, Hua-Bin Li. Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols. *Nutrients* 2014;6:6020–6047.
- [3] Bolanle C. Akinwumi, Kimberly-Ann M. Bordun, Hope D. Anderson. Biological Activities of Stilbenoids. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19:792.
- [4] Sylwia Borska, Monika Pedziwiatr, Monika Danielewicz, Katarzyna Nowinska, Bartosz Pula, Małgorzata Drag-Zalesinska, Mateusz Olbromski, Agnieszka Gomulkiewicz, Piotr Dziegiel. Classical and atypical resistance of cancer cells as a target for resveratrol. *Oncol. Rep.* 2016;36:1562–1568.
- [5] Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Mehta RG, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science.* 1997;275:218–220.

Badania biomechaniczne struktur czaszkowo-mózgowych

Monika Ratajczak¹, Mariusz Ptak², Romuald Będziński¹

¹ Uniwersytet Zielonogórski, Wydział Mechaniczny, Zielona Góra

² Politechnika Wrocławska, Wydział Mechaniczny, Wrocław

Słowa kluczowe: metoda elementów skończonych, biomechanika tkanek głowy, urazowe uszkodzenie mózgu

1. Wstęp

Urazowe uszkodzenie mózgu stanowi jedną z najbardziej dotkliwych chorób we współczesnym świecie (WHO, 2010). Główną przyczyną uszkodzeń tkanek mózgowych jest działanie mechanicznych przeciążeń występujących podczas wypadków komunikacyjnych, urazów sportowych, upadków, a także ataków przemocy. Detekcja destrukcji struktur mózgowych jest niezwykle istotna w aspekcie zapobiegania i leczenia, a co za tym idzie zwiększenia bezpieczeństwa współczesnej społeczności, obniżając tym samym czas i koszty leczenia. Problematyka uszkodzeń tkanek mózgowych jest bardzo szeroka i wymaga dalszych badań. Równocześnie badania literaturowe sugerują, że główne mechanizmy zaburzeń struktury i funkcji mózgu w tym chorób neurologicznych są bezpośrednio związane z przekroczeniem granicznych odkształceń struktur mózgowy [1]. Aktualnie mechanizmy degradacji tkanek mózgowych nie są dokładnie opisane i zidentyfikowane. Najlepszym sposobem analizy degradacji tkanek mózgowych są badania przyżyciowe na preparatach ludzkich, jednak z oczywistych względów są one zabronione. Dlatego przy obecnym stanie wiedzy jednym z lepszych sposobów identyfikacji odpowiedzi struktur mózgowych na działanie sił jest modelowanie numeryczne, w szczególności metoda elementów skończonych [2]. Występuje ona w postaci niejawnej (implicit) oraz w ujęciu bezpośrednim (explicit). Należy podkreślić, że większość zjawisk dynamicznych można analizować obiema metodami. Jednakże wybór odpowiedniej metody symulacyjnej zależy od rodzaju rozpatrywanego zjawiska, w tym czasu oraz ilości zasobów potrzebnych do wykonania obliczeń. Do badań zjawisk szybkozmiennych, do jakich zalicza się badania modeli głowy człowieka podczas obciążeń udarowych, wskazana jest metoda explicit. Głównie z uwagi na dużą efektywność numeryczną w definiowaniu i symulacji zjawisk kontaktowych zachodzących na styku struktur czaszkowo-mózgowych oraz pomiędzy poszczególnymi tkankami miękkimi.

Aktualnie w literaturze opracowano kilka modeli numerycznych głowy człowieka. Niemniej jednak występują pewne rozbieżności w sposobie modelowania tkanki mózgowej stosowane przez różnych autorów. Rozbieżności te przekładają się na odmienną odpowiedź mechaniczną wynikającą z zadanych obciążeń. W efekcie tego jednoznaczna interpretacja i ocena stopnia degradacji tkanki mózgowej jest znacznie utrudniona. Stąd też, zdaniem autorów istnieje potrzeba opisu mechanicznego zachowania

się tkanek mózgowych, przede wszystkim poprzez badania numeryczne, a także sformułowanie modeli materiałowych. Celem pracy było opracowanie modelu obliczeniowego tkanek mózgowych z wykorzystaniem metod obrazowania oraz dobranie odpowiedniego modelu materiałowego dla tkanki mózgowej. Opracowany model został odniesiony do wyników badań eksperymentalnych przeprowadzonych na zwłokach ludzkich.

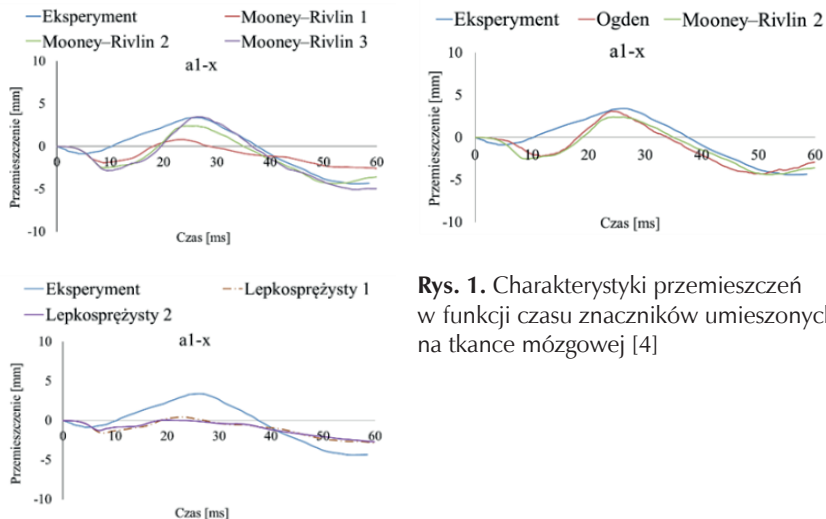
2. Materiał i metody

Model geometryczny 3D mózgu i czaszki utworzono na podstawie obrazów medycznych uzyskanych ze skanerów medycznych. Utworzony obiekt 3D wyeksportowano do formatu STL, który umożliwił dalszą obróbkę cyfrową z użyciem programów klasy CAx. Geometrię mózgu na cztery fragmenty: prawa półkula mózgu, lewa półkula mózgu, prawa i lewa część mózdzku. W modelu uwzględniono takie elementy jak: oponę twardą, płyn mózgowo-rdzeniowy, sierp mózgu i namiot mózdzku, zatoka strzałkowa górna oraz żyły mostkowe. Model numeryczny głowy został sprawdzony z badaniami eksperymentalnymi przeprowadzonymi na zwłokach ludzkich [3].

W analizie badano modele lepkosprężyste i hipersprężyste o różnych parametrach sztywności.

3. Wyniki

Przykładowe wyniki przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Charakterystyki przemieszczeń w funkcji czasu znaczników umieszczonych na tkance mózgowej [4]

4. Dyskusja

Podsumowując, najlepsze dopasowanie charakterystyki do eksperymentu uzyskano dla modelu hipersprężystego Mooney'a-Rivlina. Przeprowadzone badania wykazały, że wielkość względnego ruchu mózgu wzrasta wraz ze zmniejszającą się sztywnością tkanki mózgowej. Podobne wnioski w swoich badaniach wyciągnęli Kleiven i Hardy [5].

Piśmiennictwo

- [1] Miller K., 2011. Biomechanics of the Brain, Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering. Springer Science & Business Media, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9997-9>.
- [2] Ptak M., 2019. Method to Assess and Enhance Vulnerable Road User Safety during Impact Loading. Appl. Sci. 9, 1000. <https://doi.org/10.3390/app9051000>.
- [3] Ratajczak M., Ptak M., Chybowski L., Gawdzińska K., 2019. Material and Structural Modeling Aspects of Brain Tissue Deformation under Dynamic Loads. Materials (Basel). 12, 271. <https://doi.org/10.3390/ma12020271> WHO, 2010. WHO | Neurotrauma.
- [4] Ratajczak M., 2018. Analiza zmian parametrów biomechanicznych tkanek mózgowych spowodowanych obciążeniami dynamicznymi. Politechnika Wroclawska. Rozprawa doktorska.
- [5] Kleiven S., Hardy W.N., 2002. Correlation of an FE Model of the Human Head with Local Brain Motion Consequences for Injury Prediction. Stapp Car Crash J. 46, 123–44.

Wykorzystanie metody cyfrowej korelacji obrazu w badaniach polimerów pochodzenia naturalnego

Rafał Rudyk, Agnieszka Mackiewicz, Jagoda Kurowiak,
Agnieszka Kaczmarek-Pawelska, Romuald Będziński

Zakład Inżynierii Biomedycznej, Wydział Mechaniczny, Uniwersytet Zielonogórski

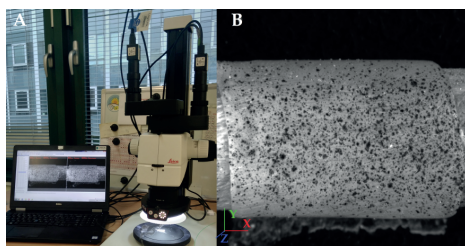
Słowa kluczowe: metoda cyfrowej korelacji obrazu, odkształcenie, hydrożel, stent urologiczny

1. Wstęp

Istotnym elementem w badaniach właściwości mechanicznych tkanek biologicznych i implantów jest metoda cyfrowej korelacji obrazu (DIC – Digital Image Correlation) [1]. Właściwości mechaniczne charakteryzujące materiały hydrożelowe w głównej mierze decydują o możliwościach ich zastosowania w medycynie np. jako scaffoldy lub na potrzeby medycyny regeneracyjnej [2]. Wpływ na odkształcalność materiałów hydrożelowych ma m.in. zastosowany rodzaj polimeru użyty do jego wytworzenia, jego stopień usieciowania czy też natura grup funkcyjnych monomerów. Celem badań było określenie właściwości odkształceniowych i deformacji polimerów pochodzenia naturalnego na przykładzie hydrożelu opracowanego na bazie alginianu sodu z wykorzystaniem metody cyfrowej korelacji obrazu. Zaproponowana technika badawcza nie ma jeszcze szerszego zastosowania w biomechanice co daje duże możliwości rozwoju związane z pomiarem wielokierunkowym tkanek wysoko odkształcalnych o dużej zawartości wilgoci.

