

# V Zjazd Naukowy

Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej

**Biologia – Medycyna – Terapia**

15-17 września 2022

Katolicki Uniwersytet Lubelski  
Jana Pawła II





## Organizatorzy



POLSKIE TOWARZYSTWO IMMUNOLOGII  
DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ  
Polish Society of Immunology



## Patronat honorowy



Minister  
Edukacji i Nauki

PATRONAT HONOROWY  
WOJEWODA LUBELSKI  
LECH SPRAWKA



## Sponsorzy



Quality and innovation in scientific research



Instytut Rozwoju  
Spraw Społecznych



## Darczyńcy



V Zjazd Naukowy  
Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej  
Biologia – Medycyna – Terapia

---

Lublin, 15-17 września 2022 roku

Wydawnictwo KUL  
Lublin 2022

Recenzenci

prof. dr hab. Andrzej Krzysztof Siwicki, UWM  
dr hab. Barbara-Joanna Bałan, prof. WUM

Opracowanie redakcyjne

dr Katarzyna Czarnek  
dr Ilona Sadok  
dr Rafał Łopucki  
mgr Agnieszka Krzyszczyk  
mgr Ewa Szczucińska  
prof. dr hab. Ryszard Maciejewski

Projekt okładki

dr Ilona Sadok, dr Rafał Łopucki  
mgr Małgorzata Adamczyk

Zdjęcie na okładce

mgr Emil Zięba

Opracowanie komputerowe

Zuzanna Guty

Opracowanie techniczne okładki i stron tytułowych

Dorota Woźniak

© Copyright by Wydawnictwo KUL, Lublin 2022

ISBN 978-83-8288-050-2

Wydawnictwo KUL

ul. Konstantynów 1H, 20-708 Lublin, tel. 81 740-93-40  
e-mail: [wydawnictwo@kul.lublin.pl](mailto:wydawnictwo@kul.lublin.pl), <http://wydawnictwo.kul.lublin.pl>



# SPIS TREŚCI

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| KOMITET NAUKOWY .....                                                           | 16 |
| KOMITET ORGANIZACYJNY .....                                                     | 17 |
| SŁOWO WSTĘPU – KOMITET ORGANIZACYJNY I NAUKOWY .....                            | 19 |
| SŁOWO WSTĘPU – REKTOR KATOLICKIEGO UNIwersYTETU LUBELSKIEGO JANA PAWŁA II ..... | 21 |
| SŁOWO WSTĘPU – PREZES POLSKIEGO TOWARZYSTWA BIOLOGII MEDYCZNEJ .....            | 23 |
| RAMOWY PROGRAM OBRAD .....                                                      | 25 |
| SZCZEGÓŁOWY PLAN OBRAD .....                                                    | 26 |

## STRESZCZENIE WYKŁADU INAUGURACYJNEGO

*Grzegorz Telega*

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| PRZESZCZEP WĄTROBY JAKO FORMA TERAPII GENOWEJ. GENETYCZNE I METABOLICZNE CHOROBY WĄTROBY ..... | 36 |
| LIVER TRANSPLANT AS A GENE THERAPY. GENETIC AND METABOLIV LIVER DISORDERS .....                | 37 |

## STRESZCZENIA WYKŁADÓW PLENARNYCH

*Agnieszka Wolińska, Agnieszka Kuźniar, Anna Kruczyńska, Weronika Goraj*

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| NOWOCZESNE PODEJŚCIE DO ZASTOSOWANIA MIKROORGANIZMÓW W AGROBIOTECHNOLOGII ..... | 40 |
| A MODERN APPROACH TO THE USE OF MICROORGANISMS IN AGROBIOTECHNOLOGY .....       | 41 |

*Rafał Zieliński, Waldemar Priebe*

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| NOWE PODEJŚCIE DO TERAPII OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ .....                                             | 42 |
| FROM BENCH TO BEDSIDE: DEVELOPMENT OF A NEW THERAPEUTIC APPROACH TO TREAT ACUTE MYELOID LEUKEMIA ..... | 43 |

## STRESZCZENIA WYKŁADÓW

*Grzegorz Węgrzyn, Karolina Pierzynowska, Lidia Gaffke, Zuzanna Cyske*

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| STYMULACJA AUTOFAGII JAKO POTENCJALNA METODA LECZENIA CHOROBY HUNTINGTONA ..... | 46 |
| STIMULATION OF AUTOPHAGY AS A POTENTIAL TREATMENT FOR HUNTINGTON DISEASE .....  | 47 |

*Piotr Trzonkowski*

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| LIMFOCYTY T REGULATORY W KLINICE CZŁOWIEKA .....      | 48 |
| TREATMENT WITH T REGULATORY CELLS IN THE CLINIC ..... | 49 |

*Małgorzata Kloc*

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| NOWE TERAPIE ZAPOBIEGAJĄCE ODRZUCANIU CHRONICZNEMU (DŁGOTERMINOWEMU) PRZESZCZEPÓW ..... | 50 |
| NOVEL THERAPIES FOR CHRONIC REJECTION OF TRANSPLANTED ORGANS .....                      | 51 |

*Elżbieta Starosławska*

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| PEŁNOPROFILOWA ONKOLOGIA – DIAGNOSTYKA I LECZENIE ..... | 52 |
| COMPREHENSIVE ONCOLOGY – DIAGNOSIS AND TREATMENT .....  | 53 |

*Wiesław Wiktor Jędrzejczak*

|                                                      |    |
|------------------------------------------------------|----|
| PRZESZCZEPIANIE SZPIKU W XXI WIEKU .....             | 54 |
| BONE MARROW TRANSPLANTATION IN THE XXI CENTURY ..... | 55 |

*Ambrose Wu, Ewa Mazurkiewicz, Piotr Donizy, Krzysztof Kotowski, Małgorzata Pieniążek, Antonina J. Mazur, Aleksander Czogalla, Tomasz Trombik*

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| BIĄŁKO ABCA1 CZERNIĄK – JAK CHOLESTEROL WPŁYWA NA ROZWÓJ NOWOTWORU ..... | 56 |
| ABCA1 AND MELANOMA – HOW CHOLESTEROL IMPACTS TUMOR PROGRESSION .....     | 57 |

*Marek Saracyn*

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| HORMON TYREOTROPOWY – NOWE MECHANIZMY DZIAŁANIA .....        | 58 |
| THYROID-STIMULATING HORMONE – NEW MECHANISMS OF ACTION ..... | 59 |

*Kamil Janeczek*

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| KOMÓRKOWE I MOLEKULARNE MECHANIZMY DZIAŁANIA LIZATÓW BAKTERYJNYCH W CHOROBYCH ALERGICZNYCH .. | 60 |
| CELLULAR AND MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION OF BACTERIAL LYSATES IN ALLERGIC DISEASES .....   | 61 |

*Jacek Malejczyk*

|                                                   |    |
|---------------------------------------------------|----|
| GENY EVER1 I EVER2 W ZDROWIU I CHOROBY .....      | 62 |
| EVER1 AND EVER2 GENES IN HEALTH AND DISEASE ..... | 63 |

*Jacek Kubiak*

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TRANSLATIONALLY CONTROLLED TUMOUR PROTEIN (TCTP) JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ ..... | 64 |
| TRANSLATIONALLY CONTROLLED TUMOUR PROTEIN (TCTP) AS TARGET OF ANTI-CANCER THERAPY .....     | 66 |

*Andrzej Krzysztof Siwicki, Edyta Kaczorek-Lukowska*

|                                         |    |
|-----------------------------------------|----|
| KORONAWIRUSY – STAŁE ZAGROŻENIE .....   | 68 |
| CORONAVIRUSES – A CONSTANT THREAT ..... | 69 |

*Teresa Jackowska*

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| SZCZEPIENIA REKOMENDOWANE U DOROSŁYCH ..... | 70 |
| VACCINES RECOMMENDED FOR ADULTS .....       | 71 |

*Barbara-Joanna Balan, Marta Stelmasiak, Bogdan Hajduk, Sławomir Lewicki*

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IMMUNOMODULACJA JAKO PODSTAWOWY ELEMENT OCHRONY ZDROWIA CZŁOWIEKA –<br>WYBRANE LEKI O DZIAŁANIU IMMUNOMODULUJĄCYM STOSOWANE W INFЕКCJACH ..... | 72 |
| IMMUNOMODULATION AS A BASIC ELEMENT OF HUMAN HEALTH PROTECTION – SELECTED DRUGS<br>WITH IMMUNOMODULATING PROPERTIES USED IN INFECTIONS .....   | 73 |

*Dorota Siwicka-Gieroba, Wojciech Dąbrowski*

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| BURZA CYTOKINOWA JAKO PROBLEM INTENSYWNEJ TERAPII .....               | 74 |
| „CYTOKINE STORM” – NOVEL OR OLD PROBLEM IN INTENSIVE CARE UNIT? ..... | 75 |

*Agnieszka Szopa, Eliza Blicharska, Marta Klimek-Szczykutowicz, Sara Motyka, Paweł Kubica, Karolina Jafarnik, Katarzyna Czarnek, Halina Ekiert*

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| MOŻLIWOŚĆ WYKORZYSTANIA BADAŃ Z ZAKRESU BIOTECHNOLOGII ROŚLIN W MEDYCYNIE, FARMACJI<br>I KOSMETOLOGII ..... | 76 |
| POSSIBILITY OF USING OF THE PLANT BIOTECHNOLOGY RESEARCH IN MEDICINE, PHARMACY AND COSMETOLOGY .....        | 77 |

*Marta Fiołka*

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| ZWIĄZKI BIOAKTYWNE Z DŹDŻOWNIC DO ZASTOSOWANIA W MEDYCYNIE ..... | 78 |
| BIOACTIVE COMPOUNDS FROM EARTHWORMS FOR USE IN MEDICINE .....    | 79 |

## STRESZCZENIA REFERATÓW

*Anna Wróblewska, Dawid Kozień, Agnieszka Szczygieł, Katarzyna Węgierek-Ciura, Jagoda Mierzejewska, Bożena Szermer-Olearnik, Elżbieta Pajtasz-Piasecka*

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| ZASTOSOWANIE ZWIĄZKÓW BOGATYCH W BOR W TERAPII BOROWO-NEUTRONOWEJ ..... | 82 |
| THE USE OF BORON-RICH COMPOUNDS IN BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY .....  | 83 |

*Ewa Błaszczak, Natalia Łazarewicz, Gaëlle Le Dez, Robert Wysocki, Gwenaëll Rabut*

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IDENTYFIKACJA INTERAKTOMU ENZYMÓW UBIKWITYNACJI W WARUNKACH FIZJOLOGICZNYCH I PATOLOGICZNYCH ..... | 84 |
| DECIPHERING THE INTERACTOME OF UBIQUITYLATION ENZYMES IN PHYSIOLOGY AND DISEASE .....              | 85 |

*Magdalena Michalak-Tomczyk, Anna Rymuszka, Anna Sierosławska*

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| OCENA POTENCJAŁU PRZECIWNOWOTWOROWEGO W BADANIACH IN VITRO FERMENTOWANEGO JARMUŻU (BRASSICA OLERACEA VAR. SABELLICA) ..... | 86 |
| EVALUATION OF IN VITRO ANTICANCER POTENTIAL OF FERMENTED CURLY KALE (BRASSICA OLERACEA VAR. SABELLICA) .....               | 87 |

*Ewelina A. Wójcik, Jarosław Dastych*

|                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| BEZPIECZEŃSTWO STOSOWANIA BAKTERIOFAGÓW W TERAPII CHOROBY INFEKCYJNYCH NA PRZYKŁADZIE PREPARATU BAFASAL .....            | 88 |
| SAFETY OF THE USE OF BACTERIOPHAGES IN THE THERAPY OF INFECTIVE DISEASES ON THE EXAMPLE OF THE BAFASAL PREPARATION ..... | 89 |

*Anna Brzozowska*

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| WSPÓŁCZESNA RADIOTERAPIA ONKOLOGICZNA ..... | 90 |
| CONTEMPORARY RADIOTHERAPY .....             | 92 |

*Paweł Andrzejewicz, Władysław Rogala, Tomasz Wnuk, Piotr Maksymiuk, Dawid Pyzik, Krzysztof Grabowski, Dawid Kijewski, Mateusz Matyjaszczyk, Tomasz Mazurkiewicz*

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| WYNIKI LECZENIA OPERACYJNEGO JEDNOOGRNISKOWYCH I WIELOMIEJSKOWYCH PRZERZUTÓW RAKÓW DO KRĘGOSŁUPA ..... | 94 |
| SURGICAL TREATMENT RESULTS OF SINGLE-FOCAL AND MULTI-SITE CANCER METASTASES TO THE SPINE .....         | 95 |

*Władysław Rogala, Paweł Andrzejewicz, Tomasz Wnuk, Piotr Maksymiuk, Dawid Pyzik, Krzysztof Grabowski, Dawid Kijewski, Mateusz Matyjaszczyk, Tomasz Mazurkiewicz*

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| ZESPOLENIA ZŁAMAŃ PATOLOGICZNYCH KOŚCI DŁUGICH .....        | 96 |
| STABILIZATION OF PATHOLOGICAL FRACTURES OF LONG BONES ..... | 97 |

*Ryszard Sitarz, Alicja Forma, Kaja Karakuła, Dariusz Juchnowicz, Jacek Baj, Robert Karpiński, Joanna Rog, Paweł Krukow, Kamil Jonak, Hanna Karakuła-Juchnowicz*

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| SKINREMS – SKÓRNY TEST NIACYNOWY JAKO POTENCJALNE NARZĘDZIE DO BIOTYPOWANIA PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI PSYCHOTYCZNYMI I PERSONALIZACJI ICH LECZENIA ..... | 98 |
| SKINREMS – NIACIN SKIN FLUSH TEST AS A POTENTIAL DEVICE FOR BIOTYPING PATIENTS WITH PSYCHOTIC DISORDERS AND PERSONALIZING THEIR TREATMENT .....         | 99 |

*Ryszard Sitarz, Alicja Forma, Kaja Karakuła, Dariusz Juchnowicz, Jacek Baj, Robert Karpiński, Joanna Rog, Paweł Krukow, Kamil Jonak, Hanna Karakuła-Juchnowicz*

|                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEST NIACYNOWY JAKO METODA STRATYFIKACJI PACJENTÓW I PERSONALIZACJA ICH LECZENIA – PRZEGŁĄD PIŚMIENNICTWA .....             | 100 |
| THE NIACIN SKIN FLUSH TEST AS A PATIENT STRATIFICATION METHOD AND THEIR TREATMENT PERSONALIZATION – LITERATURE REVIEW ..... | 101 |



*Katarzyna Czarnek, Andrzej Krzysztof Siwicki*

|                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ODDZIAŁYWANIE CHROMU(III) I KOBALTU(II) NA WYBRANE LINIE KOMÓRKOWE –<br>ASPEKTY CYTOTOKSYCZNE, GENOTOKSYCZNE I MUTAGENNE ..... | 102 |
| THE EFFECT OF CHROMIUM (III) AND COBALT (II) ON SELECTED CELL LINES – CYTOTOXIC, GENOTOXIC<br>AND MUTAGENIC ASPECTS .....      | 103 |

*Klaudia Ciesielska-Figlon, Agnieszka Dąca, Adam Kokotkiewicz, Maria Łuczkiwicz, Bożena Zabiegała, Jacek M. Witkowski, Katarzyna A. Lisowska*

|                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WPLYW OLEJKU ETERYCZNEGO Z NASION CZARNUSZKI SIEWNEJ (NIGELLA SATIVA) NA PROLIFERACJĘ,<br>AKTYWACJĘ I APOPTOZĘ LIMFOCYTÓW T. ....  | 104 |
| THE INFLUENCE OF NIGELLA SATIVA ESSENTIAL OIL ON PROLIFERATION, ACTIVATION, AND APOPTOSIS OF<br>HUMAN T LYMPHOCYTES IN VITRO ..... | 105 |

*Małgorzata Zasowska, Paulina Łaskowska, Anna M. Nowakowska, Aleksandra Borek-Dorosz, Maciej Szydłowski, Małgorzata Barańska, Katarzyna Majzner, Przemysław Juszczyński, Piotr Mrówka*

|                                                                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| STWORZENIE MODELU KOMÓRKOWEGO OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ Z MUTACJĄ FLT3 DO BADANIA<br>WPLYWU MUTACJI W GENIE FLT3 NA ZMIANY WIDMA RAMANOWSKIEGO KOMÓREK .....                   | 106 |
| CONSTRUCTION OF A CELLULAR MODEL OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH FLT3 MUTATION TO STUDY<br>THE INFLUENCE OF MUTATION IN FLT3 GENE ON CHANGES IN THE RAMAN SPECTRA OF CELLS. .... | 107 |

*Andrzej Krzysztof Siwicki, Joanna Małaczewska*

|                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CHOROBY ODZWIERZĘCE – NOWE WIRUSY I ICH NIEPRZEWIDYWALNA PATOGENNOŚĆ DLA CZŁOWIEKA. .... | 108 |
| ZOO NOSES – NEW VIRUSES AND THEIR UNPREDICTABLE PATHOGENICITY TO HUMANS .....            | 109 |

*Sylvia Krasowska, Magdalena Charukiewicz, Marta Odzeniak*

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| PANDEMIA COVID-19, PÓŹNE KONSEKWENCJE PSYCHOLOGICZNE. BADANIE PORÓWNAWCZE ..... | 110 |
| COVID-19 PANDEMIC, LATE PSYCHOLOGICAL CONSEQUENCES. COMPARISON STUDY .....      | 111 |

*Monika Leśniak, Karolina Aleksandrowicz, Klaudia Wielgosz, Aleksandra Majewska, Jacek Z. Kubiak, Katarzyna Plewka, Kszysztof Kłos, Robert Zdanowski, Andrzej Chciałowski*

|                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WYBRANE CYTOKINY/CHEMOKINY JAKO MARKERY PROGNOSTYCZNE W ZAKAŻENIU COVID-19. .... | 112 |
| SELECTED CYTOKINES/CHEMOKINES AS PROGNOSTIC MARKERS IN COVID-19 INFECTION .....  | 113 |

*Robert Zdanowski, Karolina Aleksandrowicz, Monika Leśniak, Klaudia Porębska, Kszysztof Kłos, Katarzyna Plewka, Aleksandra Majewska, Klaudia Brodaczewska, Jacek Z. Kubiak, Andrzej Chciałowski*

|                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------|-----|
| ROLA LIMFOCYTÓW REGULATORYCZYCH W ZAKAŻENIU WIRUSEM SARS COV-2 ..... | 114 |
| ROLE OF REGULATORY LYMPHOCYTES IN SARS COV-2 VIRUS INFECTION .....   | 115 |

*Edyta Kaczorek-Łukowska, Kerstin Wernike, Martin Beer, Małgorzata Wróbel, Joanna Małaczewska, Elżbieta Mikulska-Skupień, Karolina Malewska, Izabela Mielczarska, Alicja Blank, Mirosława Blank, Anna Jąlonicka, Andrzej Krzysztof Siwicki*

|                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| SEROPREWALENCJA ZAKAŻEŃ SARS-COV-2 POŚRÓD PSÓW, KOTÓW I FRETEK ŻYJĄCYCH W POLSCE, 2021/2022 .....     | 116 |
| SEROPREVALENCE OF SARS-COV-2 INFECTION AMONG DOGS, CATS AND FERRETS LIVING IN POLAND, 2021/2022 ..... | 117 |

*Alicja Sierakowska, Michał Braczkowski, Dariusz Soszyński, Beata Chomicz*

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| WYSTĘPOWANIE STANÓW ZAPALNYCH U MŁODYCH DOROSŁYCH ..... | 118 |
| EXISTENCE INFLAMMATORY IN YOUNG ADULTS. ....            | 119 |

*Anna Sierosławska, Anna Rymuszka*

|                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| BADANIA NAD AKTYWNOŚCIĄ CYTOTOKSYCZNĄ ZWIĄZKÓW Z GRUPY FITOALEKSYN NA KOMÓRKI NOWOTWOROWE<br>WYWODZĄCE SIĘ Z ENTEROCYTÓW. .... | 120 |
| STUDY ON THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF COMPOUNDS FROM THE PHYTOALEXIN GROUP ON TUMOR CELLS DERIVED<br>FROM ENTEROCYTES .....       | 121 |

*Konrad Kubiński, Maciej Masłyk, Monika Janeczko, Waldemar Goldman, Anna Nasulewicz-Goldman, Mateusz Psurski, Aleksandra Martyna, Anna Boguszewska-Czubara, Tomasz M. Goszczyński*

|                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------|-----|
| METALOKARBORANY JAKO INNOWACYJNE CZĄSTECZKI PRZECIWIWRZYBICZE ..... | 122 |
| METALLACARBORANE DERIVATIVES AS INNOVATIVE ANTIFUNGAL AGENTS .....  | 123 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Maciej Masłyk, Tomasz Lenard, Marta Olech, Aleksandra Martyna, Elżbieta Kochanowicz, Małgorzata Poniewozik, Anna Boguszevska-Czubara, Kamila Górka, Mateusz Kwaśnik, Ajoku U. Sampson, Konrad Kubiński</i><br>JEZIORA ZAPADLISKOWE JAKO BOGATE ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW PRZECIWNOWOTWOROWYCH. NA PRZYKŁADZIE<br>MAKROFITU CERATOPHYLLUM DEMERSUM..... | 124 |
| ANTHROPOGENIC LAKES AS A RICH SOURCE OF ANTICANCER COMPOUNDS. THE CASE OF THE SUBMERGED<br>MACROPHYTE CERATOPHYLLUM DEMERSUM.....                                                                                                                                                                                                               | 125 |
| <i>Monika Janeczko, Konrad Kubiński, Maciej Masłyk, Elżbieta Kochanowicz, Kamila Górka</i><br>NOWE MOŻLIWOŚCI LECZENIA ZAKAŻEŃ CANDIDA ALBICANS OPARTE NA NATURALNYCH SUBSTANCJACH.....                                                                                                                                                         | 126 |
| NEW OPTIONS FOR TREATMENT OF CANDIDA ALBICANS INFECTIONS BASED ON NATURAL SUBSTANCES.....                                                                                                                                                                                                                                                       | 127 |
| <i>Kinga Lewtak, Marta Fiołka, Paulina Czaplewska, Tomasz Buchwald, Weronika Sofińska-Chmiel</i><br>ŚLĄZOWIEC PENSYLWAŃSKI JAKO ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW O DZIAŁANIU PRZECIWGRZYBOWYM.....                                                                                                                                                               | 128 |
| VIRGINIA MALLOW AS A SOURCE OF COMPOUNDS WITH ANTIFUNGAL ACTIVITY.....                                                                                                                                                                                                                                                                          | 129 |
| <i>Lena Łyko, Marta Olech, Renata Nowak, Wojciech Ziemichód</i><br>WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWZAPALNE RÓŻANECZNIKA ŻÓŁTEGO (RHODODENDRON LUTEUM SWEET).....                                                                                                                                                                                             | 130 |
| ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF YELLOW AZALEA (RHODODENDRON LUTEUM SWEET).....                                                                                                                                                                                                                                                                    | 131 |
| <i>Wojciech Ziemichód, Sylwia Podstawka, Mateusz Gajos, Marta Olech</i><br>ZASTOSOWANIE EKSTRAKCJI WSPOMAGANEJ DZIAŁANIEM ENZYMÓW CELULOLITYCZNYCH W POZYSKIWANIU<br>BIOAKTYWNYCH METABOLITÓW Z PSEUDOOWOCNI RÓŻY.....                                                                                                                          | 132 |
| THE APPLICATION OF ENZYME-ASSISTED EXTRACTION FOR THE RECOVERY OF BIOACTIVE METABOLITES FROM ROSE HIP....                                                                                                                                                                                                                                       | 133 |
| <i>Łukasz Szymański, Rafał Skopek, Małgorzata Palusińska, Sławomir Lewicki, Artur Zelen</i><br>INNOWACYJNE METODY LECZENIA MDS I AML.....                                                                                                                                                                                                       | 134 |
| INNOVATIVE APPROACHES FOR MDS AND AML TREATMENT.....                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 135 |
| <i>Jerzy Bednarski, Aleksandra Górka, Iwona Łuszczewska-Sierakowska, Zofia Hoffman</i><br>HEMOFILIA I JEJ ROLA W KONTEKŚCIE DOLEGLIWOŚCI KRĘGOSŁUPA.....                                                                                                                                                                                        | 136 |
| HAEMOPHILIA AND ITS ROLE IN THE CONTEXT OF SPINE AILMENTS.....                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 137 |
| <i>Anna Borówka, Grzegorz Żukociński, Anna Sierosławska, Anna Rymuszka</i><br>NANOMATERIAŁY KRZEMIONKOWE ZAWIERAJĄCE METALE JAKO POTENCJALNE NOŚNIKI SUBSTANCJI AKTYWNYCH ....                                                                                                                                                                  | 138 |
| METAL-CONTAINING SILICA NANOMATERIALS AS POTENTIAL CARRIERS OF ACTIVE SUBSTANCES.....                                                                                                                                                                                                                                                           | 139 |
| <i>Ilona Sadok, Magdalena Staniszevska</i><br>ANALITYCZNE ASPEKTY IŁOŚCIOWEGO OZNACZANIA METABOLITÓW SZLAKU KINURENINOWEGO<br>W PŁYNACH USTROJOWYCH CZŁOWIEKA.....                                                                                                                                                                              | 140 |
| ANALYTICAL ASPECTS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF KYNURENINE PATHWAY METABOLITES IN HUMAN<br>BODY FLUIDS.....                                                                                                                                                                                                                                 | 141 |
| <i>Kamila Baran, Ewa Brzezińska-Lasota</i><br>OCENA ZWIĄZKU POZIOMU EKSPRESJI MRNA CCR6/CCL20 Z WYBRANYMI REGULATORAMI EPIGENETYCZNYMI<br>U PACJENTÓW Z NIEDROBNOKOMÓRKOWYM RAKIEM PŁUCA – POSZUKIWANIE BIOMARKERÓW PROGRESJI.....                                                                                                              | 142 |
| ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP OF CCR6 / CCL20 MRNA EXPRESSION LEVEL WITH SELECTED EPIGENETIC<br>REGULATORS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER – SEARCHING FOR PROGRESSION BIOMARKERS                                                                                                                                                  | 143 |
| <i>Jolanta Kryczka, Beata Kolesińska, Ewa Brzezińska-Lasota</i><br>ANTYMETASTATYCZNE WŁAŚCIWOŚCI IZOTIOCYANIANÓW (ITCS) W TERAPII NIEDROBNOKOMÓRKOWEGO RAKA<br>PŁUCA (NSCLC).....                                                                                                                                                               | 144 |
| ANTIMETASTATIC PROPERTIES OF ISOTHIOCYANATES (ITCS) IN THE TREATMENT OF NON-SMALL<br>CELL LUNG CANCER (NSCLC).....                                                                                                                                                                                                                              | 145 |
| <i>Agnieszka E. Zajęc, Jakub Piątkowski, Paweł Golik, Anna Szumera-Ciećkiewicz, Paweł Teterycz, Andrzej Tysarowski, Anna M. Czarnecka, Piotr Rutkowski</i><br>PROFIL MUTACYJNY CHRZĘSTNIAKOMIĘSAKÓW NA PODSTAWIE CELOWANEGO SEKWENCJONOWANIA NASTĘPNEJ GENERACJI.....                                                                           | 146 |
| MUTATIONAL PROFILE OF CHONDROSARCOMAS BASED ON TARGETED NEXT-GENERATION SEQUENCING ANALYSIS.....                                                                                                                                                                                                                                                | 147 |

|                                                                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Klaudia Bobak, Andrzej Tysarowski, Mateusz J. Spalek, Anna Szumera-Ciećkiewicz, Kamil Sokół, Michał Wągródzki, Hanna Kosela-Paterczyk, Piotr Rutkowski, Anna M. Czarnecka</i> |     |
| PROFIL MOLEKULARNY MIĘSAKÓW TKANEK MIĘKKICH .....                                                                                                                                | 148 |
| MOLECULAR PROFILE OF SOFT TISSUE SARCOMAS .....                                                                                                                                  | 149 |

|                                                                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Rafał Skopek, Małgorzata Palusińska, Łukasz Szymański, Artur Zelent</i>                                                                                     |     |
| WPLYW ZWIĄZKÓW MAŁOCZĄSTECzkOWYCH O CHARAKTERZE EPIGENETYCZNYM W KOMBINACJI Z ATRA NA AKTYWACJĘ SZLAKU SYGNAŁOWEGO KWASU RETINOWEGO: BADANIE PRZESIEWOWE ..... | 150 |
| EFFECT OF SMALL EPIGENETIC MOLECULES IN COMBINATION WITH ATRA ON THE RETINOIC ACID SIGNALING PATHWAY ACTIVATION: A SCREENING STUDY .....                       | 151 |

|                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Małgorzata Wróbel, Joanna Małaczewska, Edyta Kaczorek-Łukowska, Andrzej Krzysztof Siwicki</i> |     |
| WPLYW KSANTOHUMOLU NA UKŁAD IMMUNOLOGICZNY .....                                                 | 152 |
| EFFECT OF XANTHOTHUMOL ON THE IMMUNE SYSTEM .....                                                | 153 |

|                                                                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Michał Sutek, Paweł Mak, Jakub Kordaczuk, Justyna Śmiałek, Iwona Wojda</i>                                                                                                     |     |
| IDENTYFIKACJA NISKOCZĄSTECzkOWYCH POLIPEPTYDÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH W HEMOLIMFIE LARW <i>GALLERIA MELLONELLA</i> PO ZAKAŻENIU BAKTERIAMI <i>PSEUDOMONAS ENTOMOPHILA</i> ..... | 154 |
| IDENTIFICATION OF LOW MOLECULAR WEIGHT ANTIMICROBIAL POLYPEPTIDES IN THE HEMOLYMPH OF <i>GALLERIA MELLONELLA</i> LARVAE AFTER INFECTION WITH <i>PSEUDOMONAS ENTOMOPHILA</i> ..... | 155 |

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Michalina Gos</i>                                                     |     |
| PERSPEKTYWY WYKORZYSTANIA METALOKARBORANÓW W NAUKACH BIOLOGICZNYCH ..... | 156 |
| PROSPECTS FOR METALLACARBORANES' EMPLOYMENT IN BIOLOGICAL STUDIES .....  | 157 |

|                                                                                                                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Sylvia Wójcik-Mieszawska, Marta Fiołka</i>                                                                                                                                     |     |
| ANALIZA DZIAŁANIA KOMPLEKSU BIAŁKOWO-POLISACHARYDOWEGO OTRZYMANEGO Z PŁYNU CELOMATYCZNEGO DZDŻOWNICY <i>DENDROBAENA VENETA</i> NA KOMÓRKI DROżdŻAKA <i>CANDIDA ALBICANS</i> ..... | 158 |
| ANALYSIS OF THE EFFECT OF THE PROTEIN- POLYSACCHARIDE COMPLEX OBTAINED FROM <i>DENDROBAENA VENETA</i> 'S COELOMIC FLUID ON <i>CANDIDA ALBICANS</i> YEAST CELLS .....              | 159 |

## STRESZCZENIA WYSTĄPIEŃ PLAKATOWYCH

|                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Joanna Kozak, Cezary Grochowski, Ryszard Maciejewski</i>                                                            |     |
| ODDZIAŁYWANIA MICRORNA RODZINY MIR-200 Z BIAŁKAMI SESN I ICH POTENCJALNE ZNACZENIE W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ ..... | 162 |
| INTERPLAY BETWEEN MIR-200 FAMILY AND SESN PROTEINS AND THEIR PROSPECTIVE SIGNIFICANCE TO ANTICANCER THERAPY .....      | 163 |

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Monika Janeczko</i>                                                   |     |
| 5-FLUOROURYDYNA JAKO INHIBITOR WZROSTU <i>CANDIDA ALBICANS</i> .....     | 164 |
| 5-FLUOROURIDINE AS THE GROWTH INHIBITOR OF <i>CANDIDA ALBICANS</i> ..... | 165 |

|                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Bartosz Słomiński, Maria Skrzypkowska, Małgorzata Myśliwiec, Piotr Trzonkowski</i> |     |
| POLIMORFIZM GENU RECEPTORA DOPAMINY D4 U PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1 .....            | 166 |
| VARIANT IN THE DOPAMINE-4-RECEPTOR GENE (DRD4) IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES ..... | 167 |

|                                                                                                                                                                                               |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Bartosz Słomiński, Paweł Kozak, Agata Maciejewska, Aneta Szofer-Sendrowska, Maria Skrzypkowska, Aleksandra Biedrzycka, Andrzej Łoś, Maciej Michał Kowalik, Romuald Lango, Jan Rogowski</i> |     |
| WARIANTY GENÓW CCR5 I CAV1 WPLYWAJĄ NA PRAWDOPODOBIENSTWO ROZWOJU DELIRIUM PO OPERACJI KARDIOCHIRURGICZNEJ Z UŻYCIEM KRĄŻENIA POZAUSTROJOWEGO .....                                           | 168 |
| GENETIC VARIANTS OF CCR5 AND CAV1 INFLUENCE PROBABILITY OF DELIRIUM DEVELOPMENT AFTER CARDIAC SURGERY ON CARDIOPULMONARY BYPASS .....                                                         | 169 |

*Katarzyna Potrykus*

|                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5'TRIFOSFORAN-3'DIFOSFORAN ADENOZYNY JAKO POTENCJALNY ALARMON BAKTERYJNY ..... | 170 |
| ADENOSINE 5'TRIPHOSPHATE -3'DIPHOSPHATE AS A PUTATIVE BACTERIAL ALARMONE ..... | 171 |

*Monika Pitucha, Anna Biernasiuk, Wojciech Ziemichód*

|                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| POTENCJAŁ PRZECIWBAKTERYJNY NOWYCH 1-HEXYLOSULFONYLO-4- PODSTAWIONYCH POCHODNYCH<br>TIOSEMICARBAZYDU ..... | 172 |
| ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF NEW 1-HEXYLSULFYL-4-SUBSTITUTED THIOSEMICARBAZIDE DERIVATIVES .....             | 173 |

*Monika Pitucha, Agnieszka Czyłkowska, Agnieszka Korga-Plewko, Ewelina Humeniuk, Bartłomiej Rogalewicz,  
Grzegorz Adamczuk, Paweł Kozyra*

|                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| KOMPLEKSY MIEDZI(II) 1-PIRYDINOACETYLO 4-PODSTAWIONYCH POCHODNYCH TIOSEMICARBAZYDU O DZIAŁANIU<br>PRZECIWNOWOTWOROWYM ..... | 174 |
| COPPER(II) COMPLEX OF 1-PYRIDINEACETYL 4-SUBSTITUTED THIOSEMICARBAZIDE DERIVATIVES WITH ANTICANCER<br>ACTIVITY .....        | 175 |

*Agnieszka Szalewska-Pałasz, Klaudyna Krause, Monika Karczewska, Krystyna Bogucka, Dariusz Nowicki*

|                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ANTYBAKTERYJNE DZIAŁANIE IZOTIOCYANIANÓW PRZECIWKO SHIGELLA DYSENTERIAE .....        | 176 |
| ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DIETARY ISOTHIOCYANATES AGAINST SHIGELLA DYSENTERIAE ..... | 177 |

*Natalia Łazarewicz, Ewa Błaszczak, Gaëlle Le Dez, Robert Wysocki, Gwenaëlle Rabut*

|                                                                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| PROFILOWANIE INTERAKCJI LIGAZ UBIKWITYNY W OPARCIU O CZUŁĄ TECHNIKĘ KOMPLEMENTACJI FRAGMENTÓW<br>BIAŁKA ..... | 178 |
| INTERACTION PROFILING OF UBIQUITIN LIGASES USING A SENSITIVE PROTEIN COMPLEMENTATION ASSAY .....              | 179 |

*Klaudia Brodaczewska, Damian Matak, Aleksandra Majewska, Aleksandra Filipiak, Cezary Szczylik*

|                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| REGULACJA EKSPRESJI ICAM-1 PRZEZ HODOWLĘ 3D I INDUKCJĘ CSC W MODELU RAKA NERKI IN VITRO .....     | 180 |
| REGULATION OF ICAM-1 EXPRESSION BY SPHEROID CULTURE AND CSC INDUCTION IN IN VITRO RCC MODEL ..... | 181 |

*Katarzyna Królikowska, Klaudia Porębska, Agnieszka Gościńska, Karolina Aleksandrowicz, Monika Leśniak,  
Agata Tomaszewska, Jacek Z. Kubiak, Robert Zdanowski, Bolesław Kalicki*

|                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| IMMUNOMODULUJĄCY WPŁYW CHOROBY INFEKCYJNEJ DZIECKA NA SKŁAD MLEKA KOBIECEGO – BADANIA WSTĘPNE. .     | 182 |
| IMMUNOMODULATORY EFFECT OF INFECTIOUS DISEASE ON BREAST MILK COMPOSITION – PRELIMINARY STUDIES ..... | 183 |

*Lidia Markiewicz, Tadeusz Zabolewicz, Dagmara Złotkowska, Anna Ogródowczyk, Kamil Oleński, Ewa Wasilewska,  
Joanna Fotschki, Stanisław Kamiński, Barbara Wróblewska*

|                                                                                                                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WPŁYW POLIMORFIZMU BETA- I KAPPA- KAZEINY ORAZ BETA-LAKTOGLOBULINY NA ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNĄ<br>LIMFOCYTÓW W MYSIYM MODELU ALERGII POKARMOWEJ – BADANIA EX VIVO .....       | 184 |
| EFFECT OF BETA- AND CAPPA-CASEIN AND BETA-LACTOGLOBULIN POLYMORPHISM ON THE IMMUNOLOGICAL<br>RESPONSE OF LYMPHOCYTES IN THE MOUSE MODEL OF FOOD ALLERGY – EX VIVO STUDY ..... | 185 |

*Lidia Markiewicz, Anna Ogródowczyk, Barbara Wróblewska*

|                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| INDUKCJA APOPTOZY W LUDZKICH ZDROWYCH I NOWOTWOROWYCH KOLONOCYTACH POD WPŁYWEM<br>METABOLITÓW MIKROBIOTY JELITOWEJ ..... | 186 |
| INDUCTION OF APOPTOSIS IN HUMAN HEALTHY AND CANCER COLONOCYTES TREATED WITH GUT MICROBIOTA<br>METABOLITES .....          | 187 |

*Ewa Sajnaga, Katarzyna Socala, Agnieszka Kalwasińska, Piotr Właż, Adrian Wiater*

|                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| PREBIOTYCZNY EFEKT A-(1→3)-OLIGOSACHARYDÓW NA MIKROBIOTĘ JELITOWĄ MYSZY ..... | 188 |
| PREBIOTIC EFFECT OF A-(1→3)-OLIGOSACCHARIDES ON MURINE GUT MICROBIOTA .....   | 189 |

*Monika Janeczko, Aleksandra Martyna, Antonina Kurowska, Maciej Masłyk, Konrad Kubiński, Oleg M. Demchuk*

|                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------|-----|
| AKTYWNOŚĆ NOWYCH POCHODNYCH 4- AN WOBEC CANDIDA ALBICANS ..... | 190 |
| ACTIVITY OF NEW 4-AN DERIVATIVE AGAINST CANDIDA ALBICANS ..... | 191 |

*Oleg M. Demchuk, Maciej Masłyk, Konrad Kubiński, Kamila Górka, Monika Janeczko, Aleksandra Martyna,  
Mateusz Kwaśnik, Mariusz Borkowski, Anna Boguszewska-Czubara, Joanna Kowalczuk, Elżbieta Stolarczyk*

|                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| HYDROGELE NA BAZIE ALANINY ZAWIERAJĄCE NANOCZĄSTECZKI ZŁOTA I SREBRA JAKO POTENCJALNE NOŚNIKI LEKÓW .... | 192 |
| ALANINE-BASED HYDROGELS CONTAINING GOLD AND SILVER NANOPARTICLES AS POTENTIAL DRUG CARRIERS .....        | 193 |

|                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Rafał Łopucki, Monika Elżbieta Jach, Ilona Sadok, Katarzyna Michalak, Marta Klos, Konrad Kubiński, Ignacy Kitowski, Łukasz Bednarz, Maciej Masłyk</i>                                        |     |
| MONITORING WYSTĘPOWANIA ANTABIOTYKOOPORNÝCH SZCZEPÓW BAKTERII W POPULACJACH DZIKICH PTAKÓW ...                                                                                                  | 194 |
| MONITORING OF PREVALENCE OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA IN WILD BIRD POPULATIONS .....                                                                                                        | 195 |
| <i>Ewa Lenarczyk, Monika Elżbieta Jach, Rafał Łopucki, Maciej Masłyk, Konrad Kubiński</i>                                                                                                       |     |
| ANALIZA POTENCJALNYCH ZAGROŻEŃ WYBRANYCH BAKTERII PATOGENNYCH IZOLOWANYCH Z MYSZY ŻYJĄCYCH W POBLIŻU LUDZKICH SIEDZIB .....                                                                     | 196 |
| ANALYSIS OF POTENTIAL THREATS OF SELECTED PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM MICE LIVING NEAR HUMAN SETTLEMENTS .....                                                                            | 197 |
| <i>Agnieszka Rustecka, Maria Węgrzynek, Agata Będzichowska, Agnieszka Lipińska-Opałka, Bolesław Kalicki</i>                                                                                     |     |
| ROLA DIAGNOSTYKI KOMPONENTOWEJ W ALERGII NA BIAŁKO MLEKA KROWIEGO U DZIECI .....                                                                                                                | 198 |
| THE ROLE OF COMPONENT DIAGNOSTICS IN THE ALLERGY TO COW MILK PROTEIN IN CHILDREN .....                                                                                                          | 199 |
| <i>Anna Sierosławska, Anna Borówka, Anna Rymuska</i>                                                                                                                                            |     |
| OCENA BEZPIECZEŃSTWA NANONOŚNIKÓW KRZEMIONKOWYCH Z WYKORZYSTANIEM 2D I 3D MODELI KOMÓRKOWYCH ...                                                                                                | 200 |
| SAFETY ASSESSMENT OF SILICA CARRIERS WITH THE USE OF 2D AND 3D CELL MODELS .....                                                                                                                | 201 |
| <i>Anna Borówka, Andrea Baier</i>                                                                                                                                                               |     |
| CZNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ADSORPCJĘ BIAŁEK NA MODYFIKOWANYCH MATERIAŁACH KRZEMIONKOWYCH .....                                                                                                       | 202 |
| FACTORS AFFECTING ADSORPTION OF PROTEINS ON MODIFIED SILICA MATERIALS .....                                                                                                                     | 203 |
| <i>Małgorzata Poniewoziak, Tomasz Lenard</i>                                                                                                                                                    |     |
| WPŁYW CYANOBAKTERII NA STAN EKOLOGICZNY ŚRODOWISKA I ZDROWIE CZŁOWIEKA .....                                                                                                                    | 204 |
| IMPACT OF CYANOBACTERIA ON THE ECOLOGICAL STATUS OF FRESHWATERS AND HUMAN HEALTH .....                                                                                                          | 205 |
| <i>Anna Boguszewska-Czubara, Agata Małek, Sylwia Wnorowska, Renata Żelazowska</i>                                                                                                               |     |
| RYBIE „AWATARY” LUDZKICH NOWOTWORÓW JAKO NOWE PODEJŚCIE SPERSONALIZOWANEJ MEDYCYNIE W ONKOLOGII .....                                                                                           | 206 |
| FISH “AVATARS” OF TUMORS AS A NEW ATTEMPT IN PERSONALIZED MEDICINE IN ONCOLOGY .....                                                                                                            | 207 |
| <i>Przemysław J. Jodłowski, Grzegorz Kurowski, Łukasz Kuterasiński, Maciej Sitarz, Piotr Jeleń, Jolanta Jaśkowska, Andrzej Kołodziej, Anna Pajdak, Zbigniew Majka, Anna Boguszewska-Czubara</i> |     |
| ZASTOSOWANIE SIECI METALO-ORGANICZNYCH JAKO NOŚNIKÓW PRZECIWDZIAŁAJĄCYCH KARDIOTOKSYCZNYM SKUTKOM UBOCZNYM STOSOWANIA CHLOROCHINY – BADANIA <i>IN VIVO</i> I <i>IN VITRO</i> .....              | 208 |
| THE APPLICATION OF METAL-ORGANIC FRAMEWORK MATERIALS AS CARRIERS TO PREVENT CARDIOTOXIC SIDE EFFECTS OF CHLOROCHINE – <i>IN VIVO</i> AND <i>IN VITRO</i> STUDY .....                            | 209 |
| <i>Adam Kiersztyn, Krystyna Kiersztyn</i>                                                                                                                                                       |     |
| ANOMALIE W RAPORTACH COVID-19 .....                                                                                                                                                             | 210 |
| ANOMALIES IN COVID-19 REPORTS .....                                                                                                                                                             | 211 |
| <i>Ilona Sadok, Rafał Łopucki, Kinga Ożga</i>                                                                                                                                                   |     |
| ZMIANY POZIOMU MARKERÓW STRESU WE WŁOSACH U OSÓB Z ŁAGODNYM PRZEBIEGIEM COVID-19 .....                                                                                                          | 212 |
| CHANGES IN LEVEL OF STRESS MARKERS IN HAIR FROM PEOPLE WITH MILD SYMPTOMS OF COVID-19 .....                                                                                                     | 213 |
| <i>Małgorzata Gorzel, Ewelina Ramotowska, Radosław Mencfel</i>                                                                                                                                  |     |
| TERAPIA SZTUKĄ JAKO FORMA PROFILAKTYKI I WALKI ZE STRESEM .....                                                                                                                                 | 214 |
| ART THERAPY AS A FORM OF PREVENTION AND STRESS MANAGEMENT .....                                                                                                                                 | 215 |
| <i>Radosław Mencfel, Małgorzata Gorzel</i>                                                                                                                                                      |     |
| WPŁYW STRESU NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY – WYBRANE ZAGADNIENIA .....                                                                                                                                 | 216 |
| THE IMPACT OF STRESS ON IMMUNITY – SELECTED ISSUES .....                                                                                                                                        | 217 |
| <i>Sara Motyka, Karolina Jaferniki, Eliza Blicharska, Katarzyna Czarnek, Halina Ekiert, Agnieszka Szopa</i>                                                                                     |     |
| BIOAKUMULACJA PIERWIASTKÓW PROZDROWOTNYCH W MODELU KULTUR <i>IN VITRO</i> <i>SALVIA HISPANICA</i> (CHIA) .....                                                                                  | 218 |
| PRO-HEALTH ELEMENTS BIOACCUMULATION IN THE MODEL OF <i>SALVIA HISPANICA</i> (CHIA) <i>IN VITRO</i> CULTURES .....                                                                               | 219 |



|                                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Sandra Romanis, Małgorzata Dostatni, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska</i>                                                                                                                   |     |
| ROLA MIKROBIOTY JELITOWEJ W ZABURZENIACH LĘKOWYCH .....                                                                                                                                               | 220 |
| THE ROLE OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN ANXIETY DISORDERS .....                                                                                                                                      | 221 |
| <i>Sandra Romanis, Małgorzata Dostatni, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska</i>                                                                                                                   |     |
| DIETA DLA MÓZGU – CO LUBIĄ NASZE NEURONY? .....                                                                                                                                                       | 222 |
| DIET FOR THE BRAIN – WHAT FOOD IS GOOD FOR OUR NEURONS? .....                                                                                                                                         | 223 |
| <i>Małgorzata Palusińska, Rafał Skopek, Łukasz Szymański, Artur Zelen</i>                                                                                                                             |     |
| WPLYW ZWIĄZKÓW EPIGENETYCZNYCH NA RÓŻNICOWANIE KOMÓREK W OSTREJ BIAŁACZCE SZPIKOWEJ (AML) .....                                                                                                       | 224 |
| EFFECT OF EPIGENETIC COMPOUNDS ON CELL DIFFERENTIATION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA (AML) .....                                                                                                          | 225 |
| <i>Agnieszka Krzyszczak, Bożena Czech</i>                                                                                                                                                             |     |
| SORPCJA LEKÓW PRZECIWWIRUSOWYCH NA BİOWĘGLACH .....                                                                                                                                                   | 226 |
| THE SORPTION OF ANTIVIRAL DRUGS ON BIOCHAR .....                                                                                                                                                      | 227 |
| <i>Agnieszka Krzyszczak, Bożena Czech</i>                                                                                                                                                             |     |
| TOKSYCZNOŚĆ POZOSTAŁOŚCI LEKÓW PRZECIWWIRUSOWYCH W PRÓBKACH ŚCIEKÓW OCZYSZCZONYCH<br>RÓŻNYMI METODAMI .....                                                                                           | 228 |
| THE TOXICITY OF ANTIVIRAL DRUGS RESIDUES IN WASTEWATER SAMPLES TREATED BY DIFFERENT METHODS .....                                                                                                     | 230 |
| <i>Aleksandra Górska, Paulina Wdowiak, Agnieszka Markiewicz-Gospodarek, Jerzy Bednarski, Zuzanna Chilimoniuk</i>                                                                                      |     |
| WPLYW WYBRANYCH SUBSTANCJI PODAWANYCH DROGĄ PARENTERALNĄ NA SZCZELNOŚĆ I PARAMETRY<br>MORFOLOGICZNE CHIRURGICZNEGO ZESPOLENIA JELITA GRUBEGO U SZCZURÓW .....                                         | 232 |
| INFLUENCE OF SELECTED PARENTERAL DRUGS ON TIGHTNESS AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF<br>ENTEROANASTOMOSIS IN RATS .....                                                                                | 234 |
| <i>Julia Gładysz, Bartosz Słomiński, Agata Maciejewska, Maria Skrzypkowska, Małgorzata Myśliwiec, Piotr Trzonkowski</i>                                                                               |     |
| ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY POLIMORFIZMEM GENU KLF-14 A POWIKŁANIAM I CHOROBYMI WSPÓLISTNIEJĄCYMI<br>U CHORYCH NA CUKRZYCĘ TYPU 1 .....                                                                        | 236 |
| ASSOCIATIONS OF KLF14 POLYMORPHISM WITH COMPLICATIONS AND COMORBIDITIES IN PATIENTS WITH TYPE 1<br>DIABETES .....                                                                                     | 237 |
| <i>Małgorzata Dostatni, Dominika Płotka, Sandra Romanis, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska</i>                                                                                                  |     |
| ROLA WYBRANYCH NEUROPRZĘKAŹNIKÓW W ETIOLOGII CHOROBY NEUROPSYCHIATRYCZNYCH ORAZ<br>NEURODEGENERACYJNYCH .....                                                                                         | 238 |
| THE ROLE OF SELECTED NEUROTRANSMITTERS IN THE ETIOLOGY OF NEUROPSYCHIATRIC AND<br>NEURODEGENERATIVE DISEASES .....                                                                                    | 239 |
| <i>Małgorzata Dostatni, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska, Sandra Romanis, Feliks Olszański, Martyna Bernard,<br/>Dorota Myślińska, Irena Majkutewicz</i>                                       |     |
| WPLYW TERAPII CITALOPRAMEM ORAZ INDYWIDUALNEJ CHARAKTERYSTYKI BEHAVIORALNEJ NA WYBRANE WSKAŹNIKI<br>HEMATOLOGICZNE WE KRWI OBWODOWEJ SZCZURÓW W WARUNKACH HIPERAKTYWACJI CIAŁA<br>MIGDAŁOWATEGO ..... | 240 |
| INFLUENCE OF CITALOPRAM THERAPY AND INDIVIDUAL BEHAVIORAL CHARACTERISTICS ON SELECTED PERIPHERAL<br>BLOOD HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS WITH AMYGDALA HYPERACTIVATION .....                        | 241 |
| <i>Wojciech Flieger, Tomasz Śniegocki, Alicja Forma, Jacek Baj, Ryszard Maciejewski, Elżbieta Radzikowska, Jolanta Flieger</i>                                                                        |     |
| WALIDACJA METODY OZNACZANIA WYBRANYCH BISFENOLI ZA POMOCĄ UHPLC-MS/MS .....                                                                                                                           | 242 |
| VALIDATION OF THE METHOD OF DETERMINING SELECTED BISPHENOLS USING UHPLC-MS/MS .....                                                                                                                   | 243 |
| <i>Wojciech Flieger, Alicja Forma, Jacek Baj, Ryszard Maciejewski, Elżbieta Radzikowska, Jolanta Flieger</i>                                                                                          |     |
| WYKORZYSTANIE NANOCZĄSTEK SREBRA (AGNPS) W BADANIU AKTYWNOŚCI ANTYOKSYDACYJNEJ EKSTRAKTÓW<br>ROŚLINNYCH .....                                                                                         | 244 |
| THE USE OF SILVER NANOPARTICLES (AGNPS) IN TESTING THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS .....                                                                                                   | 245 |
| <i>Dominika Płotka, Małgorzata Dostatni, Dorota Myślińska, Wojciech Glac</i>                                                                                                                          |     |
| WPLYW CHOROBY ALZHEIMERA I OTĘPIENIA CZOŁOWO-SKRONIOWEGO NA ZACHOWANIA ANTYSPOŁECZNE .....                                                                                                            | 246 |
| THE INFLUENCE OF ALZHEIMER'S DISEASE AND FRONTOTEMPORAL DEMENTIA ON ANTISOCIAL BEHAVIOR .....                                                                                                         | 247 |