2. Materiał i metody

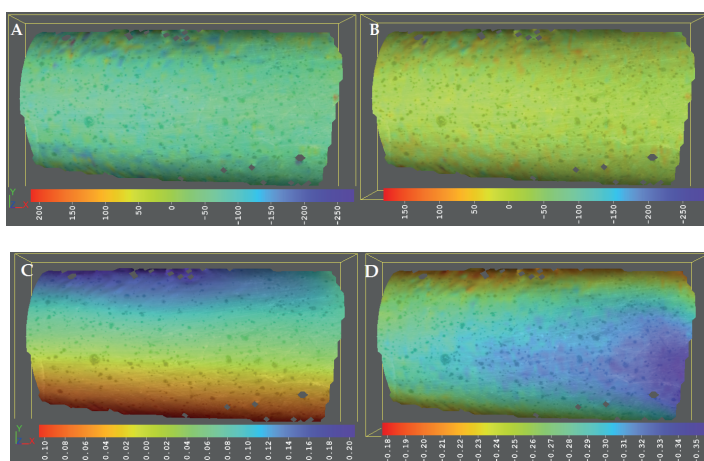
Przedmiotem badań stanowiły próbki wytworzone z materiału hydrożelowego na bazie alginianu sodu sieciowanego jonami baru. Badane elementy miały kształt rurowy, co wynika z ich docelowego zastosowania jako stenty urologiczne umiejscawiane w strefie zwężenia cewki moczowej. W zakresie mikro odkształceń powierzchni za najlepszą metodę pomiarową uznano cyfrową korelację obrazu. Stanowisko pomiarowe przedstawiono na rys. 1A. Celem uzyskania wiarygodnych wyników istotne było opracowanie techniki pomiaru z uwagi na zasadę działania urządzenia. Do wykonania patternu wykorzystano węgiel aktywowany (rys. 1B) tak aby algorytm korelacji mógł wyznaczyć przemieszczenie i odkształcenie powierzchniowe, podczas deformacji próbki. Obliczenia deformacji w trójwymiarowym układzie współrzędnych i wynikowe pole odkształcenia z sekwencyjnych obrazów obiektu są niezbędne do określenia parametrów mechanicznych polimerów i tkanek. Wymuszeniem deformacji było obwodowe rozprężenie balonika kardiologicznego, na którym umieszczono próbkę.



Rys. 1. Pomiar metodą cyfrowej korelacji obrazu: A – stanowisko badawcze, B – próbka z naniesionym stochastycznym wzorem.

3. Wyniki

Uzyskano wyniki rozkładu oraz charakterystyki dla parametru deformacji i odkształcenia próbki rurowej w trójwymiarowym układzie współrzędnych. Przykładowe wyniki rozkładu odkształcenia oraz deformacji w punkcie maksymalnego wymuszenia w kierunkach obwodowych Z i Y przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Pomiar DIC: Kierunkowy rozkład mikro-odkształcenia: A – w kierunku Y, B – w kierunku Z; Kierunkowe przemieszczenie: C – w kierunku Y, D – w kierunku Z

4. Dyskusja

Z uwagi na trójwymiarową strukturę geometryczną powierzchni krzywoliniowej badania biomechaniczne próbek pochodzenia naturalnego stanowią wyzwanie w zakresie pomiaru przemieszczeń i odkształceń. Nie ulega wątpliwości, że uzyskanie informacji na temat odkształcenia w skali mikro jest konieczne w celu określenia zachowania stentu pod wpływem wymuszenia spowodowanego przepływem moczu. Otrzymane wyniki badań potwierdziły stabilność struktury w warunkach zmiennego wymuszenia symulowanego obwodowym przyłożeniem sił powierzchniowych. Pozwala to na stwierdzenie, że opracowany materiał spełni funkcję odtworzenia drogi podczas przepływu moczu przy jednoczesnym utrzymaniu optymalnej średnicy światła do chwili regeneracji tkanek cewki moczowej, co stwarza podstawy do analiz numerycznych trójwymia-

rowych modeli stentów. Wykorzystanie metody cyfrowej korelacji obrazu pozwoliło częściowo na optymalizację warunków geometrycznych próbek wykonanych z hydrożelu co w literaturze zostało przedstawione w niewielkim zakresie przez takich autorów jak Sasson i jego zespół [3]. Jednocześnie otrzymane rezultaty staną się podstawą do określenia warunków brzegowych w modelu numerycznym interakcji materiału hydrożelowego z narządem jakim jest cewka moczowa.

Piśmiennictwo

- [1] Rusin T., Kopernik M., Characterization of Biocompatible Materials Using Stereo Microscope 3D Digital Image Correlation, *Ad. Eng. Materials*, 2016, 18(9), 1651–1660.
- [2] Hoffman A.S., Hydrogels for biomedical applications, *Advanced Drug Delivery Review*, 43, 2002, 3–12.
- [3] Sasson A., Patchornik S., Eliasy R., Robinson D., Haj-Ali R., Hyperelastic mechanical behavior of chitosan hydrogels for nucleus pulposus replacement—Experimental testing and constitutive modeling, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Material*, 8, 2012, 143–153.

Powinowactwo i selektywność związków powierzchniowo czynnych z rodziny surfaktantów gemini

Mateusz Rzycki, Beata Hanus-Lorenz, Marta Gładysiewicz-Kudrawiec,
Sebastian Kraszewski

Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska,
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

Słowa kluczowe: surfaktanty gemini, błona bakteryjna, dynamika molekularna, dokowanie molekularne

1. Wstęp

W związku z rosnącą z roku na rok antybiotykoopornością bakterii brakuje skutecznych leków do walki z nimi. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w swoich raportach szacuje, iż co najmniej 700 tysięcy osób rocznie przegrywa walkę z opornymi na działanie antybiotyków bakteriami. Jeżeli do 2050 roku nie zostaną odkryte nowe lekarstwa, śmierć może ponieść nawet 10 milionów osób w skali roku. Nowe podejście zakłada traktowanie bakterii surfaktantami (związkami powierzchniowo czynnymi) z rodziny „gemini” w celu zdestabilizowania błony, aż do jej zniszczenia. Surfaktanty, czyli związki powierzchniowo czynne poprzez swoje właściwości antibakteryjne umożliwiają niszczenie wspomnianej błony, doprowadzając do jej rozpuszczenia. Są zbudowane z hydrofilowych głów oraz hydrofobowych ogonów. Wyższe działanie biobójcze wykazują surfaktanty typu gemini, czyli dimery zbudowane z dwóch pojedynczych jednostek połączonych łącznikiem [1].

2. Materiał i metody

Stworzono dwa modele numeryczne błon komórkowych: bakteryjną oraz eukariotyczną za pomocą narzędzia *CHARMM-GUI* [2]. Modele zostały poddane symulacjom dynamiki molekularnej (ang. *Molecular Dynamics*, MD), które pozwoliły na obserwacje ruchu i położenia cząstek w czasie (tzw. trajektorie układu). Symulacje dynamiki molekularnej prowadzone były w programie *NAMD* 2.13 [3]. Następnie na otrzymanych trajektoriach numerycznych modeli błon komórkowych w programie *AutoDock Vina* przeprowadzono proces dokowania molekularnego związków antibakteryjnych – chlorheksydyny oraz oktenidyny, określając energie ich oddziaływania [4]. Wyniki poddano obróbce statystycznej.

3. Wyniki

W wyniku symulacji dynamiki molekularnej otrzymano stabilne modele numeryczne błon komórkowych bakteryjnej i zwierzęcej, które pozwoliły ukazać efekt dyfuzji lateralnej obserwowanej w postaci zmian grubości błon poprzez rotacje lipidów oraz fluktuacje ich przemieszczenia. Przeprowadzone symulacje dokowania molekularnego na całej trajektorii błony lipidowej odwzorowało możliwe modele przyłączeń cząsteczek oktenidyny oraz chlorheksydyny z konkretnymi wartościami energii swobodnych. Zestawiono wyniki w postaci histogramów generowanych energii swobodnych, a liczbą wystąpień. Nałożenie histogramów przyłączeń surfaktantów do błon bakteryjnych i do błon zwierzęcych, pozwoliło na określenie ich selektywności jako przesunięcia pomiędzy ich krzywymi funkcji gęstości. Wyniki wskazują, że chlorheksydyna wykazuje większą selektywność niż oktenidyna rozpoznając błonę bakteryjną z powinowactwem wyższym o 0, kcal/mol niż w przypadku błony eukariotycznej. Obie testowane substancje wykazują silne powinowactwo do warstwy hydrofobowej błony bakteryjnej na poziomie $-6,8$ kcal/mol dla oktenidyny i $-7,8$ kcal/mol dla chlorheksydyny.

4. Dyskusja

Na podstawie symulacji dynamiki molekularnej oraz dokowania molekularnego określono próg powinowactwa dla mechanizmu dezintegracji błony bakteryjnej oraz poziom selektywności wybranych związków antybakteryjnych.

Mechanizm oddziaływania surfaktantów z błoną rozpatrywano dwuetapowo. Efekt antybakteryjny polega na zniszczeniu, dezintegracji błony komórkowej, gdzie cząsteczka najpierw zakotwicza się na powierzchni monowarstwy, a następnie wnika do środka. Stąd pierwszym etapem jest dokowanie na powierzchni błony. Generowana energia określa sposób interakcji cząsteczki z błoną. Im niższa wartość energii swobodnej, tym większe powinowactwo antyseptyka do błony. Drugim etapem jest dokowanie na powierzchni bocznej błony. Wartość powinowactwa do warstwy hydrofobowej determinuje zdolność wchodzenia detergentu do błony. Dalsza analiza pozwoliła stwierdzić, iż chlorheksydyna wykazuje wyższe powinowactwo do błon bakteryjnych zarówno części hydrofilowych, jak i hydrofobowych. Zestawienie wyników w postaci histogramów pozwoliło na określenie selektywności obu związków względem analizowanych części błon komórkowych jako przesunięcie pomiędzy ich krzywymi rozkładu energii powinowactwa. W obu przypadkach energie części hydrofobowych były niższe, co sugeruje preferencje kierowania się cząsteczek do wnętrza błony, doprowadzając do ekspozycji ogonów hydrofobowych, a następnie emulgacji i docelowo zniszczenia błony lipidowej.

Dąży się do tego aby wykazywana selektywność była jak największa oraz działanie antybakteryjne jak najsilniejsze, natomiast, jak wskazują doniesienia literaturowe [5, 6] elementami które mogą mieć wpływ na wspomniany mechanizm dezintegracji błony to ilość atomów węgla w cząsteczce, długość łańcucha alkilowego, dodatki jonowe, modyfikacje łącznika cząsteczek typu gemini czy ilość atomów azotu. Połączenie i powiązanie istotności tych elementów pozwoli w niedalekiej przyszłości na stworzenie cząsteczki pretendującej do zastąpienia działania obecnie używanych antybiotyków.

Praca została wykonana dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki (nr grantu 2015/19/B/NZ7/02380). Obliczenia przeprowadzono przy użyciu zasobów udostępnionych przez Wrocławskie Centrum Sieciowo-Superkomputerowe (<http://wcss.pl>), grant numer 274.