*Kinga Ożga, Ilona Sadok, Katarzyna Gęca, Karol Rawicz-Pruszyński, Radosław Mlak, Wojciech Polkowski, Magdalena Staniszewska*

|                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ZWIĄZANE Z BIAŁKAMI ORAZ WOLNE METABOLITY TRP JAKO NOWE MARKERY RAKA ŻOŁĄDKA .....        | 248 |
| PROTEIN-BOUND AND PROTEIN-FREE TRP METABOLITES AS THE NEW MARKERS OF GASTRIC CANCER ..... | 249 |

*Agata Ładniak, Małgorzata Jurak, Klaudia Szafran, Kacper Przykaza, Agnieszka Ewa Wiącek*

|                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WPLYW DYSPEKSI CHITOZAN/KWAS HIALURONOWY/TIO <sub>2</sub> NA STRUKTURĘ BŁON DOPC .....                     | 250 |
| INFLUENCE OF CHITOSAN/HYALURONIC ACID/TIO <sub>2</sub> DISPERSION ON THE STRUCTURE OF DOPC MEMBRANES ..... | 251 |

*Agnieszka Słodkowska, Robert Mrocza, Paulina Marzec, Agaton Szapowicz, Konrad Kubiński, Maciej Masłyk*

|                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CHARAKTERYSTYKA POWIERZCHNIOWA WARSTW HYDROKSYAPATYTU OSADZONYCH NA NITINOLU JAKO POTENCJALNE<br>PODŁOŻE DLA POLIMEROWYCH NOŚNIKÓW LEKÓW ..... | 252 |
| CHARACTERISTICS OF HYDROXYAPATITE'S SURFACE LAYERS DEPOSITED ON NITINOL AS POTENTIAL BASE FOR POLYMERIC<br>DRUG CARRIERS .....                 | 253 |

*Agata Maciejewska, Piotr Czernia, Magdalena Piotrowska, Beata Wajda, Bartosz Słomiński, Jan Romantowski, Adam Sudół, Małgorzata Dąbrowska, Lucyna Górka, Tomasz Smiatcz, Marek Niedożytko, Ewa Jassem, Maria Skrzypkowska, Piotr Trzonkowski*

|                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| NIEPRAWIDŁOWA SKUTECZNOŚĆ SZCZEPIONKI PFIZER BNT162B2 MRNA COVID-19 U PACJENTÓW Z IDIOPATYCZNYM<br>WŁÓKNIENIEM PŁUC (IPF) ..... | 254 |
| IMPAIRED EFFICACY OF THE PFIZER BNT162B2 MRNA COVID-19 VACCINE IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC PULMONARY<br>FIBROSIS (IPF) .....    | 255 |

*Paulina Rybkowska, Anna Figiel-Dąbrowska, Dorota Dymkowska, Krzysztof Zabłocki, Anna Sarnowska*

|                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WPLYW ZMIENNYCH WARUNKÓW TIENOWYCH NA METABOLIZM LUDZKICH MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK<br>MACIERZYSTYCH POCHODZĄCYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ .....                   | 256 |
| EFFECTS OF DIFFERENT AEROBIC CONDITIONS ON CELLULAR METABOLISM IN LONG-TERM CULTURES OF HUMAN<br>ADIPOSE TISSUE-DERIVED MESENCHYMAL STEM/STROMAL CELLS ..... | 257 |

*Magdalena Chodkowska, Monika Sypecka, Anna Sarnowska*

|                                                                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| OCENA JAKOŚCIOWA MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH/STROMALNYCH POZYSKIWANYCH Z TKANKI<br>TŁUSZCZOWEJ I PRZYGOTOWANYCH DO ZASTOSOWANIA KLINICZNEGO .....           | 258 |
| THE QUALITY ASSESSMENT OF MESENCHYMAL STEM/STROMAL CELLS DERIVED FROM ADIPOSE TISSUE AND PREPARED<br>FOR CLINICAL APPLICATIONS ACCORDING TO VALIDATED PROTOCOLS ..... | 259 |

*Klaudia Radoszkiewicz, Magdalena Szymańska, Paulina Rybkowska, Dorota Sulejczak, Anna Sarnowska*

|                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WPLYW WARUNKÓW BIOMIMETYCZNYCH NA POTENCJAŁ NEUROGENNY I WŁAŚCIWOŚCI NEUROPROTEKCYJNE<br>ODRÓŻNICOWANYCH KOMÓREK TŁUSZCZOWYCH (DFAT) ..... | 260 |
| THE IMPACT OF BIOMIMETIC CONDITIONS ON NEUROGENIC AND NEUROPROTECTIVE PROPERTIES OF<br>DEDIFFERENTIATED FAT CELLS (DFAT CELLS) .....       | 261 |

*Aleksandra Majewska, Klaudia Brodaczewska, Claudine Kieda*

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| ROLA MIR-224-5P W PROGRESJI RAKA NERKI .....              | 262 |
| THE ROLE OF MIR-224-5P IN KIDNEY CANCER PROGRESSION ..... | 263 |

*Julia Kobiela, Dorota Żurawa-Janicka*

|                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ZNACZENIE LUDZKICH BIAŁEK HTRA W ONKOGENEZIE I POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE .....       | 264 |
| THE ROLE OF HUMAN HTRA PROTEINS IN ONCOGENESIS AND THEIR POTENTIAL THERAPEUTIC PROPERTIES ..... | 265 |

*Milena Pogonowska, Agnieszka Rustecka, Agata Będzichowska, Karolina Aleksandrowicz, Bolesław Kalicki*

|                                                        |     |
|--------------------------------------------------------|-----|
| PROGRANULINA JAKO BIOMARKER ASTMY U DZIECI .....       | 266 |
| PROGRANULIN AS A BIOMARKER OF ASTHMA IN CHILDREN ..... | 267 |

*Maciej P. Golan, Kinga Wilkus, Klaudia Brodaczewska*

|                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| WPLYW O-GLUKNAZYLAJI NA WRAŻLIWOŚĆ KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NA LEKI ANTYANGIOGENNE .....                       | 268 |
| THE INFLUENCE OF O-GLUCNACYLATION ON THE SENSITIVITY OF ENDOTHELIAL CELLS TO ANTI-ANGIOGENIC DRUGS ..... | 269 |

|                                                                                                                                                                                                                   |         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| <i>Karolina Aleksandrowicz, Monika Leśniak, Klaudia Porębska, Kszysztof Klos, Katarzyna Plewka, Renata Rożyńska, Ewa Pietruszka, Karina Jahnz-Różyk, Robert Zdanowski, Andrzej Chciałowski</i>                    |         |
| HUMORALNE MARKERY COVID-19 – BADANIA WSTĘPNE .....                                                                                                                                                                | 270     |
| HUMORAL MARKERS OF COVID-19 – INITIAL STUDIES .....                                                                                                                                                               | 271     |
| <br><i>Bartosz Knap, Marta Marszałek-Grabska, Waldemar Turski, Kinga Gawel</i>                                                                                                                                    |         |
| WPLYW KWASU CINNABARYNOWEGO NA ZACHOWANIA PODOBNE DO DEPRESJI I LĘKU U MYSZY DOŚWIADCZALNYCH .....                                                                                                                | 272     |
| EFFECT OF CINNABARINIC ACID ON DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIOR AND ANXIETY-LIKE BEHAVIOR IN EXPERIMENTAL MICE .....                                                                                                      | 273     |
| <br><i>Maciej Masłyk, Tomasz Lenard, Marta Olech, Aleksandra Martyna, Elżbieta Kochanowicz, Małgorzata Poniewozik, Anna Boguszewska-Czubara, Kamila Górka, Mateusz Kwaśnik, Ajoku U. Sampson, Konrad Kubiński</i> |         |
| CERATOPHYLLUM DEMERSUM (ROGATEK SZTYWNY) JAKO BOGATE ŹRÓDŁO SUBSTANCJI PRZECIWNOWOTWOROWYCH .....                                                                                                                 | 274     |
| CERATOPHYLLUM DEMERSUM (HORNWORT) AS A RICH SOURCE OF ANTI-CANCER SUBSTANCES .....                                                                                                                                | 275     |
| <br>INDEKS AUTORÓW .....                                                                                                                                                                                          | <br>277 |

## KOMITET NAUKOWY

### **prof. Ryszard Maciejewski – Przewodniczący Komitetu Naukowego**

dr hab. Barbara Joanna Bałan, prof. WUM

dr hab. Eliza Blicharska, UM Lublin

dr Anna Boguszczyńska-Czubara, UM Lublin

dr Katarzyna Czarnek, KUL

prof. Jarosław Dastyk, IBM PAN

dr hab. Oleh Demchuk, prof. KUL

dr hab. inż. Sebastian Demkowicz, prof. PG

prof. Wiesław Deptuła, UMK Toruń

dr hab. Marta Fiołka, prof. UMCS

dr hab. Hieronim Golczyk, prof. KUL

prof. Bolesław Kalicki, WIM

dr hab. Konrad Kubiński, prof. KUL

dr hab. Sławomir Lewicki, prof. IGBZ PAN

prof. Jacek Malejczyk, WUM

dr hab. Maciej Małyk, prof. KUL

dr hab. Marta Olech, UM Lublin

dr hab. Agnieszka Pękała-Safińska, prof. UPP

ppłk dr hab. Marek Saracyn WIM

dr hab. Anna Sierosławska, prof. KUL

dr Dorota Siwicka-Gieroba, prof. UM

prof. Andrzej K. Siwicki, UWM

prof. Ewa Skopińska-Różewska, WIHE

dr hab. Tomasz Skrzypek, prof. KUL

dr hab. Bartosz Słomiński, GUMed

prof. Elżbieta Starosławska, COZL

dr hab. Agnieszka Szopa, UJ

prof. Marek Tchórzewski, UMCS Lublin

dr hab. Beata Tokarz-Deptuła, prof. US

dr Agata Tomaszewska, WIM

prof. Waldemar Turski, UM Lublin

prof. Barbara Wróblewska, IRZBŻ PAN

## KOMITET ORGANIZACYJNY

**dr Katarzyna Czarnek – Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego**

prof. Andrzej Krzysztof Siwicki – Vice-Przewodniczący

dr Robert Zdanowski – Vice-Przewodniczący

prof. Ryszard Maciejewski, UM, KUL

dr hab. Maciej Masłyk, prof. KUL

dr hab. Konrad Kubiński, prof. KUL

dr Ilona Sadok, KUL

dr Rafał Łopucki, KUL

dr Monika Janeczko, KUL

dr Radosław Mencfel, KUL

dr Edyta Kaczorek-Łukowska, UWM

dr Patrycja Schulz, IRŚ Olsztyn

dr Agnieszka Rustecka, WIM

dr Dorota Siwicka-Gieroba, prof. UM

dr Łukasz Szymański, IGBZ PAN

mgr Agnieszka Słodkowska, KUL

mgr Agnieszka Krzyszcak, KUL

mgr Ewa Szczucińska, UWM





## SŁOWO WSTĘPU – KOMITET ORGANIZACYJNY I NAUKOWY

*Szanowni Państwo,*

Biologia medyczna jest przykładem integracji nauk dla uzyskania najlepszych efektów dotyczących ochrony zdrowia człowieka. Łączy wiele dziedzin obejmujących nauki biologiczne, medyczne, weterynaryjne czy farmaceutyczne. Dzięki biologii medycznej obserwuje się w ostatnich latach dynamiczny rozwój nowych technologii i metod rozwiązywania istotnych problemów dotyczących etiologii, profilaktyki, diagnostyki czy ukierunkowanej terapii.

Niniejsze opracowanie w postaci abstraktów jest zbiorem najnowszych badań z zakresu biologii medycznej zaprezentowanych w trakcie V Zjazdu Naukowego Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej „Biologia-Medycyna-Terapia”, który odbył się w Lublinie w dniach 15-17 września 2022 roku. Pragnęliśmy położyć szczególny nacisk na przedstawienie aktualnych problemów dotyczących zagrożeń zdrowotnych, najnowszych metod monitorowania stanu zdrowotnego oraz szeroko pojętej ochrony zdrowia człowieka.

Pragniemy bardzo serdecznie podziękować Autorom za przygotowanie streszczeń do prezentowanego opracowania. Wierzymy, że to opracowanie będzie cennym źródłem informacji oraz przyczyni się do zrozumienia misji jaką pełni biologia medyczna we współczesnym świecie oraz do dalszego intensywnego rozwoju badań w tym zakresie.

W imieniu Komitetu Organizacyjnego i Naukowego



dr Katarzyna Czarnek



## SŁOWO WSTĘPU – REKTOR KATOLICKIEGO UNIWERSYTETU LUBELSKIEGO JANA PAWŁA II

Lublin, dnia 2 września 2022 r.

V. Zjazd Naukowy  
Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej

Wielce Szanowni Państwo!

Jako Rektor Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II mam ogromną przyjemność otworzyć V. Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej.

Cieszę się, że zainicjowane dzisiaj obrady w naszym Uniwersytecie, wpisują się w cykliczne spotkania naukowców skupionych w kilku dyscyplinach: nauk biologicznych, medycznych i nauk o zdrowiu. Moja radość wynika również z faktu, że rozwój wymienionych dyscyplin naukowych stanowi dla środowiska akademickiego KUL - zarówno dla Władz, jak i pracowników naukowo-dydaktycznych - podstawę do dumy z możliwości realizowania badań w wymienionych obszarach, ale także rodzaj ważnego wyzwania naukowo-badawczego.

Nawiązując do motta V. Zjazdu Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej - *Biologia-Medycyna-Terapia* – pragnę podkreślić znaczenie efektów prowadzonych obrad ze względu na istnienie ich ważnego odbiorcy: człowieka chorego. W encyklice *Evangelium vitae* Jan Paweł II podkreśla bardzo wyraźnie, że współczesny świat potrzebuje refleksji antropologicznej, która jest wynikiem współpracy naukowców reprezentujących nauki biologiczne i humanistyczne m.in.: teologię. Ważne jest zatem to, aby w ramach prowadzonych obrad podkreślać szczególne znaczenie człowieka chorego i przejawiać wrażliwość na jego potrzeby.

Zainaugurowany dzisiaj cykl prezentacji, służący promowaniu rozwoju biologii medycznej, stanowi istotną formę wymiany różnorodnych doświadczeń, m.in. w wymiarze prowadzonych badań naukowych, integrowania międzynarodowych zespołów badawczych, czy też wymiany poglądów między naukowcami i praktykami. Zatem życzę Państwu, aby uczestnictwo w obradach zaowocowało dalszym rozwojem reprezentowanych dyscyplin naukowych, prowadzonej praktyki klinicznej i poprawą zdrowia pacjentów.

Rektor

  
ks. prof. dr hab. Mirosław Kalinowski



## SŁOWO WSTĘPU – PREZES POLSKIEGO TOWARZYSTWA BIOLOGII MEDYCZNEJ

*Szanowni Państwo,*

Interdyscyplinarność jest obecnie kołem napędowym postępu w naukach medycznych. Spotkania osób praktykujących ze środowiskiem naukowym pozwalają nie tylko na poznanie skomplikowanych mechanizmów powstawania chorób ale są również inspiracją dla tworzenia nowych rozwiązań w zapobieganiu ich pojawiania się oraz w ich dalszym leczeniu. Jest to obopólna korzyść.

Miejszem takiej integracji jest bez wątpienia cykl konferencji naukowych organizowanych przez Polskie Towarzystwo Biologii Medycznej. Tu możliwość prezentacji wyników badań naukowych mają wybitni naukowcy z Polski i zagranicy reprezentujący takie dziedziny jak biologia komórki, genetyka, biologia molekularna, biotechnologia, diagnostyka laboratoryjna, farmacja, immunologia, wirusologia, pediatria, onkologia, wakcynologia oraz wiele innych.

Ogromne zainteresowanie naszymi wcześniejszymi Zjazdami przekonało nas do organizacji V Zjazdu Naukowego Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej „Biologia-Medycyna-Terapia”. Miejszem tegorocznego Zjazdu jest Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II w Lublinie – ośrodek naukowym z wieloletnią tradycją.

Jestem przekonany, że w trakcie Zjazdu zawiążą się znajomości, które doprowadzą do powstania nowych koncepcji i inicjatyw zwiększających ochronę zdrowia jednostki i ogółu społeczeństwa.

*Prezes Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej*

*dr hab. n. med. Sławomir Lewicki*



## RAMOWY PROGRAM OBRAD

| 15.09.2022 |                                                                                         |             |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|            | <b>Otwarcie Zjazdu</b>                                                                  | 9:30-9:50   |
|            | Wykład Inauguracyjny: <b>prof. Grzegorz Telega</b>                                      | 9:50-10:20  |
|            | Wykład Plenarny: <b>dr hab. Agnieszka Wolińska</b>                                      | 10:20-10:50 |
| I          | Terapie Biologiczne i Eksperymentalne                                                   | 10:50-13:30 |
| II         | Pełnoprofilowa onkologia-diagnostyka i leczenie                                         | 15:00-16:45 |
| III        | Biologia i Medycyna Rozwoju                                                             | 15:00-16:20 |
|            | <b>Spotkanie z lubelskim folklorem – Muzeum Wsi Lubelskiej</b>                          | 18:00-24:00 |
| 16.09.2022 |                                                                                         |             |
|            | Wykład Plenarny: <b>prof. Rafał Zieliński</b>                                           | 9:00-9:20   |
| IV         | Biologia Komórki                                                                        | 9:20-11:00  |
| V          | Choroby zakaźne i odzwierzęce, w tym COVID-19. Nowe zagrożenia wirusologiczne XXI wieku | 9:20-11:00  |
| VI         | Sesja Plakatowa (VARIA)                                                                 | 11:15-12:15 |
| VII        | Immunologia i szczepienia                                                               | 12:15-16:00 |
| VIII       | Medycyna Regeneracyjna i Biotechnologia                                                 | 12:15-16:25 |
| IX         | Panel dyskusyjny: Badania kliniczne – siła napędowa innowacji w medycynie               | 16:30-17:30 |
| X          | VARIA                                                                                   | 16:30-17:30 |
|            | <b>Koncert i kolacja integracyjna</b>                                                   | 17:30-21:30 |
| 17.09.2022 |                                                                                         |             |
| XI         | Sesja Młodych Naukowców                                                                 | 9:00-11:15  |
| XII        | Sesja Plakatowa Młodych Naukowców                                                       | 11:15-12:15 |
|            | <b>Zakończenie Zjazdu</b>                                                               | 12:30-13:00 |



## SZCZEGÓŁOWY PLAN OBRAD

Wykłady Inauguracyjne (WI)/Plenarne (WP): 15-25 min. + 5 min. dyskusja

Wykłady (W): 15-20 min. + 5 min. dyskusja

Referaty (R): 10 min. + 5 min. dyskusja

| 15.09.2022                                                                                                                                                                                                                               |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 9:50–10:20 – <b>prof. Grzegorz Telega:</b> „Przeszczep wątroby jako forma terapii genowej. Genetyczne i metaboliczne choroby wątroby”                                                                                                    | WI01 |
| 10:20–10:50 – <b>dr hab. Agnieszka Wolińska, prof. KUL:</b> „Nowoczesne podejście do zastosowania mikroorganizmów w agrobiotechnologii”                                                                                                  | WP01 |
| <b>SESJA I: TERAPIE BIOLOGICZNE I EKSPERYMENTALNE</b><br>Prowadzący: <b>dr hab. Bartosz Słomiński, prof. Małgorzata Kloc</b>                                                                                                             |      |
| 10:50–11:15 – <b>prof. Grzegorz Węgrzyn:</b> „Stymulacja autofagii jako potencjalna metoda leczenia choroby Huntingtona”                                                                                                                 | W01  |
| 11:20–11:45 – <b>prof. Piotr Trzonkowski:</b> „Limfocyty T regulatorowe w klinice człowieka”                                                                                                                                             | W02  |
| 12:00–12:25 – <b>prof. Małgorzata Kloc:</b> „Nowe terapie zapobiegające odrzucaniu chronicznemu (długoterminowemu) przeszczepów”                                                                                                         | W03  |
| 12:25–12:40 – Anna Wróblewska, Dawid Kozień, Agnieszka Szczygieł, Katarzyna Węgierek-Ciura, Jagoda Mierzejewska, Bożena Szermer-Olearnik, Elżbieta Pajtasz-Piasecka: „Zastosowanie związków bogatych w bor w terapii borowo-neutronowej” | R01  |
| 12:40–12:55 – Ewa Błaszczak, Natalia Lazarewicz, Gaëlle Le Dez, Robert Wysocki, Gwenaël Rabut: „Identyfikacja interaktomu enzymów ubikwitynacji w warunkach fizjologicznych i patologicznych”                                            | R02  |
| 12:55–13:10 – Magdalena Michalak-Tomczyk, Anna Rymuska, Anna Sierosławska: „Ocena potencjału przeciwnowotworowego w badaniach in vitro fermentowanego jarmużu ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>sabellica</i> )”                        | R03  |
| 13:10–13:25 – Ewelina A. Wójcik, Jarosław Dastych: „Bezpieczeństwo stosowania bakteriofagów w terapii chorób infekcyjnych na przykładzie preparatu BAFASAL”                                                                              | R04  |
| <b>SESJA II: PEŁNOPROFILOWA ONKOLOGIA-DIAGNOSTYKA I LECZENIE</b><br>Prowadzący: <b>prof. Elżbieta Starosławska, prof. Ryszard Maciejewski</b>                                                                                            |      |
| 15:00–15:20 – <b>prof. Elżbieta Starosławska:</b> „Pełnoprofilowa onkologia-diagnostyka i leczenie”                                                                                                                                      | W04  |
| 15:20–15:40 – <b>prof. Wiesław Jędrzejczak:</b> „Przeszczepianie szpiku w XXI wieku”                                                                                                                                                     | W05  |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 15:40–16:00 – <b>dr Tomasz Trombik:</b> „Białko ABCA1 czerniak – jak cholesterol wpływa na rozwój nowotworu”                                                                                                                                                                     | W06 |
| 16:00–16:15 – Anna Brzozowska: „Współczesna radioterapia onkologiczna”                                                                                                                                                                                                           | R05 |
| 16:15–16:30 – Paweł Andrzejewicz, Władysław Rogala, Tomasz Wnuk, Piotr Maksymiuk, Dawid Pyzik, Krzysztof Grabowski, Dawid Kijewski, Mateusz Matyjaszczyk, Tomasz Mazurkiewicz: „Wyniki leczenia operacyjnego jednoogniskowych i wielomiejscowych przerzutów raków do kręgosłupa” | R06 |
| 16:30–16:45 – Władysław Rogala, Paweł Andrzejewicz, Tomasz Wnuk, Piotr Maksymiuk, Dawid Pyzik, Krzysztof Grabowski, Dawid Kijewski, Mateusz Matyjaszczyk, Tomasz Mazurkiewicz: „Zespołenia złamań patologicznych kości długich”                                                  | R07 |

### SESJA III: BIOLOGIA I MEDYCYNA ROZWOJU

Prowadzący: **prof. Barbara Wróblewska, prof. Bolesław Kalicki, płk dr hab. Marek Saracyn, prof. WIM**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 15:00–15:25 – <b>płk dr hab. Marek Saracyn, prof. WIM:</b> „Hormon tyreotropowy – nowe mechanizmy działania”                                                                                                                                                                                                                   | W07 |
| 15:25–15:50 – <b>dr Kamil Janeczek:</b> „Komórkowe i molekularne mechanizmy działania lizatów bakteryjnych w chorobach alergicznych”                                                                                                                                                                                           | W08 |
| 15:50–16:05 – Ryszard Sitarz, Alicja Forma, Kaja Karakuła, Dariusz Juchnowicz, Jacek Baj, Robert Karpiński, Joanna Rog, Paweł Krukow, Kamil Jonak, Hanna Karakuła-Juchnowicz: „SKINREMS- skórný test niacynowy jako potencjalne narzędzie do biotypowania pacjentów z zaburzeniami psychicznymi i personalizacji ich leczenia” | R08 |
| 16:05–16:20 – Ryszard Sitarz, Alicja Forma, Kaja Karakuła, Dariusz Juchnowicz, Jacek Baj, Robert Karpiński, Joanna Rog, Paweł Krukow, Kamil Jonak, Hanna Karakuła-Juchnowicz: „Test niacynowy jako metoda stratyfikacji pacjentów i personalizacja ich leczenia – przegląd piśmiennictwa”                                      | R09 |