Piśmiennictwo

- [1] L. Schramm *et al.*, *Surfactants and their applications*, Annual Reports Section C, 2003, vol. 99, 3–48.
- [2] J. Sunhwan *et al.*, *CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM*, Journal of Computational Chemistry, 2008, vol. 29, Issue 11.
- [3] J.C. Phillips *et al.*, *Scalable molecular dynamics with NAMD*. Journal of Computational Chemistry, 26:1781–1802, 2005.

Aktywność bioelektryczna kory mózgu w przebiegu narastania i spadku siły chwytu u młodych osób

Magdalena Siemiatycka, Anna Jaskólska, Łukasz Kamiński,
Joanna Mencil, Jarosław Marusiak, Artur Jaskólski,
Katarzyna Kisiel-Sajewicz

Katedra Kinezylogii, Wydział Fizjoterapii, Akademia Wychowania Fizycznego
we Wrocławiu

Słowa kluczowe: elektroencefalografia, relaksacja, precyzyjny chwyt

1. Wstęp

Ruch dowolny jest wynikiem komendy pochodzącej z kory mózgu, która aktywuje działanie mięśni szkieletowych. Wykonywanie ruchów dowolnych wiąże się z charakterystycznymi zmianami oscylacyjnymi sygnału bioelektrycznego i ich synchronizacją w korze somatosensorycznej [1]. W wykonywaniu ruchów dowolnych ważną rolę odgrywa nie tylko skurcz mięśni szkieletowych, ale także ich dezaktywacja podczas spadku siły (relaksacji) [2]. Prawidłowy ruch wymaga skoordynowanej aktywacji i dezaktywacji mięśni. Kluczowe znaczenie w prawidłowym skurczu mięśni w ruchu dowolnym ma precyzyjna kontrola narastania i spadku siły w odpowiednim czasie [3]. W wielu zaburzeniach neurologicznych niedostateczna dezaktywacja mięśni przyczynia się do nieprawidłowego programowania i wykonywania ruchów dowolnych. W szczególności dotyczy to dystonii, ale zaburzenia mechanizmów relaksacji uważane są również za istotną przyczynę zaburzeń ruchu u osób chorujących na chorobę Parkinsona [4]. Znaczna część literatury dotyczącej kontroli ruchu koncentruje się na mechanizmach narastania siły, a nie na mechanizmach relaksacji (spadku siły). Badania z wykorzystaniem funkcjonalnego rezonansu magnetycznego (fMRI), elektroencefalografii (EEG) i magnetoencefalografii (MEG) wykazały, że relaksacja mięśni szkieletowych jest aktywnym procesem, który podobnie jak skurcz mięśni wymaga aktywacji kory mózgu [5, 6]. Amplituda potencjału korowego związanego ze zdarzeniem ruchowym (MRCP) odwzorowuje procesy korowe stosowane w planowaniu i przygotowywaniu ruchu dowolnego (Shakeel i wsp., 2015). Celem niniejszej pracy była ocena aktywności bioelektrycznej mózgu podczas narastania i spadku siły precyzyjnego chwytu dominującą ręką u młodych osób.

2. Materiał i metody

Jedenaście zdrowych osób (9 mężczyzn i 2 kobiety) w wieku od 23 do 36 lat (średni wiek 28 ± 4 lat) uczestniczyło dobrowolnie w badaniach. U wszystkich badanych rejestrowano czynność bioelektryczną kory mózgowej za pomocą 128-kanał-

wego systemu EEG. Protokół badania obejmował wykonanie przez badanego trzech maksymalnych skurczów dowolnych (MVC) w funkcji chwytania prawą (dominującą) ręką, a następnie wykonanie czterdziestu prób submaksymalnych na poziomie 20% MVC. Do analizy wartości amplitud sygnału EEG w dziedzinie czasu wybrano elektrody umieszczone w obszarach kory związanej z planowaniem i wykonywaniem ruchu – dla lewej półkuli: C3, C5, F3, FC3, FC5, CP3; dla prawej półkuli: C4, C6, F4, FC4, FC6, CP4 według nazewnictwa w systemie 10-20. Sygnał EEG analizowany był w programie BESA Research 7.0 (MEGIS Software GmbH, Niemcy). Czas analizowanego okna sygnału względem zdarzenia ruchowego (wykonanie precyzyjnego chwytu) wynosił 4 sekundy, 3 s przed wystąpieniem wzrostu i spadku siły, oraz 1 s po nich (osobno dla narastania i spadku siły). Za pomocą testu Shapiro-Wilka sprawdzono rozkład normalności rozkładu. W celu porównania wartości amplitudy sygnału EEG pomiędzy próbami dla narastania i spadku siły oraz pomiędzy lokalizacją elektrod a wykonywanym zadaniem zastosowano dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA) dla pomiarów powtarzanych. Za istotny statystycznie poziom przyjęto $p \leq 0.05$. Wyliczeń dokonano przy użyciu programu statystycznego SPSS (SPSS 22.0, IBM Corporation, USA).

3. Wyniki

Średnie wartości amplitudy sygnału EEG (MRCP) dla grupy zostały wyliczone z 29 prawidłowo wykonanych prób (dla narastania i spadku siły) w funkcji chwytu ręką dominującą przez każdą z badanych osób. Analiza statystyczna amplitudy sygnału EEG wykazała istotnie statystycznie ($p \leq 0.05$) różnice pomiędzy narastaniem a spadkiem siły chwytu dla elektrod C6, F3, FC5, FC3, C3, C5 i CP3. Zaobserwowano wyższe wartości amplitudy EEG podczas narastania siły, niż jej spadku. Zanotowano również istotne różnice ($p \leq 0.05$) pomiędzy amplitudą sygnału EEG zarówno dla narastania siły, jak i relaksacji w zależności od lokalizacji elektrod.

4. Dyskusja

Wcześniejsze prace z wykorzystaniem EEG [4] i fMRI [2] wykazały, że aktywacja neuronów korowych w pierwszorzędowej korze ruchowej (M1) była wyższa podczas skurczu mięśni, niż w przypadku relaksacji podczas izometrycznego chwytu. W niniejszych badaniach zaobserwowano wyższe wartości amplitudy MRCP podczas narastania siły również w obszarze M1, ale także nad obszarami dodatkowej kory ruchowej (SMA). W badaniach zaobserwowaliśmy wyższe wartości amplitudy MRCP podczas narastania siły w korze przedruchowej (PM) w stosunku do obszarów M1, pierwszorzędowej kory czuciowej (S1) i drugorzędowej kory czuciowej (S2) po stronie kontralateralnej i ipsilateralnej. Podczas relaksacji zanotowano zbliżone wartości amplitudy sygnału EEG po stronie kontralateralnej w obszarach M1, S1, S2 i PM, natomiast po stronie ipsilateralnej stwierdzono wyższe wartości w obszarach PM w stosunku do obszarów M1, S1 i S2.

Piśmiennictwo

- [1] Rong Y, Han X, Xiao D, Cao L, Wang Q, Li M, Duan L, Zen Y. Applying support vector regression analysis on grip force level-related corticomuscular coherence. *J Comput Neurosci* 2014; 37(2): 28–91.
- [2] Toma K, Honda M, Hanakawa T, Okada T, Fukuyama H, Ikeda A, Nishizawa S, Konishi J, Shibasaki H. Activities of the primary and execution of voluntary muscle relaxation: an event-related fMRI study. *J Neurosci* 1999, 1; 19(9): 3527–3534.
- [3] Begum T, Mima T, Oga T, Hara H, Satow T, Ikeda A, Nagamine T, Fukuyama H, Shibasaki H. Cortical mechanisms of unilateral voluntary motor inhibition in humans. *Neurosci Res* 2005; 53(4): 428–435.
- [4] Pope PA, Holton A, Hassan S, Kourtis D, Praamstra P. Cortical control of muscle relaxation: a lateralized readiness potential (LRP) investigation. *Clin Neurophysiol* 2007; 118(5): 1044–1052.
- [5] Terada K, Ikeda A, Nagamine T, Shibasaki H. Movement-related cortical potentials associated with voluntary muscle relaxation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995; 95(5): 335–345.
- [6] Shakeel A, Navid MS, Anwar MN, Mazhar S, Jochumsen M, Niazi IK. A review of techniques for detection of movement intention using movement-related cortical potentials. *Comput Math Methods Med* 2015, 2015:436217.

Mikroskopia sił atomowych w badaniach układów włókien opony twardej u człowieka w okresie prenatalnym

Andrzej Sikora¹, Alicja Kędzia², Miriam Karpińska³

¹ Instytut Elektrotechniki Oddział Technologii i Materiałoznawstwa Elektrotechnicznego we Wrocławiu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 55/61, 50-369 Wrocław

² Zakład Anatomii Prawidłowej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, wyb. Ludwika Pasteura 1, 50-367 Wrocław

³ Stowarzyszenie Aktywnych Studentów, Stowarzyszenie Elektryków Polskich, koło nr 1 we Wrocławiu, ul. M. Skłodowskiej-Curie 55/61, 50-369 Wrocław

Słowa kluczowe: opona twarda, struktura włókien kolagenowych, mikroskopia sił atomowych

1. Wstęp

Obiektem prezentowanych badań była opona twarda (łac. *dura mater*), jedna z opon mózgowo-rdzeniowych, składająca się z dwóch blaszek: zewnętrznej i wewnętrznej. Blaszka zewnętrzna pełni funkcję okostnej, natomiast wewnętrzna jest silną błoną włóknistą, której zadaniem jest ochrona mózgowia, zapewnienie rusztowania dla tętnic, żył i zatok, jak również ograniczenie przestrzeni wypełnionych płynem mózgowo-rdzeniowym.

Brak doniesień literaturowych na temat submikronowej analizy struktury opony twardej z wykorzystaniem technik mikroskopii sił atomowych, jak również zamiar kontynuacji prac mających na celu wytlumaczenie funkcji tej tkanki, stały się motywacją do podjęcia niniejszego problemu badawczego.

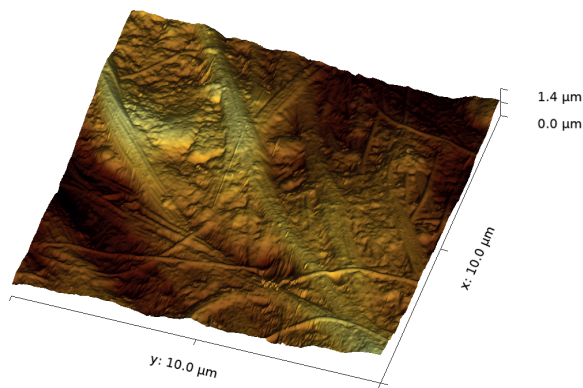
2. Materiał i metody

W ramach przeprowadzonych prac dokonano pomiarów topografii z nanometrową rozdzielczością, a w dalszej kolejności, analizy budowy opony twardej na próbkach pobranych z tkanki pochodzącej od 6-miesięcznego płodu. Próbki wycinano z wielu obszarów, aby możliwe było dokonanie weryfikacji obecności dominującej orientacji włókien dla całej czaszy opony twardej. Zabieg ten pozwolił wstępnie wnioskować o korelacji zaobserwowanej struktury z właściwościami mechanicznymi tej powłoki. Wykazano obecność specyficznych ugrupowań włókien kolagenowych, tworzących na powierzchni opony układ o charakterystycznym, krzyżowym uporządkowaniu. Eksperyment przeprowadzono z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych (ang. AFM – *atomic force microscope*) DI3000 firmy Digital Instruments. Pomiary wykonano w trybie *Tapping Mode*, w powietrzu. Próbki po wyjęciu z alkoholu cięto i umieszczano na szkiełkach mikroskopowych, a następnie pozostawiano do wstępnego odparowania na

ok. 30 minut. Po umieszczeniu preparatów w głowicy pomiarowej, dla każdego wycinka przeprowadzano serię pomiarów, by dla danej lokalizacji uzyskać grupę wyników pozwalających na dokonanie analizy statystycznej. Do wyznaczenia obecności struktur o uprzywilejowanej orientacji, wykorzystano zaawansowane oprogramowanie SPIP firmy Image Metrology. Wyniki pomiarów AFM uzupełniono danymi uzyskanymi przy użyciu mikroskopu optycznego.

3. Wyniki

Przykładowy wynik obrazowania układów włókien kolagenowych z wykorzystaniem mikroskopu AFM przedstawiono na rysunku 1. Uzyskane wyniki pomiarowe pozwoliły wyznaczyć mapę reprezentującą uprzywilejowane orientacje włókien kolagenowych dla całej czaszy opony twardej. Informacje te są podstawą do wstępnego wnioskowania o korelacji struktury tworzonej przez włókna i właściwościach mechanicznych opony twardej, jako warstwy chroniącej mózg przed udarami mechanicznymi.



Rys. 1. Trójwymiarowa wizualizacja struktur utworzonych przez włókna kolagenowe.

4. Dyskusja

Utworzona mapa uprzywilejowanych kierunków orientacji pęków włókien kolagenowych daje obraz charakterystycznego, krzyżowego uporządkowania, typowego dla struktur wsporczych sklepień budowli gotyckich a także współczesnych. Na podstawie analogii, wstępnie przyjęto dopasowanie budowy tkanki do pełnionej przez nią funkcji, z jednoczesną maksymalizacją skuteczności rozwiązania przy wykorzystaniu minimum tkanki.

Piśmiennictwo

- [1] Sikora A, Kędzia A (2012) A quantitative comparison of dura mater tissue structures measured with atomic force microscopy. *Adv Clinexp Med* 21, 487–493.
- [2] Sikora A, Rodak A, et al. (2016) The development of the spatially correlated adjustment wavelet filter for atomic force microscopy data. *Ultramicroscopy* 171, 146–152.

- [3] Kędzia A, Kędzia E, et al. (2014) Computer analysis of dura mater structures in clinical aspect. *The Computer – Aided Scientific Research XXI. The Works Of Wroclaw Scientific Society XXI*, 220 B, 123–144.
- [4] Yamashita T (2009) Human Meninges: Anatomy and Its Role in Meningioma Pathogenesis In: *Meningiomas: Diagnosis, Treatment and Outcome*. (ed. Lee JH), pp. 15–25. London: Springer-Verlag.
- [5] Woldenberg RF, Kohn SA (2014) Dura Mater In: *Encyclopedia Of The Neurological Sciences*. (eds. SA Daroff R&Aminoff MJ), pp. 1039–1042. Academic Press.
- [6] Protasoni M, Sangiorgi S, Cividini A, et al. (2011) The collagenic architecture of human dura mater. *J Neurosurg* 114, 1723–1730.
- [7] Allison DP, Mortensen NP, et al. (2010) Atomic force microscopy of biological samples. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2, 618–634.
- [8] Kumaresan M, Sathish S, Karthi NJ (2015) Effect of Fiber Orientation on Mechanical Properties of Sisal Fiber Reinforced Epoxy Composites. *J App Sc Eng* 18, 289–294.
- [9] Mazgajczyk E, Ścigala K, et al. (2012) Mechanical properties of cervical dura mater. *Acta Of Bioeng Biomech* 14, 51–58.

Źródła światła na zakres średniej podczerwieni do zastosowań medycznych

S. Sujecki¹, L. Sójka¹, Z. Tang², D. Furniss², T.M. Benson², A.B. Seddon²

¹ Katedra Telekomunikacji i Teleinformatyki, Politechnika Wrocławska, Wrocław, Polska

² George Green Institute for Electromagnetics Research, the University of Nottingham, Nottingham, Wielka Brytania

Słowa kluczowe: źródła światła, spektroskopia optyczna, diagnostyka medyczna

1. Wstęp

Światło z zakresu średniej podczerwieni ma wiele potencjalnych zastosowań w diagnostyce medycznej. Niestety w porównaniu z zakresem bliskiej podczerwieni źródła światła na zakres średniej podczerwieni są drogie i charakteryzują się niską jakością generowanej wiązki świetlnej i małą niezawodnością. Dlatego też w metodach diagnostycznych stosuje się głównie źródła światła z zakresu bliskiej podczerwieni do pobudzenia drgań badanych cząstek przy wykorzystaniu zjawiska Ramana. Zjawisko Ramana ma dużą wartość progową natężenia światła, a zatem konieczne jest stosowanie wiązek świetlnych o dużej mocy. To z kolei jest przyczyną dużej fototoksyczności metod opartych na zjawisku Ramana i małej ich przydatności w diagnostyce *in vivo*. W celu rozwinięcia metod diagnostycznych przy zastosowaniu światła z zakresu średniej podczerwieni, które pozwolą na znaczne zredukowanie lub wręcz wyeliminowanie fototoksyczności i opracowanie metod diagnostycznych *in vivo*, konieczne jest opracowanie tanich i niezawodnych źródeł światła na zakres średniej podczerwieni. Jedną z technologii, która potencjalnie mogłaby pozwolić na wytworzenie tanich i niezawodnych źródeł światła na zakres średniej podczerwieni jest technologia światłowodów chalcogenidkowych domieszkowanych jonami lantanowców. Jako pompy takich źródeł najlepiej jest zastosować lasery półprzewodnikowe z zakresu bliskiej podczerwieni, które są niezawodne, tanie i mają zwartą budowę. Ponadto lasery półprzewodnikowe mają prosty mechanizm pompowania. Przedmiotem badań jest zatem wytworzenie takich światłowodów oraz analiza generowanej wiązki optycznej przy pomocy metod numerycznych oraz doświadczalnych.

2. Materiał i metody

W ramach przeprowadzonych badań wytworzono próbki szkła chalcogenidkowego czteroskładnikowego domieszkowanego jonami ziem rzadkich, a mianowicie terbem, prazeodymem i dysprozem. Z przygotowanych próbek szkła wyciągnięto światłowody o średnicy około 0.33 mm. Wykonane światłowody sprzęgnięto z laserowymi źródłami światła z zakresu bliskiej podczerwieni o długości fali 1300 nm, 1550 nm, 1710 nm

i 2000 nm. Światło podczerwone z zakresu średniej podczerwieni zebrano z końca światłowodu i doprowadzono do monochromatora optycznego w celu pomiaru emitowanego widma oraz do miernika mocy. Przy pomocy opracowanego oprogramowania dokonano także analizy zależności emitowanej mocy od długości światłowodu. Wyniki obliczeń zweryfikowano eksperymentalnie.

3. Wyniki

W wyniku pobudzenia jonów lantanowców w matrycy szkła chalcogenidkowego otrzymano promieniowanie optyczne w zakresie średniej podczerwieni. Emitowane widmo pokrywa zakres długości fal od około 2000 nm do 6000 nm. Najszerszy zakres emitowanych długości fal zaobserwowano dla światłowodów chalcogenidkowych domieszkowanych jonami prazeodymu i dysprozu. Największe moce wyjściowe osiągnięte dotychczas to 0.3 mW, które zarejestrowano dla próbek światłowodów chalcogenidkowych domieszkowanych jonami prazeodymu. Należy zauważyć, że 0.3 mW jest obecnie największą mocą wyjściową jaką udało się do tej pory uzyskać w omawianym układzie. Ponadto taki poziom mocy jest około dwa rzędy wielkości większy od mocy wyjściowej obecnie komercyjnie dostępnych diod elektroluminescencyjnych, przy czym szacunkowy koszt wytworzenia obydwu rodzajów źródeł jest zbliżony.

4. Dyskusja

Otrzymane widma luminescencji są zgodne z oczekiwaniami oraz zbliżone do widm luminescencyjnych otrzymanych w innych laboratoriach dla szkielek o podobnej strukturze [1]. Duży poziom mocy wyjściowej, który jest zbliżony do jednego mW pozwala na wykorzystanie opracowanych źródeł światła w spektroskopii optycznej i potencjalnie także w diagnostyce medycznej.

Piśmiennictwo

- [1] Pele AL, Braud A, Doualan JL, Starecki F, Nazabal V, Chahal R, Boussard-Pledel C, Bureau B, Moncorge R, and Camy P. Dy³⁺ doped GeGaSbS fluorescent fiber at 4.4 μ m for optical gas sensing: Comparison of simulation and experiment. *Optical Materials*. 2016; 61:37.

Wpływ wybranych związków wielopierścieniowych pochodzenia roślinnego na aktywność kanałów Kv1.3 w komórkach normalnych i nowotworowych – badania techniką „patch-clamp”

Andrzej Teisseyre, Anna Palko-Łabuz, Anna Uryga, Krystyna Michalak

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra i Zakład Biofizyki,
ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław

Słowa kluczowe: technika „patch-clamp”, kanały Kv1.3, komórki nowotworowe

1. Wstęp

Napięciowo-zależne kanały potasowe typu Kv1.3 występują w wielu typach komórek zarówno normalnych, jak i nowotworowych [1]. Kanały te współuczestniczą m.in. w regulacji procesów proliferacji oraz apoptozy komórek [1–3]. Inhibicja kanałów Kv1.3 mogłaby w przyszłości znaleźć zastosowanie kliniczne przy wspomaganiu chemioterapii niektórych typów nowotworów charakteryzujących się zwiększonym występowaniem kanałów Kv1.3, np. raka piersi, prostaty, trzustki, czerniaka czy przewlekłej białaczki limfocytnej B komórkowej [1-3]. Potencjalnie największą szansę na zastosowanie kliniczne mogą mieć niektóre drobnocząsteczkowe związki organiczne, które łączą znaczną inhibitorową efektywność z niską cytotoksycznością ogólnoustrojową. Do związków takich zaliczyć można m.in. niektóre biologicznie aktywne związki wielopierścieniowe pochodzenia roślinnego z grup flawonoidów, stilbenów i chalkonów, a także niektóre ich naturalne (prenylowe) oraz syntetyczne (metoksylowe) pochodne [3, 4].