16.09.2022

|                                                                                                                                                                                                                                                                                               |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 9:00–9:20 – <b>prof. Rafał Zieliński:</b> „Nowe podejście do terapii ostrej białaczki szpikowej”                                                                                                                                                                                              | WP02 |
| <b>SESJA IV: BIOLOGIA KOMÓRKI</b>                                                                                                                                                                                                                                                             |      |
| Prowadzący: <b>prof. Jacek Malejczyk, prof. Jacek Kubiak</b>                                                                                                                                                                                                                                  |      |
| 9:20–9:45 – <b>prof. Jacek Malejczyk:</b> „Geny EVER1 i EVER2 w zdrowiu i chorobie”                                                                                                                                                                                                           | W09  |
| 9:45–10:10 – <b>prof. Jacek Kubiak:</b> „Translationally Controlled Tumour Protein (TCTP) jako cel terapii przeciwnowotworowej”                                                                                                                                                               | W10  |
| 10:10–10:25 – Katarzyna Czarnek, Andrzej Krzysztof Siwicki: „Oddziaływanie chromu(III) i kobaltu(II) na wybrane linie komórkowe – aspekty cytotoksyczne, genotoksyczne i mutagenne”                                                                                                           | R10  |
| 10:25–10:40 – Klaudia Ciesielska-Figlon, Agnieszka Daca, Adam Kokotkiewicz, Maria Łuczkiwicz, Bożena Zabiegała, Jacek M. Witkowski, Katarzyna A. Lisowska: „Wpływ oleju eterycznego z nasion czarnuszki siewnej ( <i>Nigella sativa</i> ) na proliferację, aktywację i apoptozę limfocytów T” | R11  |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 10:40–10:55 – Małgorzata Zasowska, Paulina Laskowska, Anna M. Nowakowska, Aleksandra Borek-Dorosz, Maciej Szydlowski, Małgorzata Barańska, Katarzyna Majzner, Przemysław Juszczyński, Piotr Mrówka: „Stworzenie modelu komórkowego ostrej białaczki szpikowej z mutacją FLT3 do badania wpływu mutacji w genie FLT3 na zmiany widma ramanowskiego komórek” | R12 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

**SESJA V: CHOROBY ZAKAŹNE I ODZWIERZĘCE, W TYM COVID-19. NOWE ZAGROŻENIA WIRUSOLOGICZNE XXI WIEKU**  
Prowadzący: **prof. Andrzej Krzysztof Siwicki, prof. Waldemar Turski**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 9:20–9:40 – <b>prof. Andrzej Krzysztof Siwicki</b> : „Koronawirusy – stałe zagrożenie”                                                                                                                                                                                                                                                               | W11 |
| 9:40–9:55 – <b>prof. Andrzej Krzysztof Siwicki</b> : „Choroby odzwierzęce – nowe wirusy i ich nieprzewidywalna patogenność dla człowieka”                                                                                                                                                                                                            | R13 |
| 9:55–10:10 – Sylwia Krasowska, Magdalena Charukiewicz, Marta Odzieniak: „Pandemia COVID-19, późne konsekwencje psychologiczne. Badania porównawcze”                                                                                                                                                                                                  | R14 |
| 10:10–10:25 – Monika Leśniak, Karolina Aleksandrowicz, Klaudia Wielgosz, Aleksandra Majewska, Jacek Z. Kubiak, Katarzyna Plewka, Kszysztof Klos, Robert Zdanowski, Andrzej Chciałowski: „Wybrane cytokiny/chemokiny jako markery prognostyczne w zakażeniu COVID-19”                                                                                 | R15 |
| 10:25–10:45 – Robert Zdanowski, Karolina Aleksandrowicz, Monika Leśniak, Klaudia Porębska, Kszysztof Klos, Katarzyna Plewka, Aleksandra Majewska, Klaudia Brodaczewska, Jacek Z. Kubiak, Andrzej Chciałowski: „Rola limfocytów regulatorowych w zakażeniu wirusem SARS CoV-2”                                                                        | R16 |
| 10:45–11:00 – Edyta Kaczorek-Łukowska, Kerstin Wernike, Martin Beer, Małgorzata Wróbel, Joanna Małaczewska, Elżbieta Mikulska-Skupień, Karolina Malewska, Izabela Mielczarska, Alicja Blank, Mirosława Blank, Anna Jałonica, Andrzej Krzysztof Siwicki: „Seroprewalencja zakażeń SARS-COV-2 wśród psów, kotów i fretek żyjących w Polsce, 2021/2022” | R17 |

#### **SESJA VI: SESJA PLAKATOWA (VARIA)**

Prowadzący: **dr hab. Sławomir Lewicki, prof. IGBZ PAN, dr Robert Zdanowski, dr Łukasz Szymański**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 11:15–12:15 – prezentacja plakatów naukowych                                                                                                                                                                                                                                                                            | P01-P29 |
| Joanna Kozak, Cezary Grochowski, Ryszard Maciejewski: „Oddziaływania microRNA rodziny MIR-200 z białkami SESN i ich potencjalne znaczenie w terapii przeciwnowotworowej”                                                                                                                                                | P01     |
| Monika Janeczko: „5-fluorouracydyna jako inhibitor wzrostu <i>Candida albicans</i> ”                                                                                                                                                                                                                                    | P02     |
| Bartosz Słomiński, Maria Skrzypkowska, Małgorzata Myśliwiec, Piotr Trzonkowski: „Polimorfizm genu receptora dopaminy D4 u pacjentów z cukrzycą typu 1”                                                                                                                                                                  | P03     |
| Bartosz Słomiński, Paweł Kozak, Agata Maciejewska, Aneta Szofer-Sendrowska, Maria Skrzypkowska, Aleksandra Biedrzycka, Andrzej Łoś, Maciej Michał Kowalik, Romuald Lango, Jan Rogowski: „Warianty genów CCR5 i CAV1 wpływają na prawdopodobieństwo rozwoju delirium po operacji kardiochirurgicznej z użyciem krążenia” | P04     |
| Katarzyna Potrykus: „5'-trifosforan-3'-difosforan adenozyyny jako potencjalny alarmon bakteryjny”                                                                                                                                                                                                                       | P05     |
| Monika Pitucha, Anna Biernasiuk, Wojciech Ziemichód: „Potencjał przeciwbakteryjny nowych 1-hexylosulfonylo-4-podstawionych pochodnych tiosemicarbazydu”                                                                                                                                                                 | P06     |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Monika Pitucha, Agnieszka Czyłkowska, Agnieszka Korga-Plewko, Ewelina Humeniuk, Bartłomiej Rogalewicz, Grzegorz Adamczuk, Paweł Kozyra: „Kompleksy miedzi(II) 1-pirydynoacetylo 4-podstawionych pochodnych tiosemikarbazynu o działaniu przeciwnowotworowym”                                                                       | P07 |
| Agnieszka Szalewska-Pałasz, Klaudyna Krause, Monika Karczewska, Krystyna Bogucka, Dariusz Nowicki: „Antybakteryjne działanie izotiocyanianów przeciwko <i>Shigella dysenteriae</i> ”                                                                                                                                               | P08 |
| Natalia Łazarewicz, Ewa Błaszczak, Gaëlle Le Dez, Robert Wysocki, Gwenaël Rabut: „Profilowanie interakcji ligaz ubikwityny w oparciu o czułą technikę komplementacji fragmentów białka”                                                                                                                                            | P09 |
| Klaudia Brodaczevska, Damian Matak, Aleksandra Majewska, Aleksandra Filipiak, Cezary Szczylik: „Regulacja ekspresji ICAM-1 przez hodowlę 3D i indukcję CSC w modelu raka nerki in vitro”                                                                                                                                           | P10 |
| Katarzyna Królikowska, Klaudia Porębska, Agnieszka Gościńska, Karolina Aleksandrowicz, Monika Leśniak, Agata Tomaszewska, Jacek Z. Kubiak, Robert Zdanowski, Bolesław Kalicki: „Immunomodulujący wpływ choroby infekcyjnej dziecka na skład mleka kobiecego – badania wstępne”                                                     | P11 |
| Lidia Markiewicz, Tadeusz Zabolewicz, Dagmara Złotkowska, Anna Ogrodowczyk, Kamil Oleński, Ewa Wasilewska, Joanna Fotschki, Stanisław Kamiński, Barbara Wróblewska: „Wpływ polimorfizmu beta- i kappa-kazeiny oraz beta-laktoglobuliny na odpowiedź immunologiczną limfocytów w mysim modelu alergii pokarmowej – badania ex vivo” | P12 |
| Lidia Markiewicz, Anna Ogrodowczyk, Barbara Wróblewska: „Indukcja apoptozy w ludzkich zdrowych i nowotworowych kolonocytach pod wpływem metabolitów mikrobioty jelitowej”                                                                                                                                                          | P13 |
| Ewa Sajnaga, Katarzyna Socąła, Agnieszka Kalwasińska, Piotr Właż, Adrian Wiater: „Prebiotyczny efekt α-(1→3)-oligosacharydów na mikrobiotę jelitową myszy”                                                                                                                                                                         | P14 |
| Monika Janeczko, Aleksandra Martyna, Antonina Kurowska, Maciej Małyk, Konrad Kubiński, Oleg M. Demchuk: „Aktywność nowych pochodnych 4-an wobec <i>Candida albicans</i> ”                                                                                                                                                          | P15 |
| Oleg M. Demchuk, Maciej Małyk, Konrad Kubiński, Kamila Górka, Monika Janeczko, Aleksandra Martyna, Mateusz Kwaśnik, Mariusz Borkowski, Anna Boguszewska-Czubarą, Joanna Kowalczyk, Elżbieta Stolarczyk: „Hydrożele na bazie alaniny zawierające nanocząsteczki złota i srebra jako potencjalne nośniki leków”                      | P16 |
| Rafał Łopucki, Monika Elżbieta Jach, Ilona Sadok, Katarzyna Michalak, Marta Klos, Konrad Kubiński, Ignacy Kitowski, Łukasz Bednarz, Maciej Małyk: „Monitoring występowania antybiotykoopornych szczepów bakterii w populacjach dzikich ptaków”                                                                                     | P17 |
| Ewa Lenarczyk, Monika Elżbieta Jach, Rafał Łopucki, Maciej Małyk, Konrad Kubiński: „Analiza potencjalnych zagrożeń wybranych bakterii patogennych izolowanych z myszy żyjących w pobliżu ludzkich siedzib”                                                                                                                         | P18 |
| Agnieszka Rustecka, Maria Węgrzynek, Agata Będzichowska, Agnieszka Lipińska-Opałka, Bolesław Kalicki: „Rola diagnostyki komponentowej w alergii na białko mleka krowiego u dzieci”                                                                                                                                                 | P19 |
| Anna Sierosławska, Anna Borówka, Anna Rymuska: „Ocena bezpieczeństwa nanonośników krzemionkowych z wykorzystaniem 2D i 3D modeli komórkowych”                                                                                                                                                                                      | P20 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Anna Borówka, Andrea Baier: „Czynniki wpływające na adsorpcję białek na modyfikowanych materiałach krzemionkowych”                                                                                                                                                                                                                                        | P21 |
| Małgorzata Poniewożik, Tomasz Lenard: „Wpływ cyjanobakterii na stan ekologiczny środowiska i zdrowie człowieka”                                                                                                                                                                                                                                           | P22 |
| Anna Boguszewska-Czubarą, Agata Małek, Sylwia Wnorowska, Renata Żelazowska: „Rybie „AWATARY” ludzkich nowotworów jako nowe podejście spersonalizowanej medycyny w onkologii”                                                                                                                                                                              | P23 |
| Przemysław J. Jodłowski, Grzegorz Kurowski, Łukasz Kuterasiński, Maciej Sitarz, Piotr Jeleń, Jolanta Jaśkowska, Andrzej Kołodziej, Anna Pajdak, Zbigniew Majka, Anna Boguszewska-Czubarą: „Zastosowanie sieci metalo-organicznych jako nośników przeciwdziałających kardiotoxycznym skutkom ubocznym stosowania chlorochiny – badania in vivo i in vitro” | P24 |
| Adam Kiersztyn, Krystyna Kiersztyn: „Anomalie w raportach COVID-19”                                                                                                                                                                                                                                                                                       | P25 |
| Ilona Sadok, Rafał Łopucki, Kinga Ożga: „Zmiany poziomu markerów stresu we włosach u osób z łagodnym przebiegiem COVID-19”                                                                                                                                                                                                                                | P26 |
| Małgorzata Gorzel, Ramotowska Ewelina, Mencfel Radosław: „Terapia sztuką jako forma zapobiegania i walki ze stresem”                                                                                                                                                                                                                                      | P27 |
| Radosław Mencfel, Małgorzata Gorzel: „Wpływ stresu na układ odpornościowy – wybrane zagadnienia”                                                                                                                                                                                                                                                          | P28 |
| Sara Motyka, Karolina Jaferniki, Eliza Blicharska, Katarzyna Czarnek, Halina Ekiert, Agnieszka Szopa: „Bioakumulacja pierwiastków prozdrowotnych w modelu kultur in vitro Salvia hispanica (CHIA)”                                                                                                                                                        | P29 |

#### **SESJA VII: IMMUNOLOGIA I SZCZEPIENIA**

Prowadzący: **prof. Bolesław Kalicki, dr hab. Barbara-Joanna Bałań, prof. WUM, dr Agnieszka Rustecka**

|                                                                                                                                                                                                       |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 12:15–12:40 – <b>prof. Teresa Jackowska:</b> „Szczepienia rekomendowane u dorosłych”                                                                                                                  | W12 |
| 12:40–13:05 – <b>dr hab. Barbara-Joanna Bałań, prof. WUM:</b> „Immunomodulacja jako podstawowy element ochrony zdrowia człowieka – wybrane leki o działaniu immunomodulującym stosowane w infekcjach” | W13 |
| 15:00–15:30 – <b>dr Dorota Siwicka-Gieroba, prof. UM:</b> „Burza cytokinowa jako problem intensywnej terapii”                                                                                         | W14 |
| 15:30–15:45 – Alicja Sierakowska, Michał Braczkowski, Dariusz Soszyński, Beata Chomicz: „Występowanie stanów zapalnych u młodych dorosłych”                                                           | R18 |
| 15:45–16:00 – Anna Sierosławska, Anna Rymuska: „Badania nad aktywnością cytotoxyczną związków z grupy fitoaleksyn na komórki nowotworowe wywodzące się z enterocytów”                                 | R19 |

#### **SESJA VIII: MEDYCYNA REGENERACYJNA I BIOTECHNOLOGIA**

Prowadzący: **dr hab. Konrad Kubiński, prof. KUL, dr hab. Maciej Mastłyk, prof. KUL**

|                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 12:15–12:35 – <b>dr hab. Agnieszka Szopa:</b> „Możliwość wykorzystania badań z zakresu biotechnologii roślin w medycynie, farmacji i kosmetologii” | W15 |
| 12:35–12:55 – <b>dr hab. Marta Fiołka, prof. UMCS:</b> „Związki bioaktywne z dzżdżownic do wykorzystania w medycynie”                              | W16 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 12:55–13:10 – Konrad Kubiński, Maciej Mastyk, Monika Janeczko, Waldemar Goldeman, Anna Nasulewicz-Goldeman, Mateusz Psurski, Aleksandra Martyna, Anna Boguszevska-Czubara, Tomasz M. Goszczyński: „Metalokarboary jako innowacyjne cząsteczki przeciwwgrzybicze”                                                                                       | R20 |
| 15:00–15:25 – Maciej Mastyk, Tomasz Lenard, Marta Olech, Aleksandra Martyna, Elżbieta Kochanowicz, Małgorzata Poniewozik, Anna Boguszevska-Czubara, Kamila Górka, Mateusz Kwaśnik, Ajoku U. Sampson, Konrad Kubiński: „Jeziora zapadliskowe jako bogate źródło związków przeciwnowotworowych. Na przykładzie makrofitu <i>Ceratophyllum demersum</i> ” | R21 |
| 15:25–15:40 – Monika Janeczko, Konrad Kubiński, Maciej Mastyk, Elżbieta Kochanowicz, Kamila Górka: „Nowe możliwości leczenia zakażeń <i>Candida albicans</i> oparte na naturalnych substancjach”                                                                                                                                                       | R22 |
| 15:40–15:55 – Kinga Lewtak, Marta Fiołka, Paulina Czaplewska, Tomasz Buchwald, Weronika Sofińska-Chmiel: „Ślaziowiec pensylwański jako źródło związków o działaniu przeciwwgrzybowym”                                                                                                                                                                  | R23 |
| 15:55–16:10 – Lena Łyko, Marta Olech, Renata Nowak, Wojciech Ziemichód: „Właściwości przeciwwzapalne różanechnika żółtego ( <i>Rhododendron luteum Sweet</i> )”                                                                                                                                                                                        | R24 |
| 16:10–16:25 – Wojciech Ziemichód, Sylwia Podstawka, Mateusz Gajos, Marta Olech: „Zastosowanie ekstrakcji wspomaganą działaniem enzymów celulolitycznych w pozyskiwaniu bioaktywnych metabolitów z <i>pseudoowocni róży</i> ”                                                                                                                           | R25 |

#### SESJA IX: PANEL DYSKUSYJNY: BADANIA KLINICZNE – SIŁA NAPĘDOWA INNOWACJI W MEDYCYNIE

Prowadzący: **dr hab. Radosław Sierpiński (Prezes Agencji Badań Medycznych), Prezes Stanisław Pisarski (Factor Consulting), dr Marek Konieczny (KOMED – Centra Medyczne)**  
 16:30–17:30 – panel dyskusyjny: „Nowoczesny ośrodek badań klinicznych jako wsparcie polskiej systemu ochrony zdrowia”

#### SESJA X: VARIA

Prowadzący: **prof. Barbara Wróblewska, prof. Andrzej Krzysztof Siwicki**

|                                                                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 16:30–16:45 – Łukasz Szymański, Rafał Skopek, Małgorzata Palusińska, Sławomir Lewicki, Artur Żelent: „Innowacyjne metody leczenia MDS i AML”                                    | R26 |
| 16:45–17:00 – Jerzy Bednarski, Aleksandra Górka, Iwona Łuszczewska-Sierakowska, Zofia Hoffman: „Hemofilia i jej rola w kontekście dolegliwości kręgosłupa”                      | R27 |
| 17:00–17:15 – Anna Borówka, Grzegorz Żukociński, Anna Sierosławska, Anna Rymuska: „Nanomateriały krzemionkowe zawierające metale jako potencjalne nośniki substancji aktywnych” | R28 |
| 17:15–17:30 – Ilona Sadok, Magdalena Staniszevska: „Analityczne aspekty ilościowego oznaczania metabolitów szlaku kinureninowego w płynach ustrojowych człowieka”               | R29 |

17.09.2022

#### SESJA XI: SESJA MŁODYCH NAUKOWCÓW

Prowadzący: **dr Dorota Siwicka-Gieroba, prof. UM, dr Rafał Łopucki, dr hab. Barbara-Joanna Bałan, prof. WUM**

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 9:00–9:15 – Kamila Baran, Ewa Brzezińska-Lasota: „Ocena związku poziomu ekspresji mRNA CCR6/CCL20 z wybranymi regulatorami epigenetycznymi u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca – poszukiwanie biomarkerów progresji”                                       | R30     |
| 9:15–9:30 – Jolanta Kryczka, Beata Kolesińska, Ewa Brzezińska-Lasota: „Antymetastatyczne właściwości izotiocyjanianów (ITCS) w terapii niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC)”                                                                                       | R31     |
| 9:30–9:45 – Agnieszka E. Zając, Jakub Piątkowski, Paweł Golik, Anna Szumera-Ciećkiewicz, Paweł Teterycz, Andrzej Tysarowski, Anna M. Czarnecka, Piotr Rutkowski: „Profil mutacyjny chrzęstniakomięsaków na podstawie celowanego sekwencjonowania następnej generacji” | R32     |
| 9:45–10:00 – Klaudia Bobak, Andrzej Tysarowski, Mateusz J. Spalek, Anna Szumera-Ciećkiewicz, Kamil Sokół, Michał Wągradzki, Hanna Koseła-Paterczyk, Piotr Rutkowski, Anna M. Czarnecka: „Profil molekularny mięsaków tkanek miękkich”                                 | R33     |
| 10:00–10:15 – Rafał Skopek, Małgorzata Palusińska, Łukasz Szymański, Artur Zelent: „Wpływ związków małocząsteczkowych o charakterze epigenetycznym w kombinacji z ATRA na aktywację szlaku sygnałowego kwasu retinowego: badanie przesiewowe”                         | R34     |
| 10:15–10:30 – Małgorzata Wróbel, Joanna Małaczewska, Edyta Kaczorek-Łukowska, Andrzej Krzysztof Siwicki: „Wpływ ksantohumolu na układ immunologiczny”                                                                                                                 | R35     |
| 10:30–10:45 – Michał Sułek, Paweł Mak, Jakub Kordaczuk, Justyna Śmiątek, Iwona Wojda: „Identyfikacja niskocząsteczkowych polipeptydów przeciwdrobnoustrojowych w hemolimfie larw <i>Galleria mellonella</i> po zakażeniu bakteriami <i>Pseudomonas entomophila</i> ”  | R36     |
| 10:45–11:00 – Michalina Gos: „Perspektywy wykorzystania metalokarboranów w naukach biologicznych”                                                                                                                                                                     | R37     |
| 11:00–11:15 – Sylwia Wójcik-Mieszawska, Marta Fiołka: „Analiza działania kompleksu białkowo-polisacharydowego otrzymanego z płynu celomatycznego dżdżownicy <i>Dendrobaena veneta</i> na komórki drożdżaka <i>Candida albicans</i> ”                                  | R38     |
| <b>SESJA XII: SESJA PLAKATOWA MŁODYCH NAUKOWCÓW</b>                                                                                                                                                                                                                   |         |
| Prowadzący: dr Katarzyna Czarnek, dr hab. Eliza Blicharska, prof. UM, dr hab. Agnieszka Szopa                                                                                                                                                                         | P30-P55 |
| 11:15–12:15 – prezentacja plakatów naukowych                                                                                                                                                                                                                          |         |
| Sandra Romanis, Małgorzata Dostatni, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska: „Rola mikrobioty jelitowej w zaburzeniach lękowych”                                                                                                                                     | P30     |
| Sandra Romanis, Małgorzata Dostatni, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska: „Dieta dla mózgu – co lubią nasze neurony?”                                                                                                                                             | P31     |
| Małgorzata Palusińska, Rafał Skopek, Łukasz Szymański, Artur Zelent: „Wpływ związków epigenetycznych na różnicowanie komórek w ostrej białaczce szpikowej (AML)”                                                                                                      | P32     |
| Agnieszka Krzyszczak, Bożena Czech: „Sorpccja leków przeciwwirusowych na biowęglach”                                                                                                                                                                                  | P32     |
| Agnieszka Krzyszczak, Bożena Czech: „Toksyčność pozostałości leków przeciwwirusowych w próbkach ścieków oczyszczonych różnymi metodami”                                                                                                                               | P34     |



|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Aleksandra Górka, Paulina Wdowiak, Agnieszka Markiewicz-Gospodarek, Jerzy Bednarski, Zuzanna Chilimoniuk: „Wpływ wybranych substancji podawanych drogą parenteralną na szczelność i parametry morfologiczne chirurgicznego zespolenia jelita grubego u szczurów”                                                                                                        | P35 |
| Julia Gładysz, Bartosz Słomiński, Agata Maciejewska, Maria Skrzypkowska, Małgorzata Myśliwiec, Piotr Trzonkowski: „Zależność pomiędzy polimorfizmem genu KLF-14 a powikłaniami i chorobami współistniejącymi u chorych na cukrzycę typu 1”                                                                                                                              | P36 |
| Małgorzata Dostatni, Dominika Płotka, Sandra Romanis, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska: „Rola wybranych neuroprzekazników w etiologii chorób neuropsychiatrycznych oraz neurodegeneracyjnych”                                                                                                                                                                    | P37 |
| Małgorzata Dostani, Jan Ruciński, Ewelina Kurowska-Rucińska, Sandra Romanis, Feliks Olszański, Martyna Bernard, Dorota Myślińska, Irena Majkutewicz: „Wpływ terapii citalopramem oraz indywidualnej charakterystyki behawioralnej na wybrane wskaźniki hematologiczne we krwi obwodowej szczurów w warunkach hiperaktywacji ciała migdałowatego”                        | P38 |
| Wojciech Flieger, Tomasz Śniegocki, Alicja Forma, Jacek Baj, Ryszard Maciejewski, Elżbieta Radzikowska, Jolanta Flieger: „Walidacja metody oznaczania wybranych bisfenoli za pomocą UHPLC-MS/MS”                                                                                                                                                                        | P39 |
| Wojciech Flieger, Alicja Forma, Jacek Baj, Ryszard Maciejewski, Elżbieta Radzikowska, Jolanta Flieger: „Wykorzystanie nanocząstek srebra (AGNPS) w badaniu aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów roślinnych”                                                                                                                                                           | P40 |
| Dominika Płotka, Małgorzata Dostatni, Dorota Myślińska, Wojciech Glac: „Wpływ choroby Alzheimera i otępienia czołowo-skroniowego na zachowania antyspołeczne”                                                                                                                                                                                                           | P41 |
| Kinga Ożga, Ilona Sadok, Katarzyna Gęca, Karol Rawicz-Pruszyński, Radosław Mlak, Wojciech Polkowski, Magdalena Staniszeńska: „Związane z białkami oraz wolne metabolity tryptofanu jako nowe markery raka żołądka”                                                                                                                                                      | P42 |
| Agata Ładniak, Małgorzata Jurak, Klaudia Szafran, Kacper Przykaza, Agnieszka Ewa Wiącek: „Wpływ dyspersji chitozan/kwas hialuronowy/TiO <sub>2</sub> na strukturę błon DOPC”                                                                                                                                                                                            | P43 |
| Agnieszka Słodkowska, Robert Mrocza, Paulina Marzec, Agaton Szapowicz, Konrad Kubiński, Maciej Masłyk: „Charakterystyka powierzchniowa warstw hydroksypapatytu osadzonych na nitinolu jako potencjalne podłoże dla polimerowych nośników leków”                                                                                                                         | P44 |
| Agata Maciejewska, Piotr Czernia, Magdalena Piotrowska, Beata Wajda, Bartosz Słomiński, Jan Romantowski, Adam Sudół, Małgorzata Dąbrowska, Lucyna Górka, Tomasz Smiatcz, Marek Niedoszytko, Ewa Jassem, Maria Skrzypkowska, Piotr Trzonkowski: „Nieprawidłowa skuteczność szczepionki Pfizer BNT162b2 mRNA COVID-19 u pacjentów z idiopatycznym włóknieniem płuc (IPF)” | P45 |