Niniejsze doniesienie zawiera podsumowanie wyników badań nad wpływem wybranych związków wielopierścieniowych pochodzenia roślinnego z w/w grup na aktywność kanałów Kv1.3 w komórkach normalnych i nowotworowych.

2. Materiał i metody

Badania nad wpływem wybranych związków na aktywność kanałów potasowych Kv1.3 przeprowadzono w Pracowni Bioelektryczności Katedry i Zakładu Biofizyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W badaniach tych zastosowano technikę elektrofizjologiczną „patch-clamp” w konfiguracji „whole-cell” [5]. Jak wykazały badania, zarówno w normalnych limfocytach T izolowanych z krwi obwodowej zdrowych dawców jak i w limfoblastycznych komórkach białaczki Jurkat T endogennie w dużej ilości

występują kanały Kv1.3 [1]. Z tego względu limfocyty T i komórki Jurkat T mogą być traktowane jako układy modelowe w badaniach nad kanałami Kv1.3 odpowiednio w komórkach normalnych i nowotworowych.

3. Wyniki

Wykazano, że związki z grupy flawonoidów – genisteina, akacetyna i chryzyna, jak również związek z grupy stilbenów – rezweratrol, użyte w stężeniach od 1 do 100 μM , są efektywnymi inhibitorami kanałów Kv1.3 w limfocytach T i w komórkach Jurkat T [3, 4]. Zdolność do inhibicji kanałów Kv1.3 w limfocytach T wykazują także dwie syntetyczne pochodne metoksyłowe flawonoidu naringeniny, jak również metoksyłowa pochodna stilbenu – piceatanolu [3]. Zdolności do inhibicji kanałów Kv1.3 w limfocytach T i w komórkach Jurkat T nie wykazują natomiast flawonoidy: naringenina, aromadendryna, bajkaleina, wogonina i luteolina, a także związek z grupy stilbenów – piceatanol [3, 4]. Najbardziej efektywnymi inhibitorami kanałów Kv1.3 w limfocytach T i w komórkach Jurkat T są prenyłowe pochodne flawonoidów i chalkonów: dwie prenyłowe pochodne naringeniny: 8-prenylo- i 6-prenylo-naringenina, związek z grupy chalkonów: ksantohumul, jak również izomer ksantohumolu – izokszantohumul [3, 4].

4. Dyskusja

Wykazano, że niektóre związki wielopierścieniowe pochodzenia roślinnego z grupy flawonoidów, chalkonów i stilbenów są inhibitorami kanałów Kv1.3 w komórkach normalnych i nowotworowych. [3]. Zdolność do inhibicji kanałów Kv1.3 nie jest wspólną cechą wszystkich przebadanych związków. Różnice w strukturze chemicznej pomiędzy inhibitorami a nie inhibitorami kanałów Kv1.3 są subtelne. Występowanie grupy prenyłowej w cząsteczce jest czynnikiem sprzyjającym inhibicji kanałów Kv1.3 [3]. Inhibicja kanałów Kv1.3 nie ma związku z cytotoksycznością badanych związków [4]. Mechanizm inhibicji kanałów Kv1.3 jest prawdopodobnie odmienny dla każdego badanego związku. Inhibicja kanałów Kv1.3 może być powiązana z anty-proliferacyjnym i pro-apoptycznym działaniem tych związków na komórki nowotworowe, jednak określenie molekularnego mechanizmu tego wpływu wymaga dalszych badań [3, 4].

Źródła finansowania: Badania nad wpływem wybranych związków wielopierścieniowych pochodzenia roślinnego na aktywność kanałów Kv1.3 w komórkach normalnych i nowotworowych były i są finansowane ze środków na działalność statutową Katedry Biofizyki UM we Wrocławiu. Numer zadania – STA050.18.022

Piśmiennictwo

- [1] B., Sanguinetti M., Stühmer W., Wang X. International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and Molecular Relationships of Voltage-gated Potassium channels. *Pharmacol. Rev.* 2005,67:473–508.
- [2] Perez-Verdaguer M., Caspera J., Serrano-Novillo C., Estadella I., Sastre D., Felipe A: The voltage-gated potassium channel Kv1.3 is a promising multitargeted target against human pathologies. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2016; 20(5): 577–591.

- [3] Teisseyre A, Palko-Labuz A, Środa-Pomianek K, Michalak K: Targeting voltage-gated potassium channels Kv1.3 in diagnostics and therapy of cancer disorders. Praca wysłana do druku w *Frontiers in Oncology*.
- [4] Teisseyre A, Palko-Labuz A, Uryga A, Michalak K. The influence of 6-Prenylnaringenin and selected non-prenylated flavonoids on the activity of Kv1.3 channels in human Jurkat T cells. *J Membrane Biol*, 2018, 251: 695–704.
- [5] Hamill O.P., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sigworth F.J. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pfluegers Arch*, 1981,39:85–102.

Korelacje między występowaniem dolegliwości bólowych kręgosłupa a stylem życia współczesnych nastolatków

Agata Trafalska¹, Anna Krześcińska-Nowacka², Mateusz Trafalski³,
Magdalena Kazimierska-Zajac⁴

¹ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu,
Zakład Rehabilitacji w Dysfunkcjach Narządu Ruchu

² Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu,
Zamiejscowy Oddział Rehabilitacji Neurologicznej

³ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,
Wydział Lekarsko-Stomatologiczny, Katedra i Zakład Chirurgii Stomatologicznej

⁴ Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wydział Nauk o Zdrowiu,
Zakład Chorób Układu Nerwowego

Słowa kluczowe: dyskopatia, styl życia, ból

1. Wstęp

Dolegliwości bólowe kręgosłupa są poważnym problemem medyczno-społecznym. Badania wykazały, że około 80% ludzi przynajmniej raz w życiu doświadczyło bólu kręgosłupa [1]. Coraz częściej spotykanym problemem stają się dolegliwości kręgosłupa u dzieci i młodzieży. Różne źródła podają, że tego typu dolegliwości doświadczyło 37–66,7% młodych ludzi [2, 3]. W latach 2013–2015 w Oddziale Rehabilitacji Ogólnoustrojowej dla Dzieci Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu hospitalizowanych było łącznie 919 pacjentów. U 78 pacjentów bezpośrednim powodem leczenia był ostry zespół bólowy kręgosłupa, stanowi to 8,5% wszystkich leczonych w Oddziale dzieci. Biorąc pod uwagę wiek pacjentów, specyfikę choroby, uznano to za istotny problem.

2. Materiał i metody

Celem pracy było pokazanie częstości występowania dyskopatii u dzieci hospitalizowanych w Oddziale Rehabilitacji oraz ustalenie przyczyny choroby na podstawie ankiety autorskiej, uwzględniającej w szczególności styl życia badanych pacjentów. Wyniki poddano analizie statystycznej. U wszystkich dzieci przeprowadzono badanie kliniczne, zwłaszcza pod kątem występowania wad postawy, przeanalizowano badania obrazowe: MR oraz RTG kręgosłupa. Przeprowadzono ankietę autorską, uwzględniającą wiek dzieci, płeć, specyfikę dolegliwości bólowych, czas ich trwania oraz styl życia dzieci.

3. Wyniki

Wszystkie z przebadanych 78 dzieci miały udokumentowaną w badaniu MR dyskopatię, jak również prezentowały różnego stopnia odchylenia od normy w badaniu klinicznym. Dziewczynki stanowiły 65% badanej grupy, wiek dzieci pomiędzy 11 a 18 lat. Aż 64 (82 %) dzieci nie miało żadnej regularnej aktywności ruchowej. Po szkole spędzali czas głównie w pozycji siedzącej lub półleżącej.

48 (61,5%) dzieci było zwolnionych z zajęć W-F. U wszystkich tych dzieci przyczyną zwolnienia były bóle kręgosłupa. Z relacji rodziców tylko w jednym przypadku nauczyciel wyszedł z inicjatywą, że dostosuje ćwiczenia do dolegliwości dziecka. Czwórka dzieci miała treningi zawodowe siatkówki, dwoje piłki nożnej, jedno baletu. Żadne z dzieci nie pływało zawodowo, tylko 8 podawało regularne uczęszczanie na basen.

4. Dyskusja

Bóle kręgosłupa u dzieci i młodzieży są powszechnym zjawiskiem, dotyczą najczęściej dolnego odcinka kręgosłupa [1, 4]. Omawiane problemy utrudniają wykonywanie czynności dnia codziennego i powodują absencję szkolną [4]. Według niektórych badań ponad 25% dzieci doświadczających bólów kręgosłupa musiało zrezygnować z udziału w zajęciach szkolnych [5]. Wpływ na występowanie bólu kręgosłupa ma liczba godzin spędzanych przed komputerem i TV [6]. Z kolei inne źródło podaje, że główną przyczyną omawianych dolegliwości nie jest sama pozycja siedząca, lecz przyjmowanie niewłaściwych pozycji podczas siedzenia [7]. Nie można również pominąć wpływu czynników emocjonalnych na występowanie bólów kręgosłupa [8], dlatego problem należy rozpatrywać holistycznie i w uzasadnionych przypadkach rozważyć włączenie pomocy psychologicznej w proces leczenia. Ból kręgosłupa z pewnością należy do najczęstszych czynników negatywnie wpływających na jakość życia [9]. Rozwój cywilizacji powoduje zmianę trybu życia społeczeństw krajów rozwiniętych. Liczne udogodnienia komunikacyjne oraz rozwój technologii, które minimalizują konieczność pracy fizycznej powodują, że przeciętnie ludzie mają coraz mniej ruchu. Dotyczy to również dzieci w wieku szkolnym. Za właściwą dawkę aktywności fizycznej uważa się przynajmniej 60 minut wysiłku fizycznego każdego dnia [10]. Częstość występowania dyskopatii u dzieci staje się istotnym problemem społecznym i powinno się wdrażać działania profilaktyczne oraz modyfikować styl życia współczesnych dzieci i nastolatków.

Piśmiennictwo

- [1] Fujii R, Sakaura H, Mukai Y. i wsp. Kinematics of the lumbar spine in trunk rotation: in vivo three-dimensional analysis using magnetic resonance imaging, *European Spine Journal* 16, 11, 1867–1874.
- [2] Domżał TM. Przewlekłe nieswoiste bóle krzyża – stara dolegliwość czy nowa choroba neurologiczna, *Polski Przegląd Neurologiczny*. 2007;3(4):216–227.
- [3] Petersen S, Brulin C, Bergström E. Recurrent pain symptoms in young schoolchildren are often multiple. *Pain*. 2006;121: 145–150.

- [4] Drozda K, Lewandowski J, Górski P. Bóle kręgosłupa u młodzieży szkół gimnazjalnych i ponadgimnazjalnych zamieszkałej w środowisku miejskim w Polsce, na przykładzie Poznania. *Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja*. 2011;5(6): 13, 489–503.
- [5] Skaggs DL, Early SD, D'Ambra P i wsp. Backpain and back-packs in school children. *Journal of Pediatric Orthopaedics*. 2006;26:358–363.
- [6] Skoffer B, Foldspang A. Physical activity and low-back pain in schoolchildren. *European Spine Journal*. 2008;17:373–379.
- [7] Lebkowski WJ. Back pain in teenagers and young adults. *Polski Merkuriusz Lekarski*. 1997; 2(8):111–112.
- [8] Balague F, Skovron ML, Nordin M i wsp. Low back pain in schoolchildren. A study of familial and psychological factor. *Spine*. 1995;20(11):1265–70.
- [9] Kunikowska B, Lewandowska M, Glińska J i wsp. Analiza porównawcza jakości życia chorych z różnymi dysfunkcjami narządu ruchu. *Kwartalnik Ortopedyczny*. 2011;4:329–340.
- [10] Osiński W. *Teoria Wychowania Fizycznego*. Wydawnictwo AWF, Poznań 2011;288–289.

Obrazowanie aktywności proteolitycznej Metaloproteiny Macierzy Zewnątrzkomórkowej-9

Jakub Włodarczyk

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN; ul. Pasteura 3,
02-093 Warszawa

Słowa kluczowe: metaloproteaza, FRET, sensor aktywności

1. Wstęp

Metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej 9 (MMP-9), znana również pod nazwą żelatynazy B, jest zewnątrzkomórkowym enzymem proteolitycznym biorącym udział w modyfikacjach macierzy zewnątrzkomórkowej. Jej udział w wielu procesach biologicznych zaowocował rosnącym zainteresowaniem środowiska naukowego, a także licznymi artykułami naukowymi. Jedną z istotniejszych funkcji MMP-9 jest jej udział w uczeniu się oraz pamięci długoterminowej. Zaburzenia aktywności MMP-9 obserwowane są w epilepsji, zespole łamliwego chromosomu X, nowotworach, uzależnieniach i wielu chorobach psychicznych. MMP-9 jest również zaangażowana w plastyczność synaptyczną.

2. Materiał i metody

Mikroskopia fluorescencyjna, Rezonansowe przeniesienie energii (FRET), hodowle pierwotne neuronów.

3. Wyniki

Opracowaliśmy genetyczny biosensor aktywności MMP-9 wykorzystujący zjawisko FRET (Fluorescencyjny Rezonansowy Transfer Energii), który umożliwia monitorowanie aktywności MMP-9 na powierzchni błony komórkowej przy pomocy mikroskopii fluorescencyjnej.

4. Dyskusja

Sensor umożliwia dokonywanie obserwacji aktywności MMP-9 na poziomie subkomórkowym. Wykorzystuje białka fluorescencyjne, które są mniej cytotoksyczne, niż wskaźniki syntetyczne. Jest wrażliwy na szybkie zmiany aktywności MMP-9. Jest przeciwny wyłącznie przez MMP-9, co potwierdzono w hodowlach pierwotnych neuronów hipokampalnych wyizolowanych z mózgu szczura oraz w hodowlach pierwotnych neuronów mysich pozbawionych aktywnego genu MMP-9.

Piśmiennictwo

- [1] Stawarski i wsp., Genetically encoded FRET-based biosensor for imaging MMP-9 activity, *Biomaterials* 35:1402, 2014.

Regulacja metabolizmu mózgu poprzez komunikację pomiędzy astrocytami a neuronami

Olga Wójcicka, Dariusz Rakus

Katedra Fizjologii i Neurobiologii Molekularnej, Uniwersytet Wrocławski, Polska

Słowa kluczowe: neurony, astrocyty, metabolizm

1. Wstęp

Rola współpracy między komórkami tworzącymi poszczególne tkanki i organy jest przedmiotem zainteresowania naukowców od wielu lat. Badania pokazały, że neurony i astrocyty mogą komunikować się z sobą wymieniając substraty energetyczne takie jak mleczan i glutaminian [1]. Ścisła współpraca pomiędzy neuronami, a astrocytami prowadzi między innymi do zmiany ekspresji enzymów metabolicznych w komórkach astrocytarnych pod wpływem substancji wydzielanych przez neurony, takich jak transtyretyna [2, 3]. Wyniki te wskazują, że badania właściwości metabolicznych, a prawdopodobnie także innych funkcjonalnych parametrów komórkowych, prowadzone z użyciem kultur monotypowych nie dostarczają reprezentatywnej informacji o fizjologii komórek w organizmie. W niniejszym projekcie skupiono się na wpływie astrocytów na kluczowe białka metaboliczne w komórkach nerwowych.

2. Materiał i metody

Pierwotne hodowle neuronalne i astrocytarne izolowano standardową metodą z hipokampów myszy C57BL/6 w drugim dniu po narodzinach. Hodowle neuronalne prowadzono przez 14 dni na szkiełkach pokrytych polilizyną oraz lamininą. Hodowle astrocytarne prowadzono oddzielnie przez 10 dni, po czym komórki zostały przepasażowane na pokryte wyżej wymienionymi białkami inserty (pory 1 μm lub 3 μm) i hodowane w medium neuronalnym. W 14 dniu inserty z astrocytami zostały przełożone do hodowli neuronalnej na 48 godzin. Również w 14 dniu z hodowli astrocytarnej pobrano 200 μl medium i dodano je do hodowli neuronalnej (medium kondycjonowane). Po 48 godzinach komórki utrwalono 4% PFA. Po odpłukaniu preparatów w PBS błonę komórkową poddano permabilizacji przy zastosowaniu 0,1% Tritonu X-100 oraz blokowaniu przez 30 minut w 5% BSA. Wszystkie przeciwciała przeciwko wybranym białkom zaangażowanym w metabolizm oraz białkom cytoszkieletu rozcieńczono 1:500 razy i inkubowano przez całą noc w 4°C. Nadmiar przeciwciał pierwszorzędowych odpłukano i dodano przeciwciała AlexaFluor 488 oraz 633 rozcieńczono 1:1000 razy. Po odpłukaniu nadmiaru przeciwciał preparaty zamknięto na szkiełku podstawnym przy użyciu Fluoroshield DAPI. Tak przygotowane preparaty obrazowano przy zastosowaniu mikroskopu konfokalnego Olympus FV1000 i powiększeniu 20 lub

40x. Analiza zdjęć została przeprowadzona w prograie ImageJ, natomiast analiza statystyczna w programie MicroSoft Office Excel 2016. Analiza statystyczna – test t-Studenta.

3. Wyniki

Zbadano wybrane białka glikolizy oraz glukoneogenezy. W przypadku heksokinazy 1 (HK-1) oraz 2 (HK-2) zaobserwowano spadek intensywności fluorescencji w neuronach, w kohodowli z insertem o porach $3\ \mu\text{m}$. Świadczy to o wpływie fizycznego kontaktu astrocyt-neuron na ekspresję pierwszego enzymu zaangażowanego w glikolizę. W przypadku fosfofruktokinazy, katalizującej przemianę glukozy-6-fosforanu do glukozy-1,6-bisfosforanu, wyniki są rozbieżne w zależności od izoformy danego enzymu. Ekspresja izoformy P (PFKP) spada już przy obecności medium kondycjonowanego, osiągając najmniejszą wartość w przypadku fizycznego kontaktu astrocyt-neuron (insert $3\ \mu\text{m}$), natomiast izoforma M (PFKM) prezentuje tendencję wzrostową. Jest to wynik nie do końca jasny, dlatego też wymaga dalszej analizy. Kluczowy enzym regulujący tempo glikolizy, katalizujący ostatni etap tego szlaku – kinaza pirogronianowa (PKM 1/2), wykazuje spadek identyczny jak w przypadku obu form heksokinazy. Wynik ten wskazuje na zwolnienie tempa przemian glikolitycznych w neuronach, pod wpływem obecności astrocytów. Zbadano także ekspresję białka FBP2 (fruktozo-1,6-bisfosfataza), które jest jednym z najważniejszych enzymów szlaku glukoneogenezy. Co ciekawe, intensywność fluorescencji dla tego enzymu w neuronach znacząco wzrasta w kohodowli, co może świadczyć o przyspieszeniu tego procesu w neuronach w obecności astrocytów.

4. Dyskusja

Wpływ obecności astrocytów na neurony został pokazany także w kontekście badań elektrofizjologicznych [4]. Hipoteza czółenka mleczanowego wskazuje mleczan jako substancję przekazywaną pomiędzy astrocytem, a neuronem. Z drugiej strony pokazano, że zmiany widoczne w astrocytach pod wpływem neuronów są skutkiem obecności transtyretyny [3]. Identyfikacja cząsteczek odpowiedzialnych za zmiany widoczne w metabolizmie neuronów w kohodowli jest dalszym celem badawczym niniejszego projektu.

Piśmiennictwo

- [1] Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci.* 1994; 91:10625–9.
- [2] Mamczur P, Borsuk B, Paszko J, Sas Z, Mozrzyms J, Wiśniewski JR, Gizak A, Rakus D. Astrocyte-neuron crosstalk regulates the expression and subcellular localization of carbohydrate metabolism enzymes. *Glia.* 2015; 63:328–40.
- [3] Zawisła A, Jakimowicz P, McCubrey JA, Rakus D. Neuron-derived transthyretin modulates astrocytic glycolysis in hormone-independent manner. *Oncotarget.* 2017 Nov 20;8(63):106625–106638.
- [4] Kaczor P, Rakus D, Mozrzyms JW. Neuron-astrocyte interaction enhance GABAergic synaptic transmission in a manner dependent on key metabolic enzymes. *Front Cell Neurosci.* 2015 Apr 9;9:120.

Perspektywy rozwoju metod transmisyjnej mikroskopii elektronowej we Wrocławiu – cryoTEM, tomografia elektronowa, SPA

Andrzej Żak

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Weigla 12, 53-114 Wrocław

Słowa kluczowe: SPA, tomografia, mikroskopia kriogeniczna, witrifikacja

1. Wstęp

Transmisyjna mikroskopia elektronowa już od ponad 80 lat towarzyszy badaniom strukturalnym z zakresu nauk podstawowych, technicznych i nauk o życiu. Jako pierwsza metoda w historii pozwoliła na obserwacje obiektów wykraczających poza możliwości mikroskopii świetlnej. Dziś, po niemal wieku rozwoju, analiza materii w skali atomowej nie jest dla naukowców niczym zaskakującym. Korzyści z zastosowania wysokorozdzielczych technik elektronowych mnożą się w każdej gałęzi współczesnej nauki. Na szczególne uznanie zasługują zwłaszcza metody analiz pojedynczych struktur białkowych, które w wyjątkowy sposób napędzają rozwój badań biologicznych.