|                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Paulina Rybkowska, Anna Figiel-Dąbrowska, Dorota Dymkowska, Krzysztof Zabłocki, Anna Sarnowska: „Wpływ zmiennych warunków tlenowych na metabolizm ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej”                                                                  | P46 |
| Magdalena Chodkowska, Monika Sypecka, Anna Sarnowska: „Ocena jakościowa mezenchymalnych komórek macierzystych/stromalnych pozyskiwanych z tkanki tłuszczowej i przygotowanych do zastosowania klinicznego”                                                                                           | P47 |
| Klaudia Radoszkiewicz, Magdalena Szymańska, Paulina Rybkowska, Dorota Sulejczak, Anna Sarnowska: „Wpływ warunków biomimetycznych na potencjał neurogenny i właściwości neuroprotektoryjne odróżnionych komórek tłuszczowych (DFAT)”                                                                  | P48 |
| Aleksandra Majewska, Klaudia Brodaczewska, Claudine Kieda: „Rola miR-224-5p w progresji raka nerki”                                                                                                                                                                                                  | P49 |
| Julia Kobiela, Dorota Żurawa-Janicka: „Znaczenie ludzkich białek HTRA w onkogenezie i potencjalne możliwości terapeutyczne”                                                                                                                                                                          | P50 |
| Milena Pogonowska, Agnieszka Rustecka, Agata Będzichowska, Karolina Aleksandrowicz, Bolesław Kalicki: „Progranulina jako biomarker astmy u dzieci”                                                                                                                                                   | P51 |
| Maciej P. Golan, Kinga Wilkus, Klaudia Brodaczewska: „Wpływ O-gluknazylacji na wrażliwość komórek śródbłonna na leki antyangiogenne”                                                                                                                                                                 | P52 |
| Karolina Aleksandrowicz, Monika Leśniak, Klaudia Porębska, Kszysztof Klos, Katarzyna Plewka, Renata Rożyńska, Ewa Pietruszka, Karina Jahnz-Różyk, Robert Zdanowski, Andrzej Chciałowski: „Humoralne markery COVID-19 – badania wstępne”                                                              | P53 |
| Bartosz Knap, Marta Marszałek-Grabska, Waldemar Turski, Kinga Gawel: „Wpływ kwasu cinnabarynowego na zachowania podobne do depresji i lęku u myszy doświadczalnych”                                                                                                                                  | P54 |
| Maciej Masłyk, Tomasz Lenard, Marta Olech, Aleksandra Martyna, Elżbieta Kochanowicz, Małgorzata Poniewozik, Anna Boguszewska-Czubar, Kamila Górka, Mateusz Kwaśnik, Ajoku U. Sampson, Konrad Kubiński: „Ceratophyllum demersum (rogatek sztywny) jako bogate źródło substancji przeciwnowotworowych” | P55 |



# **STRESZCZENIE WYKŁADU INAUGURACYJNEGO**

## PRZESZCZEP WĄTROBY JAKO FORMA TERAPII GENOWEJ. GENETYCZNE I METABOLICZNE CHOROBY WĄTROBY

GRZEGORZ TELEGA

Medical College of Wisconsin

Genetyczne i metaboliczne choroby wątroby stanowią liczną grupę, składającą się z kilkuset rozpoznanych schorzeń, których objawy są bardzo zróżnicowane i obejmują m.in. ostrą lub chroniczną niewydolność wątroby, nadciśnienie wrotne, infekcje, nowotwory wątroby czy uszkodzenie mózgu.

Przy wielu genetycznych i metabolicznych schorzeniach wątroby u dzieci najkorzystniejszym rozwiązaniem pozwalającym na zmniejszenie ryzyka jest przeszczep wątroby. Zasadne tym samym jest dalsze badanie rozszerzonych kryteriów do stosowania przeszczepu wątroby jako formy terapii genowej.

Z drugiej strony, rozwój narzędzi diagnostycznych i rozszerzenie możliwości leczenia pozwala uniknąć przeszczepu wątroby u niektórych pacjentów, dla których do niedawna to właśnie przeszczep był często jedynym ratunkiem.

Motywnym przewodnim niniejszej prezentacji jest proces podejmowania decyzji klinicznych dotyczących przeszczepu wątroby w wybranych genetycznych i metabolicznych chorobach wątroby w szybko zmieniającym się otoczeniu.

## LIVER TRANSPLANT AS A GENE THERAPY. GENETIC AND METABOLIC LIVER DISORDERS

GRZEGORZ TELEGA

Medical College of Wisconsin

Genetic and metabolic liver disorders constitute broad group of few hundreds' identifiable conditions. The presentation is extremally variable with symptoms ranging from acute and chronic liver failure, portal hypertension infections but also including liver tumors and brain injury.

As outcomes of liver transplantation in children improves the balance of risk and benefit becomes favorable for many of genetic and metabolic disorders. That leads to further investigation of expanded criteria for using liver transplant as form of the gene therapy.

On the other hand, better diagnostic tools and improved medical treatment options allow some patients to avoid liver transplantation in condition which until recently frequently led to transplantation.

Presentation will focus on clinical decision-making regarding liver transplantation in select genetic and metabolic liver conditions in rapidly changing landscape.



# **STRESZCZENIA WYKŁADÓW PLENARNYCH**

## NOWOCZESNE PODEJŚCIE DO ZASTOSOWANIA MIKROORGANIZMÓW W AGROBIOTECHNOLOGII

AGNIESZKA WOLIŃSKA, AGNIESZKA KUŹNIAR, ANNA KRUCZYŃSKA, WERONIKA GORAJ  
Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biologii i Biotechnologii Mikroorganizmów, ul. Konstantynów 1 I, 20-708 Lublin

Agrobiotechnologia jest działem zielonej biotechnologii, wykorzystywanym w rolnictwie, leśnictwie i gospodarce żywnościowej. Opiera się przede wszystkim na metodach inżynierii genetycznej i biologii molekularnej. Jedną z najnowocześniejszych metod stosowanych w biotechnologii do rozpoznania bioróżnorodności jest metagenomika, stanowiąca technikę analizy genomu złożonego z ogółu mikroorganizmów, zasiedlających dany mikrobiom (np. glebę). Technika sekwencjonowania następnej generacji (NGS) regionów hiperzmiennych pozwala na wgląd w genetyczną różnorodność mikroorganizmów bez konieczności prowadzenia nieefektywnych hodowli komórkowych.

Celem wykładu jest prezentacja najważniejszych wyników związanych z mikroorganizmami, mającymi zastosowanie w agrobiotechnologii, uzyskanych w Katedrze Biologii i Biotechnologii Mikroorganizmów KUL w toku realizacji trzech projektów naukowych: (1) finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki w ramach programu Nauka dla Społeczeństwa, (2) finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu LIDER IX oraz (3) finansowanego przez Fundację Potulicką w Wojnowie.

Przedstawiony zostanie (1) wpływ zredukowanego nawożenia azotowego na mikrobiom bakterii, zasiedlający glebę spod uprawy kukurydzy w systemie orkowym i bezorkowym, (2) zróżnicowanie endofitów bakteryjnych, zasiedlających różne odmiany pszenic i stanowiących komponent biopreparatu InnoEndop oraz (3) mikrobiom serów ślesieńskich (długo-dojrzewających oraz pleśniowych). Wszystkie wspomniane zagadnienia są bezpośrednio związane z agrobiotechnologią i zdrowiem konsumentów.

(1) Praca naukowa dofinansowana ze środków budżetu państwa w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Nauka dla Społeczeństwa” nr projektu Nd5/531260/2021/2021, kwota dofinansowania 100%, całkowita wartość projektu 625 910,50 PLN

(2) Praca powstała w wyniku realizacji projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju pt. „Innowacyjny preparat do stymulacji wzrostu i plonowania pszenicy ozimej” w ramach programu LIDER IX (nr 0024/L-9/2017)

(3) Badania sfinansowane przez Fundację Potulicką (1/6-40-21-10-0603-0018-0049).

## A MODERN APPROACH TO THE USE OF MICROORGANISMS IN AGROBIOTECHNOLOGY

AGNIESZKA WOLIŃSKA, AGNIESZKA KUŹNIAR, ANNA KRUCZYŃSKA, WERONIKA GORAJ

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Biology and Biotechnology of Microorganisms, Konstantynów 1 I Str., 20-708 Lublin, Poland

Agrobiotechnology is a branch of green biotechnology which is used in agriculture, forestry and food management. It is based primarily on genetic engineering and molecular biology methods. One of the most modern methods used in biotechnology to identify biodiversity is metagenomics, which is a technique for analyzing the genome made up of all the microorganisms inhabiting a given microbiome (e.g., soil). The technique of next-generation sequencing (NGS) of hypervariable regions provides insight into the genetic diversity of microorganisms without the need for inefficient cell culture.

The purpose of the lecture is to demonstrate the most important results related to microorganisms with applications in agrobiotechnology, obtained in the Department of Biology and Biotechnology of Microorganisms in the course of three scientific projects: (1) funded by the Ministry of Education and Science under the Science for Society program, (2) funded by the National Center for Research and Development under the LIDER IX program, and (3) funded by the Potulicka Foundation in Wojnowo.

The following will be presented: (1) the effect of reduced nitrogen fertilization on the microbiome of bacteria inhabiting the soil from under plowed and no-till corn, (2) the diversity of bacterial endophytes inhabiting different varieties of wheat and constituting a component of the InnoEndop biopreparation, and (3) the microbiome of Slesian cheeses (long-ripened and moldy). All the aforementioned issues are directly related to agrobiotechnology and consumer health.

(1) Scientific work financially supported by the state budget under the program of the Ministry of Education and Science called "Science for Society" project number NdS/531260/2021/2021, the amount of funding 100%, total project value PLN 625,910.50 (Poland)

(2) This work is the result of a project funded by the National Center for Research and Development entitled "Innovative preparation for growth and yield stimulation of winter wheat" under the LIDER IX program (No. 0024/L-9/2017)

(3) Research funded by the Potulicka Foundation (1/6-40-21-10-0603-0018-0049)



## NOWE PODEJŚCIE DO TERAPII OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ

RAFAŁ ZIELIŃSKI, WALDEMAR PRIEBE

The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Department of Experimental Therapeutics

Ostra białaczka szpikowa (z ang. Acute myeloid leukemia, AML) to heterogenna grupa nowotworów układu krwionośnego, w której obecność mutacji w genie p53 koreluje ze złym rokowaniem pacjentów. Standardowa terapia indukcyjna AML opiera się na zastosowaniu cytarabiny (cytosine arabinoside, ARA-C) w kombinacji z antracyklinami, jak np. daunorubicyna. Niestety, efektywność kliniczna stosowanych obecnie antracyklin jest ograniczona ze względu na ich kardiotoxyczność oraz aktywację białek oporności wielolekowej MDR (z ang. multi-drug resistance proteins).

Annamycyna (ANN) jest nową antracykliną, efektywnie eliminującą komórki nowotworowe AML a jej aktywność, w przeciwieństwie do doxorubicyny (DOX) i daunorubicyny, nie jest ograniczona obecnością białka ABCB1 (z ang. ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1), zwanego także P-gp. Dzięki temu, ANN wykazuje cytotoxyczność wobec komórek AML nawet w przypadku ekspresji białek MDR. Co ważne, wstępne badania toksykologiczne wykazały istotnie niższą kardiotoxyczność ANN w porównaniu z DOX. L-Annamycyna (L-ANN) jest liposomową formacją ANN, której efektywność jest obecnie weryfikowana w badaniach klinicznych u pacjentów z AML w USA i Polsce.

Biorąc pod uwagę kliniczne stosowanie kombinacji daunorubicyny i ARA-C, w przeprowadzonych badaniach przedklinicznych oceniliśmy efektywność terapeutyczną kombinacji ANN i L-ANN z ARA-C. Uzyskane wyniki wykazały synergistyczne działanie ANN i ARA-C w modelach AML, w tym w modelu wysoce agresywnej formy AML, charakteryzującej się obecnością mutacji w genach p53<sup>-/-</sup>, MLL, ENL-FLT3, i ITD. Kombinacja ANN i Ara-C indukowała zmniejszenie blastów w szpiku kostnym oraz śledzionie, co korelowało z wydłużonym średnim okresem przeżycia zwierząt w odniesieniu do monoterapii. Co ciekawe, niektóre myszy żyły dłużej niż 180 dni, co wskazuje na całkowitą odpowiedź na leczenie.

Podsumowując, w immunokompetentnym mysim modelu p53<sup>-/-</sup> AML, wykazaliśmy, wysoką cytotoxyczność L-ANN w monoterapii, która ulegała dalszemu wzmocnieniu w obecności ARA-C. Uzyskane obserwacje in vitro oraz in vivo wskazują na silny synergizm pomiędzy badanymi lekami.

Uzyskane wyniki wspierają dalszy rozwój kliniczny L-ANN w kombinacji z ARA-C jako nowej terapii indukcyjnej dla pacjentów z AML (badanie kliniczne nr NCT05319587).

## FROM BENCH TO BEDSIDE: DEVELOPMENT OF A NEW THERAPEUTIC APPROACH TO TREAT ACUTE MYELOID LEUKEMIA

RAFAŁ ZIELIŃSKI, WALDEMAR PRIEBE

The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Department of Experimental Therapeutics

Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous hematological malignancy in which the p53-mutated subset is associated with poor prognosis. Induction therapy with cytarabine (cytosine arabinoside, ARA-C) in combination with anthracyclines, such as daunorubicin, is routinely used for AML patients. However, the clinical effectiveness of currently available anthracyclines is limited, in part due to their cardiotoxicity and appearance of multidrug resistance.

Annamycin (ANN) is a novel anthracycline whose anti-leukemic activity, in contrast to doxorubicin (DOX) and daunorubicin, is unaffected by ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1 (ABCB1), also known as P-glycoprotein (P-gp). As a result, ANN can overcome P-gp related multidrug resistance (MDR1). Importantly, in preclinical toxicology studies ANN displayed a greatly reduced cardiotoxicity profile compared to DOX. L-Annamycin (L-ANN), a liposomal formulation of ANN, is currently being evaluated in patients with AML in the USA and Poland.

Considering that daunorubicin is clinically administered in combination with ARA-C as induction therapy to treat AML, we assessed the therapeutic efficacy of ANN and L-ANN in combination with ARA-C.

Our preclinical data clearly indicated synergy between ANN and ARA-C in AML models, including the highly aggressive AML animal model that is characterized by p53<sup>-/-</sup>, MLL, ENL-FLT3, and ITD mutations. The combination therapy resulted in improved blasts clearance in the sanctuary organs (bone marrow and spleen), which correlated with increased median survival beyond that of single agent-treated animals. Interestingly, some mice lived longer than 180 days, indicating complete cure.

Overall, our study in the stringent, immune-competent p53<sup>-/-</sup> AML mouse model demonstrated not only the efficacy of L-ANN as a single agent therapy but importantly, further enhancement of the *in vivo* activity of L-ANN by the addition of ARA-C; thus, altogether with the results of the *in vitro* studies providing strong evidence for synergism between these two drugs. In summary, these results strongly support the continued clinical development of L-ANN in combination with ARA-C for AML patients (study NCT05319587).



# **STRESZCZENIA WYKŁADÓW**

## STYMULACJA AUTOFAGII JAKO POTENCJALNA METODA LECZENIA CHOROBY HUNTINGTONA

GRZEGORZ WĘGRZYN, KAROLINA PIERZYNOWSKA, LIDIA GAFFKE, ZUZANNA CYSKE

Katedra Biologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk

Choroby neurodegeneracyjne stanowią wielki problem medyczny i społeczny. Większość z nich jest nieuleczalna, a pomimo intensywnych prac naukowych i wielu różnych podejść badawczych, nie udało się opracować metody mogącej skutecznie pomóc pacjentom w przypadku ogromnej większości tych chorób. Zgodnie z danymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), choroby neurodegeneracyjne są przyczyną około 10% zgonów ludzi na świecie. Choroby neurodegeneracyjne są definiowane jako schorzenia wynikające z postępującej utraty komórek nerwowych. Obniżenie liczby oraz aktywności neuronów prowadzi do ciężkich dysfunkcji w układzie nerwowym, zwykle wpływając drastycznie na biologiczne funkcje całego organizmu. W wielu chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak na przykład choroba Huntingtona, procesy patologiczne zależą od tworzenia się agregatów białek. Pomimo wielu lat badań, nie ma obecnie skutecznej metody leczenia tych chorób, a działania terapeutyczne ograniczają się do mało skutecznych prób leczenia objawowego. Wyniki naszych ostatnich badań sugerują, że zwiększenie wydajności degradacji patologicznych form białek może być najbardziej efektywną metodą leczenia tych chorób. Nasze prace wykazały stymulację procesu biogenezy lizosomów przez genisteinę (4',5,7-trihydroksyizoflawon). Co więcej, w ramach tych badań stwierdziliśmy, że genisteina indukuje autofagię i koryguje fenotyp w komórkowym modelu choroby Huntingtona. Rezultaty testów behawioralnych przeprowadzonych na mysim modelu choroby wykazały, że podawanie doustne genisteiny może redukować bądź nawet korygować wiele defektów motorycznych i kognitywnych u chorych zwierząt. Zrozumienie molekularnych mechanizmów tego procesu może dać możliwość opracowania efektywnej terapii chorób neurodegeneracyjnych w przyszłości.

## STIMULATION OF AUTOPHAGY AS A POTENTIAL TREATMENT FOR HUNTINGTON DISEASE

GRZEGORZ WĘGRZYN, KAROLINA PIERZYNOWSKA, LIDIA GAFFKE, ZUZANNA CYSKE

Department of Molecular Biology, Faculty of Biology, University of Gdańsk, Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk, Poland

Neurodegenerative diseases will pose an increasing burden on society. Most of them are incurable, and despite extensive work and many efforts, no effective treatment can be proposed to a vast majority of patients. According to World Health Organization (WHO), neurodegenerative diseases are the cause of about 10% deaths worldwide. Neurodegenerative diseases are defined as disorders resulting from the gradual and progressive loss of neural cells. Such a decrease in number and activity of neurons leads to severe dysfunctions in the nervous system, usually affecting biological functions of the whole organism. In many neurodegenerative diseases, including Huntington's disease, the pathological processes depend on formation of protein aggregates. Despite many years of studies, no cure is available for these diseases apart from symptomatic treatment which can only weakly alleviate major destructive effects of neurodegeneration. Our recent studies have suggested that enhanced degradation of pathological proteins might be the most effective way to treat these diseases. We have demonstrated the stimulation of lysosomal biogenesis by genistein (4',5,7-trihydroxyisoflavone). Moreover, we found that genistein induces autophagy and corrects phenotypes of cellular model of Huntington's disease. Results of behavioral tests performed with the mouse model of this disease indicated that orally administered genistein can reduce or even correct many motor and cognitive defects in affected animals. Understanding molecular mechanisms of this process may provide a possibility to develop an effective therapy for neurodegenerative diseases in the future.

## LIMFOCYTY T REGULATOROWE W KLINICE CZŁOWIEKA

*PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Poltreg S.A., Gdańsk, Poland

<sup>2</sup> Department of Medical Immunology, Medical University of Gdańsk, Poland

W mediach codziennie dowiadujemy się o przełomowych odkryciach naukowców, które mają zmienić nasz świat, umożliwić wyleczenie nieuleczalnych chorób i generalnie umożliwić nam wizytę na księżycu już w następny weekend. Tymczasem nawet najbardziej spektakularne odkrycia wymagają często lat pracy aby zweryfikować ich prawdziwość, sprawdzić bezpieczeństwo ich stosowania i opracować sposób ich udostępnienia każdemu z nas.

Szczególnie w przypadku chorób nieuleczalnych istnieje duża presja aby odkrycia naukowe były szybko implementowane jako nowe leki i nowe sposoby terapii. W wykładzie przedstawimy ścieżkę rozwoju nowoczesnych terapii od odkrycia do gotowego leku na przykładzie terapii komórkowej opartej o limfocyty T regulatorowe w terapiach chorób autoimmunologicznych takich jak cukrzyca typu 1 i stwardnienie rozsiane. Spróbujemy wyjaśnić dlaczego rozwój nowoczesnego leku trwa tak długo, dlaczego kosztuje tak drogo i czy rzeczywiście musi tyle kosztować.

## TREATMENT WITH T REGULATORY CELLS IN THE CLINIC

*PIOTR TRZONKOWSKI*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Poltreg S.A., Gdańsk, Poland

<sup>2</sup> Department of Medical Immunology, Medical University of Gdańsk, Poland

Media press communicates on a daily basis ground-breaking discoveries which will change the world, allow recovery from untreatable diseases and give us a chance to walk on the moon within the next few days. In fact, even the most brilliant discoveries usually require years in order to verify their efficacy and safety and the ways to apply them widely in the society.

There is a special interest in applying new drugs in the treatment of diseases without cure, which are so-called unmet medical needs. In the lecture, we will present – from bench to bedside – the path of development of the new cellular therapy based on T regulatory cells in the treatment of untreatable autoimmune diseases, such as type 1 diabetes or multiple sclerosis. We will also try to explain why this development lasts so long, why it is so expensive and address whether it must be so expensive.



## NOWE TERAPIE ZAPOBIEGAJĄCE ODRZUCANIU CHRONICZNEMU (DŁUGOTERMINOWEMU) PRZESZCZEPÓW

MAŁGORZATA KŁOC

The Houston Methodist Research Institute and Houston Methodist Hospital, Department of Surgery, Houston, Texas, USA

Odrzucanie chronicznie (długoterminowe) jest nierozwiązanym, i jak dotychczas nieuleczalnym, problemem w transplantacji klinicznej. W ciągu 10-ciu lat po przeszczepie, 70% wszystkich przeszczepionych organów jest odrzucanych i pacjenci wymagają powtórnej transplantacji. Główne symptomy odrzucania chronicznego to zamykanie światła naczyń krwionośnych i odkładanie włókien kolagenowych (zwłóknienie tkanek). Nasze badania w modelu przeszczepu serca u gryzoni wykazały, że odrzucanie chronicznie zależy od makrofagów, które wchodzą do przeszczepu w pierwszym tygodniu po transplantacji indukując zamykanie naczyń i zwłóknienie. Wykazaliśmy też, że wchodzenie makrofagów do przeszczepu zależy od cytoszkieletu aktynowego. Cytoszkielet aktynowy jest regulowany przez małą ATPazę RhoA i jej efektor, kinazę ROCK1/2. Udowodniliśmy że zablokowanie aktywności ROCK, albo genetyczne usunięcie RhoA z makrofagów, zaburza funkcje cytoszkieletu aktynowego, powoduje wydłużenie makrofagów (tzw., fenotyp kolibra) i zapobiega wchodzeniu makrofagów do przeszczepu. Ostatnie nasze badania wykazały, że inhibitory ROCK, które są dopuszczone do stosowania klinicznego, Fingolimod (używany do leczenia stwardnienia rozsianego) i Rezurock (używany do leczenia choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi, GVHD) blokują odrzucanie chroniczne w modelu przeszczepu serca u gryzoni. Te wyniki pozwoliły nam na rozpoczęcie prób klinicznych z tymi dwoma lekami na pacjentach po przeszczepie nerki. W innych badaniach związanych z tym tematem wykazaliśmy, że ścieżka sygnalizacyjna RhoA jest także regulowana przez przekształcanie bodźca mechanicznego na informację elektrochemiczną (mechanotransdukcję) poprzez receptory bodźca mechanicznego błony komórkowej, które reagują na mechaniczny nacisk na błonę. Wykazaliśmy, że makrofagi poddane działaniu siły mechanicznej wykreowanej przez gradient pola magnetycznego, podobnie do makrofagów o zablokowanej funkcji RhoA, mają zaburzony cytoszkielet aktynowy i przyjmują wydłużony fenotyp kolibra. Na podstawie tych wyników, zaproponowaliśmy, że zainstalowanie, w pobliżu przeszczepu, urządzenia wytwarzającego gradient pola magnetycznego, zablokuje wchodzenie makrofagów do przeszczepu i może zablokować odrzucanie chroniczne.