2. Dyskusja

Kriogeniczna transmisyjna mikroskopia elektronowa (ang. CryoTEM) stanowi milowy krok na drodze do obrazowania struktur biologicznych w skali poniżej nanonetrycznej. O jej wartości najlepiej świadczy fakt, że w roku 2017 Nagroda Nobla w dziedzinie chemii została przyznana za „wynalezienie kriogenicznej mikroskopii elektronowej do wysokorozdzielczych badań struktury biomolekuł” [1]. Laureatami nagrody byli Joachim Frank, Richard Henderson i Jacques Dubochet. Zespół Jacques’a Dubochet’a jako pierwszy po umieszczeniu wirusów w roztworze wodnym, naniósł ich cienką warstwę na siatkę nośną i zamroził w ciekłym etanie. Zastosowanie odpowiedniego medium chłodzącego pozwoliło na zeszklenie (witrifikację) wody, to znaczy osiągnięcie przez nią stanu stałego bez krystalizacji, niszczącej błony komórkowe [2]. Od momentu przygotowania preparatu do obserwacji próbka była nieustannie chłodzona ciekłym azotem. Pozwoliło to po raz pierwszy na wizualizację struktur biologicznych bez chemicznego utrwalenia, lecz w naturalnej, uwodnionej formie. Jest to o tyle istotne, że każda forma chemicznego utrwalania preparatu zmienia jego wymiary geometryczne.

Wachlarz współcześnie wykorzystywanych technik należy rozszerzyć o dwa sposoby obrazowania struktur w trzech wymiarach. Pierwszą z nich jest tak zwane SPA (angielski akronim od Single Particle Analysis – analiza pojedynczej cząstki). W metodzie tej próbka (przygotowana przez witrifikację lub rzadziej przez utrwalanie chemiczne) jest obserwo-

wana przy niewielkim oświetleniu preparatu wiązką elektronów. Dzięki temu otrzymywane są (często przy pomocy półautomatycznych albo automatycznych systemów wspierających operatora) tysiące lub dziesiątki tysięcy znacznie zaszumionych obrazów pojedynczych molekuł biologicznych. Są one następnie uśredniane, celem zwiększenia odstępu sygnału od szumu, a wyspecjalizowane oprogramowanie pozwala na wykonanie trójwymiarowej rekonstrukcji obrazowanego obiektu. Metoda jest w ostatnich latach bardzo popularna w analizach pojedynczych struktur białkowych, a jeszcze niedawno najwyższą osiągnięta rozdzielczość trójwymiarowego modelu wyniosła 1,62 Å (0,162 nm) [3].

Drugą z metod obrazowania w trzech wymiarach jest tomografia elektronowa. Bazuje ona na tych samych podstawach teoretycznych co tomografia rentgenowska, jednak pozwala na analizy bardziej złożonych struktur, niż metoda SPA. W zamian oferuje niższe rozdzielczości oraz większą degradację preparatu, z powodu dłuższego oddziaływania wiązką elektronów. Metoda tomografii elektronowej wykazuje największą użyteczność w obrazowaniu trójwymiarowym bakteriofagów, ze względu na ich większe wymiary w porównaniu do molekuł białkowych. Może być ona wykorzystywana zarówno dla preparatów kontrastowanych negatywowo, jak i preparatów kriogenicznych. Modelowym przykładem zastosowania tomografii elektronowej może być praca [4], której autorzy stworzyli precyzyjny, trójwymiarowy model bakteriofaga T4. Dokonali również wizualizacji całego procesu infekcji bakterii, wykonując w tym celu ponad 10 747 obrazów składających się na 660 tomogramów [4]. Jest to ogrom obserwacji, który można i należy wspomagać z użyciem odpowiednich systemów komputerowych. Należy zaznaczyć, że prace o podobnym poziomie komplikacji technicznej i obliczeniowej od blisko dekady stanowią swoisty standard w dziedzinie mikroskopii [5].

Warto również wspomnieć, że wymienione możliwości obserwacyjne zostają także oddane w ręce lokalnych badaczy. Nowo powstałe konsorcjum laboratoriów mikroskopii kriogenicznej zrzesza sieć nowoczesnie wyposażonych pracowni – jedna z nich jest uruchamiana w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu [6].

Kriogeniczna transmisyjna mikroskopia elektronowa daje możliwość obrazowania struktur biologicznych z rozdzielczościami bliskimi atomowym. Pojawienie się tak nowoczesnych metod obserwacyjnych wprowadza perspektywę rozwoju badań strukturalnych na niespotykanym dotychczas poziomie. Wymaga to jednocześnie rozwoju w dziedzinie przygotowania preparatów, akwizycji obrazu, jak również obróbki danych.

Piśmiennictwo

- [1] The Nobel Prize in Chemistry 2017, strona internetowa, źródło: www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2017/summary/, dostęp 22.10.2018.
- [2] M. Adrian, J. Dubochet, J. Lepault, A.W. McDowell, Cryo-electron microscopy of viruses, *Nature* 308, 1984, 32–36.
- [3] Cryo-EM structure of mouse heavy-chain apoferritin at 1.62 Å, strona internetowa, źródło: emsearch.rutgers.edu/atlas/9599_sample.html, dostęp: 22.10.2018.
- [4] B. Hu, W. Margolin, I. J. Molineux, J. Liu, Structural remodeling of bacteriophage T4 and host membranes during infection initiation, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112, 2015, 4919–4928.
- [5] J. Liu, C.-Y. Chen, D. Shiomi, H. Niki, W. Margolin, Visualization of bacteriophage P1 infection by cryo-electron tomography of tiny *Escherichia coli*, *Virology* 147, 2011, 304–31.
- [6] Spotkanie konsorcjum Cryo EM (15.03.2019), strona internetowa, źródło: synchrotron.uj.edu.pl/aktualnosci.

Resorpcja hydrożeli podczas swobodnego przepływu w warunkach *in vitro*

Łukasz Zaręba, Agnieszka Kaczmarek-Pawelska, Jagoda Kurowiak,
Agnieszka Mackiewicz, Romuald Będziński

Zakład Inżynierii Biomedycznej, Wydział Mechaniczny, Uniwersytet Zielonogórski

Słowa kluczowe: przepływ, badania *in vitro*, alginian sodu

1. Wstęp

Hydrożele są szeroko stosowane w biomedycynie między innymi jako nośniki leków, opatrunki, materiały antyadhezyjne czy rusztowania w inżynierii tkankowej [1]. Właściwość wybranych hydrożeli jaką jest zdolność resorpcji, jest niezwykle atrakcyjna z uwagi na zastosowanie w medycynie regeneracyjnej. Procesy degradacji tych materiałów które związane są ze zmianami właściwości fizycznych wywołanych reakcjami chemicznymi znacząco wpływają na możliwości ich zastosowania w układach biologicznych. Analizy resorpcji materiałów hydrożelowych w warunkach *in vitro* najczęściej wykonywane są metodą zanurzeniową, co w przypadku zastosowań w układzie moczowym czy krwionośnym, w których występuje przepływ cieczy, jest techniką badawczą obarczoną błędami w interpretacji wyników [2]. Celem badań było opracowanie metody umożliwiającej określenie tempa bioresorpcji hydrożelu na bazie alginianu sodu w warunkach symulowanego przepływu moczu. Aby ocenić resorpcję materiału hydrożelowego na bazie alginianu sodu, który docelowo ma być implantowany w układzie moczowo-płciowym, należało opracować nową metodę badań, a przede wszystkim stanowisko, umożliwiające uzyskanie warunków przepływu. Przy założeniu, że stanowisko ma na celu symulację odzwierciedlającą w uproszczeniu faktyczną mikcję w układzie moczowym żywego organizmu wykonane zostaną obserwacje i badania próbek w zasymulowanym środowisku. Badania wykonywane z wykorzystaniem przygotowanego stanowiska pozwolą na analizę zmian zachodzących w próbce podczas swobodnego przepływu, kontrolę czasu i częstotliwości przepływu, oraz resorpcję materiału (analiza masy oraz wizualna ocena próbki).

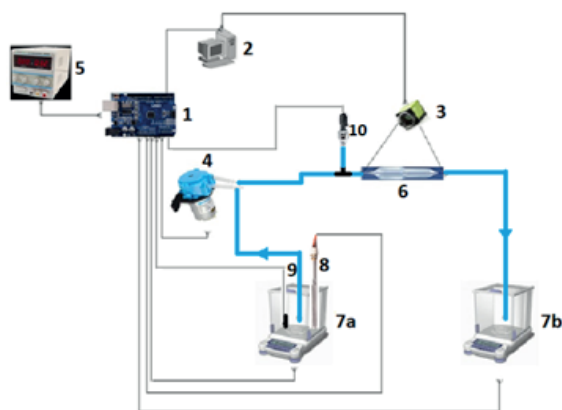
2. Materiał i metody

Stanowisko do symulacji przepływu moczu zbudowano zgodnie z koncepcją przedstawioną na rys. 1. Do przeprowadzenia badań eksperymentalnych użyto sztucznego moczu przygotowanego według receptury AU-5 [3], próbka hydrożelu (6) została umieszczona w szklanej rurce, a przepływ wysterowano przez mikrokontroler arduino uno (1). W celu wizualnej rejestracji resorpcji wykorzystano kamerę laboratoryjną Na-

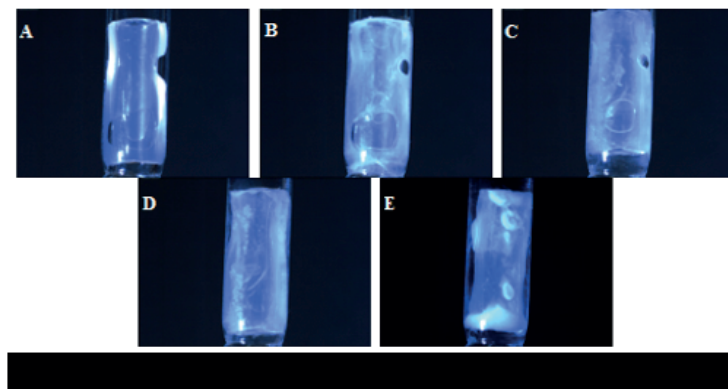
no Genie C640 DALSA (3), natomiast przepływ wymuszono pompą perystaltyczną Fresenius 66800 24V (4). Do mierzenia temperatury podczas badania użyto czujnika PT1000 (9). Sterownik zaprogramowano tak, aby mikcja była symulowana co 15 min (interwał między kolejnymi przepływami) w losowym czasie przepływu między 6 a 13 sek. co przekłada się na pojedynczy przepływ w wielkości $22 \div 40$ ml. Grzałka w naczyniu pozwala na utrzymanie zadanej temperatury, natomiast wagi tarowane przed każdą mikcją pozwalają określić poziom absorpcji bądź resorpcji badanego materiału poprzez analizę różnicy masy. Ponadto w skład stanowiska wchodziły komponenty: (2) serwer, (5) zasilanie układu, (7) wagi analityczne, (8) grzałka elektryczna, (10) czujnik ciśnienia.