## NOVEL THERAPIES FOR CHRONIC REJECTION OF TRANSPLANTED ORGANS

*MALGORZATA KLOC*

The Houston Methodist Research Institute and Houston Methodist Hospital, Department of Surgery, Houston, Texas, USA

Chronic (long-term) rejection of transplanted organs remains unresolved and, so far, an incurable obstacle in clinical transplantation. Ten years post-transplantation, ~ 70% of all organs become chronically rejected, and patients require re-transplantation. The main signs of chronic rejection are vessel occlusion and fibrosis. Our studies in the rodent cardiac transplantation model showed that chronic rejection depends on macrophages that infiltrate the graft within one week after transplantation, inducing vessel occlusion and collagen deposition (fibrosis). We also showed that the movement of macrophages to the graft depends on the actin cytoskeleton. The actin cytoskeleton is regulated by a small GTPase RhoA and its downstream effector ROCK 1/2 kinase. We showed that inhibition of ROCK or macrophage-specific deletion of RhoA disrupts the actin cytoskeleton, causing extreme elongation (hummingbird phenotype) of macrophages and preventing macrophage movement to the graft. We also showed that the ROCK inhibitors, which are approved for clinical use: Fingolimod (used for the treatment of multiple sclerosis) and RezuRock (used for the treatment of graft versus host disease (GVHD)), successfully inhibit chronic rejection in rodent transplantation model. These findings allowed us to proceed with these two drugs to clinical trials. In the related studies, we found that the RhoA pathway is also regulated by the mechanotransduction through the mechanosensors embedded in the cell membrane and sensing mechanical stimuli. We showed that the exposure of macrophages to the mechanical force created by the magnetic field gradient causes, like ROCK inhibition, disruption of the actin cytoskeleton and extreme elongation of macrophages. We propose to apply magnetic devices in the vicinity of the transplant to inhibit macrophage entry and prevent the development of chronic rejection.

## PEŁNOPROFILOWA ONKOLOGIA – DIAGNOSTYKA I LECZENIE

*ELŻBIETA STAROŚLAWSKA*

*Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana z Dukli*

Pełnoprofilowa diagnoza i leczenie onkologiczne to wysokospecjalistyczne podejście do diagnostyki i leczenia polegające na ocenie immunohistopatologicznej, genetycznej, immunologicznej, radiologicznej, kardiointernistycznej na aktualnie najwyższym poziomie i konsyliarnemu ustaleniu skojarzonego sposobu leczenia. Każdy pacjent ma ustalonego koordynatora postępowania diagnostyczno-terapeutycznego, który monitoruje poprawność realizacji diagnozy i ustaleń poszczególnych konsyliów. Po specjalistycznym leczeniu ustala się badania kontrolne zgodnie z międzynarodowymi standardami w poradniach specjalistycznych centrów lub szpitali onkologicznych.

Zgłaszający się pacjenci do centrów lub szpitali onkologicznych są w różnym stadium rozwoju choroby nowotworowej. Pacjenci o niskim stopniu zaawansowania nowotworu mają największe szanse na wyleczenie i najdłuższe przeżycie. Takich pacjentów leczymy radykalnie. Pierwszorazowi pacjenci z obecnością przerzutów poza guzem pierwotnym leczeni są paliatywnie. W leczeniu paliatywnym w zależności od nowotworu nieraz paradoksalnie pacjenci żyją długo i leczeni są przewlekłe z przerwami na obserwację. Chodzi tu przede wszystkim o nowotwory wolnorosnące.

Prof. Tadeusz Koszarowski – chirurg onkolog, twórca polskiej chirurgii onkologicznej, autor terminu onkologia w polskiej medycynie, Dyrektor Instytutu Onkologii w Warszawie – na Kongresie Międzynarodowej Unii Przeciwrakowej w Tokio w 1966r. wygłosił programowy referat, po którym przyjęto pogląd o potrzebie powstania interdyscyplinarnej specjalności – onkologii, zorganizowanej w sieci tzw. komprehensywnych centrów obejmujących pod jednym dachem wszystkie stosowane w zwalczaniu nowotworów metody badawczo-lecznicze, metodyczno-organizacyjne i profilaktyczne. Takie centra, jakim jest Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana z Dukli, są do dziś uznawane za najskuteczniejszy model klinicznego ośrodka walki z rakiem.

49 lat po programowym referacie prof. Tadeusza Koszarowskiego potwierdzono ten pogląd w Stanach Zjednoczonych w 2015r. na podstawie przeprowadzonej metaanalizy wyników leczenia pacjentów z chorobami nowotworowymi w pełnoprofilowych centrach onkologicznych i szpitalach poza nimi. Pacjenci leczeni w pełnoprofilowych centrach onkologicznych uzyskali lepsze wyniki terapeutyczne od kilku do kilkunastu procent.

## COMPREHENSIVE ONCOLOGY – DIAGNOSIS AND TREATMENT

*ELŻBIETA STAROŚLAWSKA*

*St. John's Cancer Center, Lublin, Poland*

Comprehensive diagnosis and treatment of cancer patients involves highly specialised approach to diagnostics and therapy including state-of-the art immunohistopathological, genetic, immunological, radiological, and cardiovascular evaluation, as well as interdisciplinary determination of the combined treatment method. Every patient is assigned to a coordinator of their diagnostic and therapeutic process, who monitors the correct execution of the diagnostic process and the findings of respective interdisciplinary teams. After the completion of specialist treatment, a follow-up examination is scheduled according to international standards. The follow-up visit takes place in a specialist outpatient clinic of a cancer centre or hospital.

Patient reporting to cancer centres or hospitals present with various stages of cancer progression. Patients in early stage of cancer progression have the best chances of getting cured and the longest overall survival. These patients receive radical treatment. Newly diagnosed patients with metastasised cancer receive palliative treatment. Paradoxically, depending on the type of cancer, patients subjected to palliative treatment sometimes live long receiving long-term treatment with intervals for follow-up examination. This primary concerns slow growing tumours.

Prof. Tadeusz Koszarowski – surgical oncologist, the founder of Polish surgical oncology, the author of the term “oncology” in Polish medicine, Director of the Institute of Oncology in Warsaw. At the 1966 Congress of the International Union Against Cancer, he delivered a keynote lecture on the need of establishing a multidisciplinary speciality – oncology. Consequently, cancer treatment should be provided in a network of comprehensive treatment centres offering all the available examination and treatment methods, as well as performing teaching, organisational, and prophylactic activities in a single institution. Such centres, including St. John of Dukla Lublin Region Cancer Centre, are still considered as the most efficient model of a cancer treatment facility.

This concept found confirmation 49 years after Prof. Tadeusza Koszarowski's keynote lecture in a meta-analysis performed in 2015 in the United States. The outcomes of cancer treatment in comprehensive cancer treatment centres and traditional hospitals were compared. The outcomes in patients treated in comprehensive cancer treatment centres were from several to over a dozen percent better.

## PRZESZCZEPIANIE SZPIKU W XXI WIEKU

WIESŁAW WIKTOR JĘDRZEJCZAK

Katedra i Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Przeszczepianie szpiku jest metodą leczenia wielu nowotworowych i nienowotworowych chorób krwi. Jej istota opiera się na wcześniejszym zniszczeniu dotychczasowego krwiotworzenia wraz z jego chorobą i następowego wytworzenia zdrowego krwiotworzenia z przeszczepionych komórek macierzystych. Komórki te pierwotnie były uzyskiwane ze szpiku i stąd nazwa tej metody, a obecnie są uzyskiwane najczęściej z krwi obwodowej po ich mobilizacji ze szpiku. W zależności od potrzeby wykorzystuje się własne zdrowe komórki wcześniej pobrane od chorego (przeszczepienia autologiczne) lub komórki uzyskane od innej, specjalnie dobranej osoby (przeszczepienia alogeniczne). Po okresie pionierskim w XX wieku obecnie zabiegi są wykonywane dzięki międzynarodowej współpracy wyspecjalizowanych placówek, w tym ośrodków transplantacyjnych, banków komórek krwiotwórczych, pracowni zgodności tkankowej, ośrodków poszukiwania i doboru dawców i rejestrów potencjalnych zdrowych dawców i są bardzo złożonymi przedsięwzięciami. Zabiegi przeszczepienia od dawców niespokrewnionych są jedynymi zabiegami medycznymi, które są rutynowo wykonywane w układzie międzynarodowym. Polega to na tym, że dobrany dawca jest w jednym kraju i tam pobiera mu komórki jeden zespół lekarzy, a komórki są przesyłane do drugiego kraju, gdzie znajduje się biorca i przeszczepia mu je inny zespół lekarzy. Taki rozwój sytuacji wynikał z ogromnej różnorodności cech, w oparciu o które dobiera się dawców i biorców szpiku i nawet obecnie w sytuacji rejestracji ponad 40 milionów potencjalnych dawców na świecie (w tym ponad 2 milionów w Polsce) około 20% chorych nie może znaleźć zgodnego dawcy. Ten problem był pierwotnie rozwiązywany dzięki wykorzystywaniu krwi pępowinowej zamiast szpiku i został w znacznej mierze rozwiązany w XXI wieku dzięki opracowaniu skutecznej metody przeszczepienia od dawcy w połowie zgodnego (tzw. haploidentycznego). Takiego dawcę ma niemal każdy z nas. Choć minęło już kilkadziesiąt lat od pierwszych prób (w Polsce 38 lat) to metoda ulega stałemu rozwojowi i ratuje życie wielu inaczej beznadziejnie chorym.

## BONE MARROW TRANSPLANTATION IN THE XXI CENTURY

*WIESŁAW WIKTOR JĘDRZEJCZAK*

Department of Hematology, Transplantation, and Internal Diseases of the Medical University of Warsaw

Bone marrow transplantation is a method of treatment of many neoplastic and non-neoplastic disorders of the blood. Its principle hinges on the earlier destruction of existing hematopoiesis together with its disease, and the subsequent formation of healthy hematopoiesis from transplanted stem cells. These cells were originally collected from the bone marrow (hence the name of the method), but these days are collected most frequently from the peripheral blood after their mobilization from the bone marrow. Depending on the circumstances patient's own earlier collected healthy cells are used (autologous transplantation) or cells collected from other, specially matched healthy person (allogeneic transplantation). After the pioneering period in the XXth century, procedures are carried out owing to the International collaboration of specialized establishments such as transplantation centers, cell processing centers, tissue typing laboratories, donor search centers, and registries of volunteer donors, and are very complex. Procedures of bone marrow transplantation from unrelated donors are the only medical procedures that are routinely carried out in the international setting. In such a situation, the matched donor is in one country, and his cells are collected there by one team of doctors, and cells are transported to another country, where the recipient is transplanted by another team of doctors. Such development was due to the enormous diversity of features based on which donors and recipients are matched. Even today, in the situation of recruitment of more than 40 million potential donors worldwide (including more than 2 million in Poland alone) still about 20% of patients cannot find a compatible donor. This problem was originally partially addressed thanks to the use of cord blood but in the XXI century became largely solved by the development of the effective method of transplantation from the half-matched donor (the so-called haploidentical). Such donor is available for nearly everybody. Despite the fact, that almost fifty years passed since the first successful transplantations in the world (38 years in Poland) the method is still being improved and is saving the lives of many patients with an otherwise incurable diseases.

## BIAŁKO ABCA1 CZERNIAK – JAK CHOLESTEROL WPŁYWA NA ROZWÓJ NOWOTWORU

AMBROISE WU<sup>1</sup>, EWA MAZURKIEWICZ<sup>2</sup>, PIOTR DONIZY<sup>3</sup>, KRZYSZTOF KOTOWSKI<sup>3</sup>, MAŁGORZATA PIENIAŻEK<sup>4</sup>, ANTONINA J. MAZUR<sup>2</sup>, ALEKSANDER CZOGALLA<sup>1</sup>, TOMASZ TROMBIK<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> Zakład Cytobiochemii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław,

<sup>2</sup> Zakład Patologii Komórki, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław,

<sup>3</sup> Zakład Patologii Klinicznej i Eksperymentalnej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Borowska 213, 50-556 Wrocław,

<sup>4</sup> Zakład Onkologii i Oddział Chirurgii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, pl. Hirsfelda 12, 53-413 Wrocław,

<sup>5</sup> Zakład Biofizyki, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław,

<sup>6</sup> Obecny adres: Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Chodźki 1, 20-093 Lublin.

Czerniak jest uważany za najbardziej agresywną i śmiertelną formę nowotworu skóry. Wykazano, że zawartość cholesterolu w komórkach czerniaka jest podwyższona, a jego część gromadzi się w obrębie tratw lipidowych (lipid rafts); dlatego poziom cholesterolu w błonie plazmatycznej i jej organizacja lateralna mogą być bezpośrednio związane z rozwojem nowotworu. Białko transporterowe ATP Binding Cassette A1 (ABCA1) moduluje rozmieszczenie cholesterolu w błonie komórkowej i promuje jego usuwanie z komórki. Badania w tej pracy dowodzą, że ekspresja białka ABCA1 silnie koreluje z rozwojem czerniaka w próbkach klinicznych. Wykazano również, że utrata lub zahamowanie aktywności białka ABCA1 wpływa na trawienie macierzy pozakomórkowej (extracellular matrix, ECM) i zdolność do inwazji komórek czerniaka. Dodatkowo, brak aktywności białka ABCA1 częściowo ogranicza ruchliwość komórek poprzez wpływ na tworzenie aktywnych ognisk adhezyjnych (focal adhesions, FA). Ponadto, wykorzystując biofizyczne techniki mikroskopowe wykazano, że białko ABCA1 reguluje lateralną organizację błony plazmatycznej w komórkach czerniaka. Zaburzenie tej organizacji, poprzez zwiększenie zawartości cholesterolu, blokuje tworzenie ognisk adhezyjnych. Wyniki tej pracy sugerują, że komórki czerniaka regulują zawartość cholesterolu w błonie komórkowej i jej organizację poprzez aktywność białka ABCA1, aby promować procesy nowotworowe.

## ABCA1 AND MELANOMA – HOW CHOLESTEROL IMPACTS TUMOR PROGRESSION

AMBROISE WU<sup>1</sup>, EWA MAZURKIEWICZ<sup>2</sup>, PIOTR DONIZY<sup>3</sup>, KRZYSZTOF KOTOWSKI<sup>3</sup>, MAŁGORZATA PIENIAZEK<sup>4</sup>, ANTONINA J. MAZUR<sup>2</sup>, ALEKSANDER CZOGALLA<sup>1</sup>, TOMASZ TROMBIK<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> Department of Cytobiochemistry, Faculty of Biotechnology, University of Wrocław, Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław, Poland

<sup>2</sup> Department of Cell Pathology, Faculty of Biotechnology, University of Wrocław, Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław, Poland

<sup>3</sup> Department of Clinical and Experimental Pathology, Division of Clinical Pathology, Wrocław Medical University, Borowska 213, 50-556 Wrocław, Poland

<sup>4</sup> Department of Oncology and Division of Surgical Oncology, Wrocław Medical University, pl. Hirszfelda 12, 53-413 Wrocław, Poland

<sup>5</sup> Department of Biophysics, Faculty of Biotechnology, University of Wrocław, Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław, Poland

<sup>6</sup> Present address: The Chair and Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical University, Chodźki 1, 20-093 Lublin, Poland

Melanoma is considered as the most aggressive and deadliest form of skin tumor. It has been demonstrated that cholesterol content in melanoma cells is elevated, and a portion of it accumulates into lipid rafts. Therefore, the plasma membrane cholesterol level and its lateral organization might be directly linked with tumor development. ATP Binding Cassette A1 (ABCA1) transporter modulates cholesterol distribution within the plasma membrane and promotes its efflux. Here we show that the expression of ABCA1 correlates with the melanoma development in clinical samples. Next we demonstrate that depletion or inhibition of ABCA1 impacts extracellular matrix digestion and invasion capacities of melanoma cells. Loss of the ABCA1 activity partially prevented motility of the cells by affecting the formation of active focal adhesions. Moreover, using a combination of biophysical microscopy techniques we demonstrated that ABCA1 regulates the lateral organization of the plasma membrane in melanoma cells. Disrupting this organization, by increasing the content of cholesterol, also blocks active focal adhesion formation. Together, these results suggest that melanoma cells reorganize their plasma membrane cholesterol content and organization via ABCA1 activity to promote motility processes.



## HORMON TYREOTROPOWY – NOWE MECHANIZMY DZIAŁANIA

MAREK SARACYN

Klinika Endokrynologii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

Pod opieką Kliniki Endokrynologii i Terapii Izotopowej Wojskowego Instytutu Medycznego (KEiTI WIM) w Warszawie pozostaje jedna z największych w Polsce grup chorych na raka tarczycy. Rocznie z tego powodu w KEiTI WIM leczonych jest ok. 300 chorych. U tych chorych oprócz skuteczności leczenia analizowane jest również bezpieczeństwo stosowanej terapii. W tym przypadku analizie poddano grupę chorych leczonych w KEiTI WIM z powodu raka tarczycy radiojodem. Byli to chorzy po operacji usunięcia tarczycy, poddani terapii uzupełniającej, podczas której otrzymują lecznicze dawki radiojodu celem zniszczenia ewentualnych pozostałości tkanki tarczycowej i komórek nowotworowych.

Znaliśmy wcześniej bardzo dobrze efekty działania TSH na tarczycę, wiedzieliśmy też o lokalizacji pozatarczycowej receptorów dla TSH, ale do końca nie wiedzieliśmy jaką spełniają rolę. Po raz pierwszy w literaturze medycznej pokazaliśmy jak TSH w sposób bezpośredni i niezależny może wpływać, bez udziału wolnych hormonów tarczycy, na ukrwienie i funkcję nerek. Co ciekawe, okazało się iż TSH wywierał swój wpływ niezależnie nie tylko od hormonów tarczycy, ale również od istotnych parametrów układu krążenia, takich jak częstość akcji serca czy ciśnienie tętnicze krwi. Wpływ ten dokonuje się prawdopodobnie za pośrednictwem swoistych dla TSH receptorów, zlokalizowanych m.in. w naczyniach krwionośnych nerek.

Po raz pierwszy w literaturze pokazaliśmy nowy mechanizm działania TSH, jego wpływ na ukrwienie i funkcję nerek. Praca powstała we współpracy z Zespołem prof. Leonarda Wartofsky'ego z Georgetown University z Waszyngtonu, jednego ze światowych liderów badań nad chorobami tarczycy, a opublikowana została w *Thyroid*, czasopiśmie endokrynologicznym o najwyższej punktacji zarówno międzynarodowej jak i krajowej.

Znając te mechanizmy będziemy mogli m.in. w lepszy i bardziej bezpieczny sposób modyfikować stosowane przez nas leczenie chorych na nowotwory tarczycy, indywidualizować terapię do potrzeb poszczególnych chorych, zwłaszcza u tych z niewydolnością nerek.

## THYROID-STIMULATING HORMONE – NEW MECHANISMS OF ACTION

*MAREK SARACYN*

Department of Endocrinology and Radioisotope Therapy, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland

Although thyrotropin (TSH) receptors (TSH-Rs) are found in many non-thyroid tissues, we know little about the direct action of TSH on these receptors. Patients after total thyroidectomy for differentiated thyroid cancer (DTC) provide an interesting model for studying this issue. The administration of exogenous TSH in patients with an established thyroid state on L-thyroxine (LT4) treatment allows us to study the effect of elevated TSH concentrations independent of thyroid status on the function of various organs, including the kidneys. The aim of this study was to assess the effects of the administration of recombinant human TSH (rhTSH) on renal perfusion and glomerular filtration in this group of patients.

The study included patients after total thyroidectomy due to DTC, without concomitant diseases, receiving only LT4 who qualified for radioiodine treatment (RIT). For two consecutive days, the patients received rhTSH, and subsequently the RIT. Clinical and biochemical evaluation of thyroid and renal function was carried out before and 24 hours after the second dose of rhTSH, and before the RIT. On the sixth day of hospitalization, the patients' glomerular filtration rate (GFR) was re-evaluated. Kidney perfusion was assessed using Color Doppler ultrasound imaging, before and 24 hours after the second dose of rhTSH, and before the RIT.

The administration of rhTSH to patients after total thyroidectomy due to DTC caused significant deterioration of renal perfusion after the second dose of rhTSH before the RIT, which was followed by a significant reduction in glomerular filtration. Furthermore, rhTSH did not significantly affect the hemodynamic parameters that could worsen renal function.

Our work indicates that TSH alone, independent of thyroid hormone concentrations, can influence renal perfusion and renal function.

## KOMÓRKOWE I MOLEKULARNE MECHANIZMY DZIAŁANIA LIZATÓW BAKTERYJNYCH W CHOROBYCH ALERGICZNYCH

KAMIL JANECEK

Klinika Chorób Płuc i Reumatologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Ze względu na dużą częstość występowania chorób alergicznych, ich niekorzystny wpływ na jakość życia oraz niepełną skuteczność dotychczas dostępnych metod, ciągle poszukuje się nowych sposobów terapii. Jedną z opcji terapeutycznych mogą być lizaty bakteryjne (ang. *bacterial lysates*, BLs) wykazujące właściwości immunomodulujące. BLs są mieszaniną antygenów, które pozyskuje się z inaktywowanych bakterii, będących najczęstszymi czynnikami etiologicznymi zakażeń układu oddechowego.

Istotnym ogniwem w mechanizmie działania preparatów immunostymulujących są komórki dendrytyczne. BLs oddziałują za pośrednictwem receptorów Toll-podobnych z komórkami dendrytycznymi w błonie śluzowej górnych dróg oddechowych i przewodu pokarmowego. Prezentacja antygenów bakteryjnych przez komórki dendrytyczne pobudza wrodzoną odpowiedź immunologiczną, prowadząc do uwalniania licznych chemokin stymulujących dojrzewanie monocytów, komórek NK oraz promując migrację wielojądrzastych neutrofilów. Ponadto BLs wpływają na odporność adaptacyjną poprzez stymulowanie limfocytów B do produkcji swoistych przeciwciał. BLs wykazują działanie przeciwzapalne, ale także przywracają równowagę limfocytów Th1/Th2, której zaburzenia leżą u podstaw chorób alergicznych. Wpływając na komórki dendrytyczne, BLs obniżają poziom cytokin Th2 (IL-4, IL-13) i podwyższają poziom cytokin Th1 (IFN- $\gamma$ ). Przywrócenie i utrzymanie równowagi Th1/Th2 zmniejsza intensywność zapalenia alergicznego i tym samym poprawia przebieg kliniczny chorób alergicznych.

## CELLULAR AND MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION OF BACTERIAL LYSATES IN ALLERGIC DISEASES

*KAMIL JANECEK*

Department of Pulmonary Diseases and Children Rheumatology, Medical University of Lublin

Due to the high prevalence of allergic diseases, their negative impact on the quality of life and incomplete effectiveness of the available methods, new methods of therapy are constantly sought. One of the therapeutic options may be bacterial lysates (BLs) known for having immunomodulatory properties. They consist of antigen mixture obtained through lysis of bacteria which are the most common etiologic agents of respiratory tract infections.

They interact with dendritic cells located in the mucous membranes of the upper respiratory tract and the gastrointestinal tract by toll-like receptors. The dendritic cells present acquired antigens resulting in innate immune response development in behalf of release of chemokines both stimulating monocytes and NK cells maturation and promoting polymorphonuclear neutrophil migration. Moreover, they influence the adaptive immune system by stimulating type B lymphocytes to produce specific antibodies. The significance of BLs includes not only an anti-inflammatory effect on local infections, but also restoration of Th1/Th2 balance, whose disturbances underlay allergic diseases' occurrence. By affecting dendritic cells, BLs decrease Th2-related cytokine levels (IL-4, IL-13) and increase Th1-related cytokine levels (IFN- $\gamma$ ). The reestablishment of the immune responses balance leads to lowering atopic reactions incidence which in addition to reduced risk of inflammation provides the alleviation and improvement of clinical manifestations of allergic disorders.

## GENY *EVER1* I *EVER2* W ZDROWIU I CHOROBI

JACEK MALEJCZYK

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Centrum Biostruktury, Warszawski Uniwersytet Medyczny;  
jacek.malejczyk@wum.edu.pl

*EVER1* (*TMC6*) i *EVER2* (*TMC8*) to dwa sąsiadujące ze sobą geny zlokalizowane w regionie chromosomu 17q25.3. Kodowane przez nie białka należą do rodziny białek przezłonowych TMC (*Transmembrane channel-like*) zbudowanych z 6 do 10 domen przezłonowych. Rola białek TCM nie jest dokładnie poznana, przypuszcza się jednak, że są one częścią jonowych kanałów przezłonowych bądź ich regulatorami. Białka *EVER1* i *EVER2* zlokalizowane są głównie w błonach siateczki wewnątrzplazmatycznej, aparatu Golgiego i jądra komórkowego. Ich ekspresję wykazano w mysiej skórze, wątrobie, nerce, sercu, mózgu i tkankach limfatycznych. Ponadto w ludzkich keratynocytach i komórkach limfatycznych: limfocytach T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup>, limfocytach B, komórkach NK, komórkach dendrytycznych. Najwyższą ekspresję obserwuje się w tkankach limfatycznych. Białka *EVER* mogą regulować wewnątrzkomórkowe stężenie cynku wiążąc się z błonowym transportem cynku Znt1, odpowiedzialnym za usuwanie jonów cynku z cytozolu, głównie poprzez ich napływ do wnętrza siateczki śródplazmatycznej. Ponadto kompleks *EVER/Znt-1* zmniejsza aktywność czynników transkrypcyjnych JUN i całego kompleksu AP-1, prawdopodobnie poprzez wpływ na zależną od cynku aktywację kinazy JNK. Zaobserwowano, że ekspresja *EVER1/2* jest hamowana w wyniku aktywacji komórek (limfocytów, keratynocytów).