3. Wyniki

Opracowana metoda badań z wykorzystaniem stanowiska pozwoliła na obrazowe określenie resorpcji hydrożelu na podstawie losowej próbki oraz 4 kolejnych mikcji w temperaturze 22°C (rys. 1A–E). Początkowa masa hydrożelu przed przepływem wynosiła 0,20 g natomiast po 4 mikcjach z interwałem ustawionym na 15 min wzrosła do 0,25 g. Hydrożel napęczniał oraz wchłoniął część sztucznego moczu, a na ściankach osadziły się cząsteczki baru widoczne na rys. 1E.



Rys. 1. Przedstawia próbkę podczas sekwencyjnego oddania moczu w 15 min. interwały czasowym: A) próbka przed mikcją, B) próbka po 1 mikcji, C) próbka po 2 mikcji, D) próbka po 3 mikcji, E) próbka po 4 mikcji.



4. Dyskusja

Przedstawione badania przeprowadzone na prototypowym stanowisku, które jest w fazie rozwojowej wskazują na resorpcję hydrożelu w warunkach wymuszonego przepływu, a uzyskane wyniki są różne od tych dla hydrożeli badanych metodą zanurzeniową. W próbie przez godzinę w trakcie wymuszonej czterokrotnej mikcji zaszedł proces pęcznienia hydrożelu, podczas gdy Barros i inni po godzinnym zanurzeniu zarejestrowali utratę masy [2]. W trakcie obserwacji zauważono, że hydrożel w pierwszym etapie wchłania składniki sztucznego moczu zawierające jednowartościowe kationy powodujące rozsięciowanie hydrożelu – pęcznieje, natomiast w ostatnim ulega resorpcji.

Metoda badania podczas swobodnego przepływu i rejestracji wideo daje możliwość obserwacji zmian zachodzących w materiale w czasie rzeczywistym. Przepływ wymusza ruch jednowartościowych jonów w roztworze sztucznego moczu zwiększając ich energię kinetyczną, przez co szybciej przedostają się w głąb sieci polimerowej wybijając dwuwartościowe jony baru, którymi polimer był sieciowany.

Piśmiennictwo

- [1] Jeon O. et al., Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties., *Biomaterials*. 2009 May;30(14):2724–34.
- [2] Barros A.A. et al. Bioresorbable ureteral stents from natural origin polymers, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015 Apr;103(3):608–17.
- [3] Chutipongtante S., Thongboonkerd V., “Systematic comparisons of artificial urine formulas for in vitro cellular study”, *Analytical Biochemistry* 402 (2010) 110–112.

Potencjalne możliwości zastosowania powłok funkcjonalnych do ochrony antybakteryjnej elementów aparatów ortodontycznych

Anna Zięty¹, Beata Borak¹, Natalia Szczerbakowicz¹, Jerzy Detyna¹,
Justyna Bącela¹, Marta Gawlik², Zofia Kielan², Michał Sarul²

¹ Politechnika Wroclawska, Wydział Mechaniczny, Katedra Mechaniki
i Inżynierii Materiałowej, ul. Smoluchowskiego 25, 50-370 Wrocław

² Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,
Wydział Lekarsko-Stomatologiczny, Katedra Ortopedii Szczękowej i Ortodoncji,
ul. Krakowska 26, 50-425 Wrocław

Słowa kluczowe: ortodoncja, aparat ortodontyczny, ochrona antybakteryjna, powłoki funkcjonalne, powłoki zol-żel

1. Wstęp

W ostatnich latach coraz więcej osób decyduje się na leczenie ortodontyczne. Istnieje wiele powodów, aby rozpocząć leczenie z wykorzystaniem stałych aparatów ortodontycznych. Jednym z ważniejszych są względy psychologiczne i estetyczne. Ponad 60 procent pacjentów przyznaje, że dąży do leczenia ortodontycznego z powodów estetycznych i niezadowolenia z wyglądu. Badania naukowe wykazały, że samoocena jest głównym czynnikiem uruchamiającym terapię. Zdrowie jamy ustnej nie jest więc głównym czynnikiem motywującym do rozpoczęcia korekcji ortodontycznej [1].

Korekcja położenia zębów może mieć jednak wpływ na higienę jamy ustnej. Niewłaściwe położenia zębów mogą tworzyć miejsca z trudnym dostępem do czyszczenia zębów. Niewystarczająca precyzja podczas szczotkowania i nitkowania może spowodować nagromadzenie płytki nazębnej, co z kolei zwiększa ryzyko próchnicy i dziąseł. W konsekwencji może spowodować długotrwałe zniszczenie tkanki przyzębia i wywołać ruchliwość zębów [2]. Innym problemem zdrowotnym jamy ustnej jest choroba okluzyjna. Wada tego typu powoduje problemy z żuciem i może powodować ostatecznie choroby żołądka. Ponadto może być przyczyną nadmiernego szlifowania zębów, co zwiększa wadę i powoduje degenerację stawów skroniowo-żuchwowych [3]. Leczenie ortodontyczne aparatami stałymi jest jednym z najskuteczniejszych sposobów korygowania położenia zębów, wyróżnia się krótkim czasem trwania terapii [1].

Poważnym problemem jest utrzymanie szczególnej higieny jamy ustnej w czasie leczenia ortodontycznego. Pacjent powinien myć zęby i aparat ortodontyczny po każdym posiłku. Często jednak pomimo wysiłku pacjentów pojawiają się białe plamy na zębach po leczeniu, które są oznaką demineralizacji. Tego typu efekty wskazują, że właściwa higiena często nie jest wystarczającym sposobem zapobiegania niepożądanym skutkom terapii. Odwapnienie szkliwa występuje, gdy gromadząca się płytka na-

zębna nie jest usuwana, co dalej prowadzi do próchnicy zębów [4]. Ponadto biofilm nie tylko zwiększa ryzyko choroby jamy ustnej, ale także prowadzi do zwiększonego tarcia między elementami aparatu. Oprócz tego wyniki badań Geramy'ego i wsp. [5] ujawniły, że fluorek sodu, który jest powszechnie stosowany podczas leczenia ortodontycznego przeciwko próchnicy, może zwiększyć podatność zamków i łuków ortodontycznych na tarcie. W ten sposób leczenie może zostać znacznie spowolnione lub nawet całkowicie zahamowane. Skuteczną metodą wspomagania w utrzymaniu higieny jamy ustnej podczas leczenia ortodontycznego może być zastosowanie powłok antybakteryjnych na powierzchni łuków i zamków aparatu.

2. Materiał i metody

Przez ostatnie lata wielu badaczy testowało różne metody powlekania aparatów ortodontycznych. Ewald i współpracownicy [6] zastosowali warstwę Ti-Ag, aby uzyskać efekt antybakteryjny. Z drugiej strony, Kachoei i wsp. [7] zastosowali chemiczne osadzanie z fazy gazowej w celu pokrycia niklowo-tytanowych drutów ortodontycznych tlenkiem cynku w celu zmniejszenia tarcia i właściwości antybakteryjnych. W badaniach [8] Chun i wsp. wykorzystali metodę cienkowarstwowego powlekania zanurzeniowego zol-żel w celu uzyskania powłoki TiO_2 na drutach ortodontycznych. Badania własne koncentrują się na opisanym metodzie zanurzeniowej zol-żel z wykorzystaniem jonów srebra i tlenku cynku. W badaniach powłoki funkcjonalne zostały zastosowane na metalowych elementach stałego aparatu ortodontycznego: na łukach stalowych oraz na zamkach.

3. Wyniki

W piśmiennictwie naukowcy w swoich badaniach zwykle używali kolonii *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* lub *Porphyromonas gingivalis* [7, 8]. Skuteczność powłok jest oceniana przez wyznaczenie wskaźnika przeżycia bakterii (zliczanie liczby kolonii, które przeżyły kontakt z powłokami lub przez pomiar absorbancji bakteryjnej pożywki wzrostowej) [8]. Ogólnie rzecz biorąc, większość badań wykazała większy lub mniejszy, ale pozytywny wpływ zastosowania powłok funkcjonalnych na ochronę antybakteryjną elementów aparatów ortodontycznych w badaniach in vitro.

4. Dyskusja

Mając na uwadze doniesienia literaturowe oraz dotychczasowe wstępne badania własne można stwierdzić, że metoda zol-żel może być wykorzystana do tworzenia i nanoszenia powłok antybakteryjnych, które mogą przyczynić się do poprawy higieny w jamie ustnej podczas leczenia ortodontycznego z wykorzystaniem stałych aparatów.

Piśmiennictwo

- [1] B. Wędrychowska-Szulc, M. Syryńska, "Patient and parent motivation for orthodontic treatment – a questionnaire study", *Eur. J. Orthod.* 32 (2010) 447–452.
- [2] S. Bahirrah, "Relationship of crowded teeth and Oral Hygiene among urban population in Medan", *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 126 (2018) 1–9.
- [3] H. Lundh, P.-L. Westesson, "Long-term follow-up after occlusal treatment to correct abnormal temporomandibular joint disk position", *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol.* 67 (1989) 2–10.
- [4] C. Teodora, E. Ionescu, E. Preoteas, "Risks and Complications Associated with Orthodontic Treatment", in: *Orthod. – Basic Asp. Clin. Considerations*, 2012.
- [5] A. Geramy, T. Hooshmand, T. Etezadi, "Effect of Sodium Fluoride Mouthwash on the Frictional Resistance of Orthodontic Wires", *J. Dent. (Tehran)*. 14 (2017) 254–258.
- [6] A. Ewald, S.K. Glückermann, R. Thull, U. Gbureck, "Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium", *Biomed. Eng. Online.* 5 (2006) 22.
- [7] M. Kachoei, A. Nourian, B. Divband, Z. Kachoei, S. Shirazi, "Zinc-oxide nanocoating for improvement of the antibacterial and frictional behavior of nickel-titanium alloy", *Nanomedicine.* 11 (2016) 2511–2527.
- [8] M.J. Chun, E. Shim, E.H. Kho, K.J. Park, J. Jung, J.M. Kim, B. Kim, K.H. Lee, D.L. Cho, D.H. Bai, S.I. Lee, H.S. Hwang, S.H. Ohk, "Surface modification of orthodontic wires with photocatalytic titanium oxide for its antiadherent and antibacterial properties", *Angle Orthod.* 77 (2007) 483–488.