Mutacje *EVER1/2* powodują podatność na infekcję wirusami ®-HPV, co prowadzi do rozwoju rzadkiej, dziedzicznej choroby *Epidermodysplasia verruciformis* (EV). Jednak mechanizm ich działania nie został dokładnie zbadany. Co ciekawe, wykazano również, że infekcja ®-HPV ma również związek z łuszczycą, przewlekłą autozapalną chorobą skóry. Mając na uwadze związek pomiędzy *EVER1/2* i infekcją ®-HPV postanowiliśmy zbadać poziom ekspresji tych genów w zmianach łuszczycowych. Okazało się, że ekspresja *EVER1/2* w naskórku w zmianach łuszczycowych jest zahamowana zarówno na poziomie swoistego mRNA jak i białka. Podobnej zależności nie wykryto w atopowym zapaleniu skóry. Sugeruje to, że geny *EVER1/2* pełnią rolę w patogenezie łuszczycy. Ponadto udało się ustalić, że za zahamowanie ekspresji mRNA *EVER1* w keratynocytach odpowiada IL-17, główna cytokina odpowiedzialna za immunopatogenezę łuszczycy. Co ciekawe, ekspresja mRNA *EVER1* w keratynocytach była natomiast stymulowana przez TNF i TGF-β. Mając na uwadze, że IL-17 jest stymulatorem proliferacji keratynocytów zaś TNF i TGF-β ją hamują można uznać, że zmiany ekspresji *EVER1/2* są bezpośrednio lub pośrednio powiązane z mechanizmami regulacji proliferacji komórek. Związek ten wymaga dalszych badań.

## EVER1 AND EVER2 GENES IN HEALTH AND DISEASE

JACEK MALEJCZYK

Department of Histology and Embryology, Center for Biostructure, Medical University of Warsaw;  
jacek.malejczyk@wum.edu.pl

*EVER1* (*TMC6*) and *EVER2* (*TMC8*) neighboring genes are localized in 17q25.3 chromosome region. Proteins encoded by these genes belong to the family of Transmembrane channel-like (TCM) proteins consisting of 6 up to 10 transmembrane domains. Their role is obscure; however, it is speculated that they play a role of transmembrane ion channels or act as their regulators. *EVER1/2* proteins are mainly localized in the membranes of endoplasmic reticulum, Golgi complex and nucleus. Their expression has been shown in murine skin, liver, kidneys, heart, brain, and lymphatic system. In humans they were found in keratinocytes and lymphatic cells, e.g., CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells, B cells, NK cells, and dendritic cells. The highest expression of *EVER1/2* proteins was reported in the lymphatic tissue. *EVER1/2* proteins appear to regulate intracellular Zn<sup>2+</sup> concentration by binding Znt1, a membrane zinc transporter responsible for removal of zinc from cytoplasm to endoplasmic reticulum. Furthermore, *EVER/Znt-1* complex was found to decrease JUN and AP-1 transcription complex activity possibly via interfering with Zn<sup>2+</sup>-dependent activation of JNK. It was found that *EVER1/2* expression is inhibited in course of activation of both lymphocytes and keratinocytes.

Mutations in *EVER1/2* genes result in susceptibility to infection with ®-HPV that leads to a rare congenital disease *Epidermodysplasia verruciformis* (EV). The mechanism of protective role of *EVER1/2* remains poorly understood. Increased rate of infection with ®-HPV was also reported to be associated with psoriasis, a lifelong autoinflammatory skin disorder. Considering this we were aimed at investigating *EVER1/2* expression in psoriatic lesions. We found that *EVER1/2* expression is inhibited in psoriatic lesions at the level of both specific mRNA and protein. Similar phenomenon was not observed in atopic dermatitis lesions. This may suggest that *EVER1/2* genes play a role in the pathogenesis of psoriasis. It was found that specific inhibition of *EVER1/2* mRNA expression in keratinocytes was mediated by IL-17, a key cytokine responsible for immunopathogenesis of psoriasis. Interestingly, expression of *EVER1/2* in keratinocytes was stimulated by TNF and TGF-β. Considering IL-17 as a known keratinocyte growth stimulator and TNF and TGF-β as inhibitors it looks that differential *EVER1/2* expression is linked to the regulatory mechanisms of cell proliferation. This, however, requires further investigations.

## TRANSLATIONALLY CONTROLLED TUMOUR PROTEIN (TCTP) JAKO CEL TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

JACEK KUBIAK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych – LOMTI, WIM, Szaserów 128, Warszawa.

<sup>2</sup> CNRS, UMR 6290 Institut de Génétique et du Développement de Rennes (IGDR), Université Rennes1, Rennes, Francja

TCTP (Translationally Controlled Tumor-associated Protein) ma niezwykle ważne funkcje w fizjologii i w homeostazie komórki [1]. Jego nokaut genetyczny u myszy powoduje śmierć zarodka, co wskazuje na znaczenie białka TCTP w procesie rozwoju [2]. Co ważne, mysie fibroblasty embrionalne (MEFs) uzyskane z myszy TCTP *-/-* proliferują normalnie w hodowli tkankowej [2]. Ta obserwacja pokazuje, że MEF nie wymagają TCTP do swoich normalnych funkcji w przeciwieństwie do innych typów komórek zarodka, u których brak TCTP prowadzi do śmierci. A więc obniżony poziom TCTP w różnych typach komórek może wywoływać bardzo różne skutki. Wiele typów nowotworów wykazuje nadmierną ekspresję TCTP często skorelowaną z agresywnością i ze stopniem zaawansowania choroby [3]. Wyciszenie ekspresji białka TCTP jest jednym z głównych czynników wywołujących odwracanie fenotypu nowotworowego (ang. *tumor reversion*) w komórkach rakowych [4]. Od czasu tego odkrycia białko to jest jednym z głównych celów terapeutycznych dla potencjalnych terapii przeciwnowotworowych [5]. Tak my [6] jak i inni autorzy [7] wykazaliśmy, że obniżeniu poziomu TCTP w komórkach raka jajnika towarzyszy wzrost ekspresji supresora nowotworów – białka p53. TCTP i p53 wzajemnie kontrolują swój poziom w komórkach rakowych. p53 hamuje ekspresję TCTP, podczas gdy TCTP wyzwała proteolityczną degradację p53. Ta wzajemna kontrola pozwala na utrzymanie homeostazy proliferacji i apoptozy komórek. Jej zachwianie na korzyść TCTP jest istotnym czynnikiem wzmacniającym nowotworowy fenotyp komórek.

W moim wykładzie przedstawię nowe dane dotyczące degradacji proteolitycznej TCTP, jego udziału w regulacji procesów apoptozy i proliferacji komórek i perspektywy badań nad wyjaśnieniem roli TCTP w regulacji cyklu komórkowego i cytoszkieletu komórki.

### Literatura:

- [1] Kubiak, J.Z., Kloc, M., 2017. Elusive Role of TCTP Protein and mRNA in Cell Cycle and Cytoskeleton Regulation. *Results Probl Cell Differ.* 64:217-225.
- [2] Chen, S.H., Wu, P.S., Chou, C.H., Yan, Y.T., Liu, H., Weng, S.Y., Yang-Yen, H.F., 2007. A knockout mouse approach reveals that TCTP functions as an essential factor for cell proliferation and survival in a tissue- or cell type-specific manner. *Mol Biol Cell.* 18(7):2525-32.

- [3] Gu, X., Yao, L., Ma, G., Cui, L., Li, Y., Liang, W., Zhao, B., Li, K., 2014. TCTP promotes glioma cell proliferation via enhanced  $\beta$ -catenin/TCF-4 transcription. *Neuro Oncol.* 16 : 217-27.
- [4] Tuynder, M., Fiucci, G., Prieur, S., Lespagnol, A., Géant, A., Beaucourt, S., Duflaut, D., Besse, S., Susini, L., Cavarelli, J., Moras, D., Amson, R., Telerman, A., 2004. Translationally controlled tumor protein is a target of tumor reversion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(43):15364-9.
- [5] Bommer, U.A., Telerman, A., 2020. Dysregulation of TCTP in Biological Processes. *Cells* 9(7):1632.
- [6] Kloc, M., Tejpal, N., Sidhu, J., Ganachari, M., Flores-Villanueva, P., Jennings, N.B., Sood, A.K., Kubiak, J.Z., Ghobrial, R.M., 2012. Inverse relationship between TCTP/RhoA and p53 /cyclin A/actin expression in ovarian cancer cells. *Folia Histochem Cytobiol.* 50(3):358-67.
- [7] Amson, R., Pece, S., Lespagnol, A., Vyas, R., Mazzarol, G., Tosoni, D., Colaluca, I., Viale, G., Rodrigues-Ferreira, S., Wynendaele, J., Chaloin, O., Hoebeke, J., Marine, J.C., Di Fiore, P.P., Telerman, A., 2011. Reciprocal repression between P53 and TCTP. *Nat Med.* 18(1):91-9.



## TRANSLATIONALLY CONTROLLED TUMOUR PROTEIN (TCTP) AS TARGET OF ANTI-CANCER THERAPY

JACEK KUBIAK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych – LOMTI, WIM, Szaserów 128, Warszawa.

<sup>2</sup>CNRS, UMR 6290 Institut de Génétique et du Développement de Rennes (IGDR), Université Rennes1, Rennes, Francja

TCTP (Translationally Controlled Tumor-associated Protein) has extremely important functions in cell physiology and homeostasis [1]. Its genetic knockout in mice is embryo lethal, indicating the importance of TCTP in developmental processes [2]. Importantly, murine embryonic fibroblasts (MEFs) obtained from TCTP – / – mice proliferate normally in tissue culture [2]. This observation shows that MEFs do not require TCTP for their normal functions, unlike other types of embryonic cells in which the absence of TCTP leads to death. Therefore, lowered TCTP levels in different cell types can have variable effects. Many types of cancers show overexpression of TCTP often correlated with aggressiveness and severity of the disease [3]. Silencing of TCTP protein expression is one of the major triggers of tumor reversion in cancer cells [4]. Since this discovery, this protein has been one of the major therapeutic targets for potential anti-cancer therapies [5]. We [6] and others [7] have shown that lowering the level of TCTP in ovarian cancer cells is accompanied by an increase in the expression of the major tumor suppressor protein p53. TCTP and p53 mutually control each other in cancer cells. p53 inhibits TCTP expression while TCTP triggers proteolytic degradation of p53. This mutual control allows the maintenance of cell proliferation and apoptosis homeostasis. Its disruption in favor of TCTP is an important factor that strengthens the neoplastic phenotype of cells.

In my lecture I will present new data on the proteolytic degradation of TCTP, its participation in the regulation of the processes of apoptosis and cell proliferation, and research perspectives on the role of TCTP in regulation of the cell cycle and the cytoskeleton of the cell.

### References:

- [1] Kubiak, J.Z., Kloc, M., 2017. Elusive Role of TCTP Protein and mRNA in Cell Cycle and Cytoskeleton Regulation. *Results Probl Cell Differ.* 64:217-225.
- [2] Chen, S.H., Wu, P.S., Chou, C.H., Yan, Y.T., Liu, H., Weng, S.Y., Yang-Yen, H.F., 2007. A knockout mouse approach reveals that TCTP functions as an essential factor for cell proliferation and survival in a tissue- or cell type-specific manner. *Mol Biol Cell.* 18(7):2525-32.

- [3] Gu, X., Yao, L., Ma, G., Cui, L., Li, Y., Liang, W., Zhao, B., Li, K., 2014. TCTP promotes glioma cell proliferation via enhanced  $\beta$ -catenin/TCF-4 transcription. *Neuro Oncol.* 16 : 217-27.
- [4] Tuynder, M., Fiucci, G., Prieur, S., Lespagnol, A., Géant, A., Beaucourt, S., Duflaut, D., Besse, S., Susini, L., Cavarelli, J., Moras, D., Amson, R., Telerman, A., 2004. Translationally controlled tumor protein is a target of tumor reversion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(43):15364-9.
- [5] Bommer, U.A., Telerman, A., 2020. Dysregulation of TCTP in Biological Processes. *Cells* 9(7):1632.
- [6] Kloc, M., Tejpal, N., Sidhu, J., Ganachari, M., Flores-Villanueva, P., Jennings, N.B., Sood, A.K., Kubiak, J.Z., Ghobrial, R.M., 2012. Inverse relationship between TCTP/RhoA and p53 /cyclin A/actin expression in ovarian cancer cells. *Folia Histochem Cytobiol.* 50(3):358-67.
- [7] Amson, R., Pece, S., Lespagnol, A., Vyas, R., Mazzarol, G., Tosoni, D., Colaluca, I., Viale, G., Rodrigues-Ferreira, S., Wynendaele, J., Chaloin, O., Hoebeke, J., Marine, J.C., Di Fiore, P.P., Telerman, A., 2011. Reciprocal repression between P53 and TCTP. *Nat Med.* 18(1):91-9.

## KORONAWIRUSY – STAŁE ZAGROŻENIE

ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI, EDYTA KACZOREK-ŁUKOWSKA

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, 10-917 Olsztyn-Kortowo, ul. Oczipowskiego 13

Koronawirusy (rzęd *Nidovirales*, rodzina *Coronaviridae*; CoVs) zaliczane są do wysoce zróżnicowanej grupy patogenów wykazujących silne działanie patogene wobec wielu gatunków niższych i wyższych kręgowców, w tym człowieka. Należą do wirusów otoczkowych, których genom stanowi RNA o znaczącej wielkości (od 27 do 32 kb), co powoduje, że jest to jeden z największych znanych genomów wśród wirusów RNA. Wszystkie znane CoVs wykazują podobną organizację genomu. Jednakże cechują się dużą zmiennością genetyczną, która w znaczący sposób wpływa na ich właściwości biologiczne, a przede wszystkim na patogenność, szybką adaptację do nowych gospodarzy, zmienny tropizm komórkowy czy tkankowy, co często prowadzi do pojawienia się chorób zakaźnych o nieznanym wcześniej przebiegu klinicznym. Zmiany genetyczne powstają najczęściej w następstwie wymiany fragmentów genomu pomiędzy różnymi wirusami oraz pozyskiwania czy utraty genów białek pomocniczych, co może prowadzić do drastycznych zmian w fenotypie wirusa objawiające się szybką adaptacją do różnych gospodarzy, zdolnością do unikania jego odpowiedzi immunologicznej, a nawet zjadliwości wirusa. Tak wielka zmienność koronawirusów jest wypadkową dwóch czynników: niezwykle labilnego RNA oraz brak mechanizmów naprawczych dla enzymu RNA-zależnej polimerazy RNA. Na podstawie różnic genetycznych w obszarze kodujących enzym replikazę wyróżnia się cztery rodzaje: *Alpha*-, *Beta*-, *Gamma*- oraz *Deltacoronavirus*. Szczególnie patogenne dla zwierząt i człowieka są alfa- i beta- koronawirusy. Wywołują one szerokie spektrum chorób dotyczących układu oddechowego, pokarmowego, nerwowego i wydalniczego. Pierwszy koronawirus człowieka (HCoV-229E) opisano w 1966 roku, a rezerwuarem tego wirusa są nietoperze. W ostatnim 20-leciu miały miejsce dwie poważne epidemie (SARS-CoV-1, MERS) oraz pandemia Covid-19 (SARS-CoV-2) u ludzi. Natomiast u zwierząt towarzyszących człowiekowi duże zagrożenie występuje u psów oraz kotów, szczególnie koronawirusowe zapalenie jelit oraz zakaźne zapalenie otrzewnej kotów. Również koronawirusy zwierząt wolnożyjących (jeże, tchórzofretki, wieloryby, foki) oraz koni uznano za nowe zagrożenie. Pilnym i bardzo istotnym zagadnieniem epidemiologicznym oraz filogenetycznym są koronawirusy u nietoperzy czy węży, które coraz częściej mają szybką zdolność adaptacyjną do organizmu człowieka i zwierząt, wywołując groźne epidemie, a nawet pandemie.

## CORONAVIRUSES – A CONSTANT THREAT

ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI, EDYTA KACZOREK-ŁUKOWSKA

University of Warmia and Mazury, Department Microbiology and Clinical Immunology, 10-917 Olsztyn-Kortowo, Oczapowskiego 13

Coronaviruses (order Nidovirales, family Coronaviridae; CoVs) are included in a highly diverse group of pathogens that exhibit potent pathogenic activity against many species of lower and higher vertebrates, including humans. They belong to the enveloped viruses whose genome is an RNA of significant size (27 to 32 kb), making it one of the largest known genomes among RNA viruses. All known CoVs exhibit a similar genome organization. However, they are characterized by high genetic variability, which significantly affects their biological properties, most notably pathogenicity, rapid adaptation to new hosts, variable cellular or tissue tropism, which often leads to the emergence of infectious diseases with a previously unknown clinical course. Genetic changes occur most often as a result of exchange of genome fragments between different viruses and gain or loss of accessory protein genes, which can lead to drastic changes in the phenotype of the virus manifested by rapid adaptation to different hosts, ability to evade its immune response and even virulence of the virus. Such great variability in coronaviruses is the result of two factors: extremely labile RNA and the lack of repair mechanisms for the RNA-dependent enzyme RNA polymerase. Based on genetic differences in the area encoding the replicase enzyme, four genera are distinguished: Alpha-, Beta-, Gamma-, and Deltacoronaviruses. Alpha- and beta-coronaviruses are particularly pathogenic to animals and humans. They cause a broad spectrum of diseases affecting the respiratory, gastrointestinal, nervous, and excretory systems. The first human coronavirus (HCoV-229E) was described in 1966, and bats are the reservoir of this virus. In the last 20 years there have been two major epidemics (SARS-CoV-1, MERS) and the Covid-19 pandemic (SARS-CoV-2) in humans. In companion animals, dogs and cats are at high risk, especially feline coronavirus enteritis and feline infectious peritonitis. Coronaviruses of free-living animals (hedgehogs, polecats, whales, seals) and horses are also considered a new threat. An urgent and very important epidemiological and phylogenetic issue are coronaviruses in bats or snakes, which increasingly have a rapid adaptability to human and animal organisms, causing dangerous epidemics or even pandemics.

## SZCZEPIENIA REKOMENDOWANE U DOROSŁYCH

TERESA JACKOWSKA

Klinika Pediatrii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Marymoncka 99/103; 01-813 Warszawa

Szczepienia nie są tylko dla dzieci. Wszyscy dorośli co roku powinni być szczepieni przeciwko **grypie** sezonowej. Każda osoba dorosła co 10 lat powinna otrzymać szczepionkę **Tdap (tężec, błonica, krztusiec)**. U osób w wieku 19-26 lat należy zalecać szczepionkę przeciw **HPV**, która chroni przed tymi typami wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV), które są odpowiedzialne za raka szyjki macicy, odbytu i inne nowotwory, a także brodawki narządów płciowych. U osób dotychczas nie szczepionych powinna być zalecana szczepionka przeciwko **wirusowemu zapaleniu wątroby typu B (wzw typu B)**. Szczepionka zapewnia ochronę przed wzw typu B, które może powodować ciężkie choroby wątroby jak marskość, raka wątroby, a nawet prowadzić do zgonu.

**Osobom powyżej 65 roku życia** rekomendujemy **skoniugowaną szczepionką przeciwko pneumokokom (PCV13, PCV15 lub PCV20)**, która chroni przed **inwazyjną chorobą pneumokokową (ICHp) i zapaleniem płuc**. Szczepionka zalecana jest osobom, które nigdy nie otrzymały skoniugowanej szczepionki przeciw pneumokokom. Jeśli stosuje się szczepionkę PCV13 lub PCV15, należy podać jedną dawkę polisacharydowej szczepionki pneumokokowej (PPSV23).

Osoby dorosłe (powyżej 19 roku życia) mogą wymagać dodatkowych szczepionek, jeśli chorują na którąkolwiek z poniższych chorób: asplenia, cukrzyca, choroby serca, udar, zakażenie HIV, choroby wątroby, choroby płuc w tym astmę, choroby nerek, zaburzenia odporności (**skoniugowaną szczepionką przeciwko pneumokokom i szczepionkę meningokową B i ACWY**).

**Kobiety w ciąży** – zalecamy podczas każdej ciąży szczepionkę **Tdap** (pomiędzy 27 a 36 tygodniem ciąży) w celu ochrony przed krztuścem oraz przeciwko **grypie** (od października do maja).

**Pracownicy służby zdrowia.** Oprócz szczepionki przeciwko grypie sezonowej i Tdap należy również zalecać szczepienia przeciwko: **wirusowemu zapaleniu wątroby typu B, MMR (odra, świnka i różyczka), ospie wietrznej, meningokokom.**

## VACCINES RECOMMENDED FOR ADULTS

TERESA JACKOWSKA

Department of Pediatrics, Centre of Postgraduate Medical Education, Marymoncka 99/103; 01-813 Warszawa

Immunizations are not just for children. All adults need a **seasonal flu** vaccine every year. Every adult should get a **Tdap vaccine (tetanus, diphtheria, pertussis)** every 10 years. Adult 19-26 years old, should also get **HPV vaccine**, which protects against the types of human papillomaviruses (HPV) that cause most cervical, anal, and other cancers, as well as genital warts. In addition, the **hepatitis B vaccine** is recommended for all adults. The vaccine provides protection from hepatitis B which can cause serious health problems, including liver damage, cirrhosis, liver cancer, and even death.

**Adults aged 65 years or older** we should also recommend **pneumococcal conjugate vaccine (PCV13, PCV15 or PCV20)**, which protects against invasive pneumococcal disease (IPD) and pneumonia. Vaccine is recommended adults who have never received a pneumococcal conjugate vaccine. If PCV13 or PCV15 is used, it should be followed by a dose of pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23).

**Adults (above 19 years old)** may be additional vaccines if have any of these conditions: asplenia, diabetes, heart disease, stroke, HIV infection, liver disease, lung disease including asthma, renal disease, weakened immune system (**pneumococcal conjugate vaccine and meningococcal B and ACWY vaccine**).

**Pregnant** – is recommended during each pregnancy **Tdap vaccine** (between 27 and 36 weeks of pregnancy to help protect against whooping cough and **seasonal flu** vaccine (during flu season, which is October through May).

**Healthcare workers.** In addition to seasonal flu vaccine and Tdap vaccine should also get vaccination: **Hepatitis B, MMR (Measles, Mumps, & Rubella), Varicella (Chickenpox)**, and **meningococcal vaccine**.

## IMMUNOMODULACJA JAKO PODSTAWOWY ELEMENT OCHRONY ZDROWIA CZŁOWIEKA – WYBRANE LEKI O DZIAŁANIU IMMUNOMODULUJĄCYM STOSOWANE W INFЕКCJACH

BARBARA-JOANNA BAŁAN<sup>1</sup>, MARTA STELMAŚIAK<sup>2</sup>, BOGDAN HAJDUK<sup>3</sup>, SŁAWOMIR LEWICKI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych Alergologii i Immunologii, Wydział Nauk o Zdrowiu, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska,

<sup>2</sup> Katedra Medycyny, Wydział Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Technologiczno-Humanistyczny im. Kazimierza Pułaskiego w Radomiu, Polska,

<sup>3</sup> TS Klinika Przychodnia Diagnostyki i Terapii Chorób Serca, Płuc i Naczyń, Centrum Leczenia Przewlekłego, Polska,

<sup>4</sup> Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN, Polska

Rośliny i produkty z nich powstałe były używane od czasów starożytnych w leczeniu wielu dolegliwości i schorzeń. Modulacja funkcji układu immunologicznego z wykorzystaniem roślin leczniczych i ich produktów jest obecnie jednym z przyjętych podejść terapeutycznych. Immunomodulacji odpowiedzi immunologicznej może stanowić alternatywę lub wspomagać konwencjonalne leczenie wielu różnych chorób w tym infekcyjnych wywołanych przez wirusy. Odporność jest procesem niezwykle skomplikowanym, posiadającym wiele kompleksowych mechanizmów, pozwalających odróżnić obcy materiał od „własnego” i go zneutralizować i/lub wyeliminować. Badania immunologii klinicznej i eksperymentalnej sugerują, że wiele chorób powstaje z powodu stresujących warunków środowiskowych, które wpływają na podatność na infekcje i nowotwory złośliwe. W niniejszej pracy przedstawiono właściwości wybranych gatunków roślin wykazujących charakter immunotropowy (*Echinacea purpurea*, *Tea Tree Essential Oil*, *Aloevera*, *Mangostan*, Kwiat bzu czarnego, ziele *Werbena*, *Gentiana* *aerodix* i inne).

## IMMUNOMODULATION AS A BASIC ELEMENT OF HUMAN HEALTH PROTECTION – SELECTED DRUGS WITH IMMUNOMODULATING PROPERTIES USED IN INFECTIONS

BARBARA-JOANNA BAŁAN<sup>1</sup>, MARTA STELMASIAK<sup>2</sup>, BOGDAN HAJDUK<sup>3</sup>, SŁAWOMIR LEWICKI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Prevention of Environmental Risks, Allergology and Immunology, Faculty of Health Sciences, Medical University of Warsaw, Poland,

<sup>2</sup> Department of Medicine, Faculty of Medical Sciences and Health Sciences, University of Technology and Humanities Kazimierza Pułaskiego in Radom, Poland,

<sup>3</sup> TS Clinic, Outpatient Clinic for the Diagnostics and Therapy of Heart, Lung and Vascular Diseases, Center for Anticoagulation Treatment, Poland,

<sup>4</sup> Department of Molecular Biology, Institute of Animal Genetics and Biotechnology of the Polish Academy of Sciences, Poland

Plants and products derived from them have been used since ancient times in the treatment of many ailments and diseases. Modulation of immune system functions using medicinal plants and their products is presently one of the accepted therapeutic approaches. Immunomodulating the immune response can provide an alternative or aid in conventional therapy of many different diseases, including infectious diseases caused by viruses. Immunity is an extremely complex process with many complex mechanisms to distinguish a foreign material from “own one” and to neutralize and / or eliminate it. Research in clinical and experimental immunology suggests that many diseases arise from stressful environmental conditions that affect susceptibility to infections and malignancies. This paper presents the properties of selected plant species showing an immunotropic nature (*Echinacea purpurea*, *Tea Tree Essential Oil*, *Aloe vera*, *Mangosteen*, *Elderflower*, *Verbena herb*, *Gentianae radix* and others).



## BURZA CYTOKINOWA JAKO PROBLEM INTENSYWNEJ TERAPII

*DOROTA SIWICKA-GIEROBA, WOJCIECH DĄBROWSKI*

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, ul Jaczewskiego 8, 20-840 Lublin

Zjawisko „burzy cytokinowej” w kontekście leczenia pacjentów w Oddziałach Intensywnej Terapii jest tematem licznych doniesień naukowych na przestrzeni ostatnich kilku lat. Pandemia COVID-19, która stała się istotnym wyzwaniem dla funkcjonowania Oddziałów Intensywnej Terapii na całym świecie, w szczególności zwróciła uwagę na obecność i wpływ niekontrolowanego wyrzutu cytokin na stan kliniczny i postępowanie z pacjentami z ciężką niewydolnością wielonarządową.

Zjawisko nagłego, ostrego wzrostu poziomu krążących cytokin prozapalnych, w tym IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$  i interferonu powoduje napływ komórek odpornościowych, takich jak makrofagi, neutrofile i limfocyty T, skutkując destrukcyjnym wpływem na tkanki i narządy. Wzrost cytokin powoduje destabilizację interakcji komórek, uszkodzenie bariery naczyniowej, uszkodzenie naczyń włosowatych, rozlane uszkodzenie pęcherzyków płucnych, niewydolność wielonarządową i ostatecznie śmierć. Uszkodzenie płuc jest jedną z konsekwencji powyższego zjawiska, doprowadzając do ciężkiego przebiegu zespołu ostrej niewydolności oddechowej (ARDS). Ponadto następstwem zespołu wyrzutu cytokin (cytokine release syndrome, CRS) jest niewydolność serca, nerek, wątroby i układu nerwowego. Na podstawie uzyskanych w ostatnich latach wyników badań stwierdzono, iż przyczyną uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu zakażenia SARS-CoV2 jest proces neurozapalny, w którym pośredniczą cytokiny.

Odpowiedź immunologiczna pacjenta na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 jest nadaktywna, co skutkuje nadmierną ogólnoustrojową reakcją zapalną. Wyniki badań analizujących profile cytokin pacjentów z COVID-19 wykazały, iż „burza cytokinowa” była bezpośrednio skorelowana z uszkodzeniem płuc, niewydolnością wielonarządową i niekorzystnym rokowaniem w ciężkim przebiegu COVID-19.

Podsumowując, zjawisko zespołu wyrzutu cytokin jest istotnym, bezpośrednio zagrażającym życiu, stanem klinicznym, wymagającym przyjęcia na oddział intensywnej opieki medycznej. Pomimo zaawansowanych metod leczniczych nadal istnieje konieczność przeprowadzenia badań dotyczących nowych metod leczenia i postępowania z pacjentami w Oddziałach Intensywnej Terapii.

## “CYTOKINE STORM” – NOVEL OR OLD PROBLEM IN INTENSIVE CARE UNIT?

*DOROTA SIWICKA-GIEROBA, WOJCIECH DĄBROWSKI*

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii, ul Jaczewskiego 8, 20-840 Lublin

Over the last years the phenomenon of “cytokine storm” in clinical practice in intensive care unit (ICU) is the subject of numerous scientific reports. In addition, the COVID-19 pandemic, which has become a significant challenge for the functioning of ICU around the world, drew attention to the presence and impact of uncontrolled cytokine release for the clinical condition and management of patients with severe multi-organ failure.

Mentioned above, acute increase of circulating proinflammatory cytokines, including IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$  and interferon, causes an influx of different immune cells (macrophages, neutrophils and T lymphocytes) and results in destructive effects on tissues and organs. The increased level of cytokines causes destabilization of cell interactions, the vascular barrier and capillaries damage, diffuse alveolar injury, finally multi-organ failure and death. Lung damage is one major consequence, leading to the severe acute respiratory distress syndrome (ARDS). Moreover, the consequence of cytokine release syndrome (CRS) is also heart, kidneys, liver and nervous system failure. Recent clinical research documented that the potential central nervous system damage following SARS-CoV2 infection is result of neuroinflammatory processes mediated by cytokines.

The immune response of patients with SARS-CoV-2 infection is overactive, resulting in an excessive systemic inflammatory response. Recently, results of clinical studies analyzing the cytokine profiles of COVID-19 patients showed that the “cytokine storm” is directly correlated with lung damage, multi-organ failure and poor prognosis in severe COVID-19.

In summary, the phenomenon of cytokine release syndrome is an important, acute life-threatening, clinical condition requiring admission to an intensive care unit. Despite advanced clinical methods, there is still a need to conduct clinical research about new methods of treatment and management of patients in intensive care units.

## MOŻLIWOŚĆ WYKORZYSTANIA BADAŃ Z ZAKRESU BIOTECHNOLOGII ROŚLIN W MEDYCYNIE, FARMACJI I KOSMETOLOGII

AGNIESZKA SZOPA<sup>1</sup>, ELIZA Blicharska<sup>2</sup>, MARTA KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ<sup>1,3</sup>, SARA MOTYKA<sup>1</sup>, PAWEŁ KUBICA<sup>1</sup>, KAROLINA JAFERNIK<sup>1</sup>, KATARZYNA CZARNEK<sup>4</sup>, HALINA EKIERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska,

<sup>2</sup> Zakład Chemii Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4, 20-093 Lublin, Polska,

<sup>3</sup> Zakład Dermatologii, Kosmetologii i Chirurgii Estetycznej, Instytut Nauk Medycznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Stefana Żeromskiego 5, 25-369 Kielce, Polska,

<sup>4</sup> Instytut Nauk o Zdrowiu, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1 H, 20-708 Lublin, Polska

Biotechnologia roślin leczniczych, to ważna i interesująca dziedzina nauki. Roślinne kultury *in vitro* mogą być potencjalnym źródłem wielu cennych, biologicznie aktywnych związków wykorzystywanych w terapii licznych schorzeń. Roślinne kultury *in vitro* można stymulować do produkcji metabolitów stosując różne metody, jak m.in. optymalizacja warunków hodowli w zakresie składu podłoża, dobór warunków świetlnych prowadzenia kultur *in vitro* czy też stosowanie prekursorów biogenetycznych i elicytorów.

Do cennych bioaktywnych metabolitów roślinnych należą m.in. lignany, glikozydy fenylopropanoidowe, glukozynolaty, kwasy fenolowe i flawonoidy. Związki te wykazują szereg potwierdzonych działań farmakologicznych, jak działanie antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, hepatoprotekcyjne czy przeciwmikrobiotyczne.

Doświadczenia przeprowadzone przez nasz zespół udowodniły, że różne rodzaje kultur *in vitro* (agarowe, wytrząsane, bioreaktorowe) gatunków z rodzajów *Schisandra*, *Verbena*, *Nasturtium*, *Aronia* i *Salvia* (kultury 10 gatunków roślin) są bardzo bogatym źródłem wyżej wymienionych grup metabolitów. Kultury agarowe *A. × prunifolia* produkowały znaczne ilości fenolokwasów (1615,2 mg/100 g s.m. (suchej masy)), a kultury agarowe *S. henryi* i *S. rubriflora* lignanów dibenzocyklooktadienowych (873,7 i 368,5 mg/100 g DW). Kultury bioreaktorowe *V. officinalis* syntetyzowały duże ilości werbaskozydu (9516,8 mg/100 g s.m.), a kultury wytrząsane *S. hispanica* kwasu rozmarynowego (4050,4 mg/100 g s.m.). Ponadto, w kulturach *N. officinale* udowodniliśmy stymulujący wpływ suplementacji biopierwiastkami m.in. na produkcję glukozynolatów (172,9 mg/100 g s.m. dla 50 mg/L Ca).

Otrzymane wyniki mają potencjalną wartość aplikacyjną. Dowodzą, że różne rodzaje roślinnych kultur *in vitro* mogą być cennym źródłem surowców mających zastosowanie w medycynie, farmacji i kosmetologii.

## POSSIBILITY OF USING OF THE PLANT BIOTECHNOLOGY RESEARCH IN MEDICINE, PHARMACY AND COSMETOLOGY

AGNIESZKA SZOPA<sup>1</sup>, ELIZA Blicharska<sup>2</sup>, MARTA KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ<sup>1,3</sup>, SARA MOTYKA<sup>1</sup>, PAWEŁ KUBICA<sup>1</sup>, KAROLINA JAFERNIK<sup>1</sup>, KATARZYNA CZARNEK<sup>4</sup>, HALINA EKIERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Chair and Department of Pharmaceutical Botany, Medical College, Jagiellonian University, Medyczna 9, 30-688 Kraków, Poland,

<sup>2</sup> Department of Analytical Chemistry, Medical University of Lublin, Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin, Poland,

<sup>3</sup> Department of Dermatology, Cosmetology and Aesthetic Surgery, Medical College, Jan Kochanowski University, IX Wieków Kielc 19A, 25-516 Kielce, Poland,

<sup>4</sup> Institute of Health Sciences, The John Paul II Catholic University of Lublin, Konstantynów 1 H, 20-708 Lublin, Poland

Biotechnology of medicinal plants is an important and interesting field of science. Plant *in vitro* cultures can be a potential source of many valuable, biologically active compounds used in the treatment of numerous diseases. The cultures can be stimulated to produce metabolites using various methods, such as: selection of lighting conditions, optimization of culture media composition or the media supplementation with biogenetic precursors or elicitors.

Valuable bioactive plant metabolites include, among others lignans, phenylpropanoid glycosides, glucosinolates, phenolic acids and flavonoids. These compounds show numerous scientifically confirmed pharmacological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, hepatoprotective and antimicrobial properties.

The experiments carried out by our team proved that various types of *in vitro* cultures (agar, agitated, bioreactor) of species from the genera *Schisandra*, *Verbena*, *Nasturtium*, *Aronia* and *Salvia* (cultures of 10 plant species) are a very rich source of the above-mentioned groups of metabolites. *A. × prunifolia* agar cultures produced significant amounts of phenolic acids (1615.2 mg/100 g DW (dry weight)), while *S. henryi* and *S. rubriflora* agar cultures high contents of dibenzocyclooctadiene lignans (873.7 and 368.5 mg/100 g DW, respectively). *V. officinalis* bioreactor cultures synthesized large amounts of verbascoside (9516.8 mg/100 g DW), and the agitated cultures of *S. hispanica* high content of rosmarinic acid (4050.4 mg/100 g DW). Moreover, in the *N. officinale* cultures we proved the stimulating effect of supplementation with bioelements, e.g. on the production of glucosinolates (172.9 mg/100 g DW for 50 mg/L Ca).

The obtained results have a potential applicable value. They prove that various types of plant *in vitro* cultures can be a valuable source of raw materials used in medicine, pharmacy and cosmetology.

## ZWIĄZKI BIOAKTYWNE Z DŹDŻOWNIC DO ZASTOSOWANIA W MEDYCYNIE

MARTA FIOŁKA

Katedra Immunobiologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Modele zwierzęce, zwłaszcza bezkręgowce są organizmami kluczowymi do zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw procesów biologicznych. Dżdżownice dostarczały starożytnym kulturom pożywienia oraz były źródłem związków leczniczych. Dżdżownice w medycynie Południowej i Wschodniej Azji od wieków są wykorzystywane jako składnik farmaceutyków stosowanych w wielu chorobach. Od dawna dżdżownice są stosowane w Chinach, Indonezji, i Japonii w leczeniu wielu przewlekłych chorób. Dokumenty rejestrujące wykorzystanie różnych preparatów z dżdżownic sięgają 1340 roku. Bezkręgowce te w medycynie chińskiej stosuje się do leczenia ponad 80 chorób, takich jak np. astma, nadciśnienie, wrzody, padaczka, schorzenia naczyń krwionośnych czy nowotwory. Skupienie większej uwagi na dżdżownicach zrodziło się przypadkowo z obszernej analizy wrodzonego układu odpornościowego tych bezkręgowców. Dżdżownice jako niedrogie i niekontrowersyjne modele zwierzęce, nie są wektorami chorób ani siedliskiem pasożytów zagrażających ludziom.

Wykazano, że ekstrakty z dżdżownic zawierają makrocząsteczki, które wykazują szereg aktywności, takich jak przeciwbakteryjna, przeciwgrzybowa, antyoksydacyjna, przeciwzapalna i przeciwnowotworowa. Ekstrakt z *Lumbricus terrestris* wykazuje zdolność do regeneracji nerwów obwodowych po urazie. Dodatkowo substancje zawarte w preparatach z dżdżownic przyspieszają gojenie ran. Proteazy z tych bezkręgowców znane są jako czynniki fibrynolityczne i przeciwnowotworowe. Ponadto udowodniono, że proteazy wzmacniają efekt leczenia radioterapią i chemioterapią w procesie leczenia raka płuc. Związki te również zmniejszają efekt niedokrwienia mięśnia sercowego. Udowodniono działanie ochronne proteaz na mięsień sercowy zarówno u szczurów z zawałem, jak i u ludzi z chorobą wieńcową i dławicą piersiową. Opiszano ponadto liczne właściwości pasty z dżdżownic, które przyczyniają się do przyspieszenia procesu gojenia ran, takie jak działanie mitogenne, przeciwbakteryjne, ściągające i przeciwutleniające. Ekstrakt z dżdżownic znacząco wspomaga proliferację, różnicowanie i mineralizację osteoblastów oraz hamuje aktywność osteoklastów, co sugeruje, że może znaleźć zastosowanie w terapii chorób układu kostnego. Płyn celomatyczny dżdżownic zawiera ponad 40 białek, które sprawiają, że wykazuje on aktywność różnorodną biologicznie, w szczególności intensywnie badaną w ostatnich latach aktywność przeciwnowotworową.

## BIOACTIVE COMPOUNDS FROM EARTHWORMS FOR USE IN MEDICINE

MARTA FIOŁKA

Department of Immunobiology, Institute of Biological Sciences, Maria Curie-Skłodowska University in Lublin

Animal models, especially invertebrates, are key organisms to understand the mechanisms underlying biological processes. Earthworms provided food for ancient cultures and were a source of healing compounds. Earthworms in South and East Asian medicine have been used for centuries as an ingredient in pharmaceuticals for many diseases. Earthworms have long been used in China, Indonesia, and Japan to treat a variety of chronic diseases. Documents recording the use of various preparations from earthworms date back to 1340. In Chinese medicine, invertebrates are used to treat over 80 diseases, such as, for example, asthma, hypertension, ulcers, epilepsy, diseases of blood vessels and cancers. The focus of more attention on earthworms was born coincidentally from an extensive analysis of the innate immune system of these invertebrates. As inexpensive and uncontroversial animal models, earthworms are not vectors of disease or a habitat of parasites that threaten humans.

Earthworm extracts have been shown to contain macromolecules that exhibit a variety of activities such as antibacterial, antifungal, antioxidant, anti-inflammatory, and anti-cancer. *Lumbricus terrestris* extract shows the ability to regenerate peripheral nerves after an injury. Additionally, substances contained in earthworm preparations accelerate wound healing. The proteases from these invertebrates are known as fibrinolytic and antitumor agents. Moreover, proteases have been proven to enhance the effect of radiotherapy and chemotherapy in the treatment of lung cancer. These compounds also reduce the effect of myocardial ischemia. The protective effect of proteases on the heart muscle has been demonstrated in both rats with myocardial infarction and in humans with coronary artery disease and angina. In addition, numerous properties of earthworm paste have been described that contribute to the acceleration of the wound healing process, such as mitogenic, antibacterial, astringent and antioxidant effects. The extract of earthworms significantly supports the proliferation, differentiation and mineralization of osteoblasts and inhibits the activity of osteoclasts, which suggests that it can be used in the treatment of skeletal diseases. The celomic fluid of earthworms contains more than 40 proteins, which make it exhibit biodiverse activity, in particular antitumor activity, which has been intensively studied in recent years.



# **STRESZCZENIA REFERATÓW**



## ZASTOSOWANIE ZWIĄZKÓW BOGATYCH W BOR W TERAPII BOROWO-NEUTRONOWEJ

ANNA WRÓBLEWSKA<sup>1</sup>, DAWID KOZIEN<sup>2</sup>, AGNIESZKA SZCZYGIEL<sup>1</sup>, KATARZYNA WĘGIEREK-CIURA<sup>1</sup>, JAGODA MIERZEJEWSKA<sup>1</sup>, BOŻENA SZERMER-OLEARNIK<sup>1</sup>, ELŻBIETA PAJTASZ-PIASECKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław, Polska

<sup>2</sup> Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Polska

Terapia borowo-neutronowa (BNCT) jest jedną z obiecujących celowanych radioterapii dedykowanych do leczenia pacjentów z nowotworami zlokalizowanymi w trudno dostępnych obszarach oraz nie poddających się konwencjonalnemu leczeniu. Podstawą BNCT jest wprowadzenie do organizmu pacjenta związków bogatych w bor, które selektywnie docierają do tkanki guza, a następnie naświetlenie nowotworu wiązką neutronów o konkretnej energii. Wskutek naświetlania jądro boru ulega rozpadowi na jądro litu oraz cząstkę alfa w wyniku czego dochodzi do niszczenia komórek nowotworowych z jednoczesnym oszczędzeniem sąsiadujących, prawidłowych komórek. Terapia ta nadal pozostaje w fazie badań klinicznych, a jednym z głównych wyzwań dla jej rozwoju jest poszukiwanie nowych nośników selektywnie dostarczających bor do komórek nowotworowych. Wpisując się w światowy nurt badań w naszym laboratorium skupiamy się na testowaniu nowo zsyntetyzowanych, bogatych w bor dwóch preparatów węgliku boru ( $B_4C$ ) i ocenie ich aktywności biologicznej. W ramach prowadzonych badań oceniono cytotoksyczny wpływ węgliku boru na komórki prawidłowe i nowotworowe, pochodzące zarówno z mysich jak i ludzkich linii. Ponadto w celu zwiększenia selektywności dostarczania tego związku do komórek nowotworowych badane jest wykorzystanie komórek fagocytykujących pochodzących z linii komórkowych, ale również otrzymywanych ze szpiku kostnego zdrowych myszy, jako nośników  $B_4C$ . W tym celu przebadano wpływ węgliku boru na proliferację tych komórek, indukcję apoptozy, cykl komórkowy oraz produkcję cytokin. Ponadto oceniono zdolność tych komórek do pochłaniania węgliku boru. Otrzymane wyniki wskazują na potencjał badanych preparatów do zastosowania w BNCT, a ponadto są podstawą do szerszych badań nad wykorzystaniem komórek fagocytykujących do dostarczania związków bogatych w bor w tej terapii.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS17 nr 2019/33/B/NZ5/02212.

## THE USE OF BORON-RICH COMPOUNDS IN BORON NEUTRON CAPTURE THERAPY

ANNA WRÓBLEWSKA<sup>1</sup>, DAWID KOZIEN<sup>2</sup>, AGNIESZKA SZCZYGIEL<sup>1</sup>, KATARZYNA WĘGIEREK-CIURA<sup>1</sup>, JAGODA MIERZEJEWSKA<sup>1</sup>, BOŻENA SZERMER-OLEARNIK<sup>1</sup>, ELŻBIETA PAJTASZ-PIASECKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, 12 Weigla Street, 53-114 Wrocław, Poland

<sup>2</sup> AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, 30 Mickiewicza Av., 30-059 Kraków, Poland

Boron neutron capture therapy (BNCT) is one of the promising targeted radiotherapy dedicated to the treatment of patients with tumors located in hard-to-reach areas and do not respond to conventional treatment. The basis of BNCT is the introduction into the patient's body of boron-rich compounds, which are selectively targeted at the tumor tissue, and then irradiating the tumor with a neutron beam of a specific energy. As a result of irradiation, the boron nucleus is broken down into a lithium nucleus and an alpha particle, which leads to the destruction of cancer cells while sparing the adjacent, normal cells. This therapy is still at the stage of clinical trials, and one of the main challenges for its development is the search for new carriers that selectively deliver boron to cancer cells. As part of the global research trend, our laboratory focuses on testing newly synthesized two boron-rich boron carbide ( $B_4C$ ) preparations, and the assessment of their biological activity. For this purpose, the cytotoxic effect of boron carbide on normal and cancer cells, both from murine and human lines, was assessed. Moreover, in order to increase the selectivity of delivering this compound to tumor cells, the use of phagocytic cells derived from cell lines, but also obtained from the bone marrow of healthy mice, as carriers of  $B_4C$  is being investigated. For this purpose, the influence of boron carbide on the proliferation of these cells, the induction of apoptosis, the cell cycle and the production of cytokines was studied. In addition, the ability of these cells to uptake boron carbide was assessed. The obtained results show the potential of the tested preparations for use in BNCT, and are the basis for extended research on the use of phagocytic cells to deliver boron-rich compounds in this therapy.

Research was funded by National Science Centre, Poland (project no 2019/33/B/NZ5/02212).

## IDENTYFIKACJA INTERAKTOMU ENZYMÓW UBIKWITYNACJI W WARUNKACH FIZJOLOGICZNYCH I PATOLOGICZNYCH

EWA BŁASZCZAK<sup>1\*</sup>, NATALIA ŁAZAREWICZ<sup>1,2</sup>, GAËLLE LE DEZ<sup>2</sup>, ROBERT WYSOCKI<sup>1</sup>, GWENAËL RABUT<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Genetyki i Fizjologii Komórki, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, 50-328 Wrocław

<sup>2</sup> Instytut Genetyki i Biologii Rozwoju w Rennes (IGDR), CNRS UMR 6290, Uniwersytet Rennes 1, 35000 Rennes, Francja

\*autor referujący

Interakcje białko-białko (ang. protein-protein interactions, PPI) stanowią złożoną sieć oddziaływań komórkowych i leżą u podstaw prawie wszystkich procesów biologicznych, w tym replikacji DNA, transkrypcji, transdukcji sygnałów komórkowych, reakcji enzymatycznych, komunikacji międzykomórkowej i transportu błonowego. Są one również istotne w kontekście opracowania leków wykorzystywanych w terapii szeregu chorób człowieka, takich jak choroby nowotworowe, neurodegeneracyjne lub metaboliczne oraz niektóre infekcje wirusowe.

Ubikwitynacja białek to proces przeprowadzany przez kaskadę reakcji enzymatycznych. Ta post-translacyjna modyfikacja, w której niewielkie białko ubikwityna jest ostatecznie przyłączane do modyfikowanego substratu, jest katalizowana przez enzymy aktywujące ubikwitynę (E1), enzymy koniugujące ubikwitynę (E2) oraz liganzy ubikwityny (E3). Enzymy te oddziałują ze sobą, regulując wiele funkcji komórkowych przy pomocy proteolitycznych bądź nieproteolitycznych mechanizmów.

Dotychczas opracowano różnorodne techniki badania interakcji enzymów ubikwitynacji. Wśród nich techniki oparte na komplementacji fragmentów białek reporterowych (ang. protein-fragment complementation assays, PCA) umożliwiają bezpośrednie wykrywanie oddziaływań białko-białko w żywych komórkach lub organizmach wielokomórkowych. Co więcej, PCA można stosować do wykrywania interakcji białek ekspresowanych w ich natywnym środowisku na poziomie endogennym. Przedstawiona zostanie wysokoprzepustowa technika PCA wykorzystująca reporterowe białko bioluminescencyjne – lucyferazę NanoLuc® w badaniach interakcji enzymów ubikwitynacji u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* jako organizmu modelowego. Odszyfrowanie sieci interakcji komórkowych może w przyszłości przyczynić się do rozwoju nowatorskich terapii różnych chorób związanych nie tylko z procesem ubikwitynacji, ale także z innymi szlakami komórkowymi.

Badania sfinansowano z grantów Narodowego Centrum Nauki (NCN) nr 2016/21/D/NZ1/00285 (E.B.) oraz 2021/41/N/NZ2/00551 (N.L.).

## DECIPHERING THE INTERACTOME OF UBIQUITYLATION ENZYMES IN PHYSIOLOGY AND DISEASE

EWA BŁASZCZAK<sup>1\*</sup>, NATALIA ŁAZAREWICZ<sup>1,2</sup>, GAËLLE LE DEZ<sup>2</sup>, ROBERT WYSOCKI<sup>1</sup>, GWENAËL RABUT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Genetics and Cell Physiology, Faculty of Biological Sciences, University of Wrocław, 50-328, Wrocław, Poland

<sup>2</sup>Institute of Genetics and Development of Rennes, CNRS UMR 6290, University of Rennes 1, 35000, Rennes, France

*\*presenting author*

Protein-protein interactions (PPIs) constitute a complex cellular network that orchestrates nearly all biological processes. These include DNA replication, transcription, signal transduction, enzymatic reactions, cell-to-cell communication and membrane transport. PPIs are also considered attractive drug targets for treating many human diseases such as cancer, neurodegenerative or metabolic disorders, and some viral infections.

Protein ubiquitylation is an important enzymatic cascade. This post-translational modification, in which a small protein ubiquitin is finally attached to the substrate to be modified, is catalyzed by a variety of enzymes, including E1 ubiquitin-activating enzyme(s), E2 ubiquitin-conjugating enzymes and E3 ubiquitin ligases. These enzymes work in concert to regulate many cellular functions using either proteolytic or non-proteolytic mechanisms.

Over the years, different techniques have been developed to study the networks of ubiquitylation enzymes' interactions. Among them, protein-fragment complementation assays (PCAs) provide a direct and straightforward way to study these interactions in living cells or multicellular organisms. Importantly, PCAs can be used to detect the interaction of proteins expressed at endogenous levels in their native cellular environment. Here, we present the principle of a sensitive NanoLuc®-based protein-fragment complementation assay and its application in large-scale experiments to investigate the interactome of ubiquitylation enzymes using budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism. This, in the future, may contribute to the development of novel therapies and treatments for various diseases associated not only with ubiquitylation but also with other cellular pathways.

This work is supported by the National Science Centre (Poland) grant no. 2016/21/D/NZ1/00285 (to E.B.) and the National Science Centre (Poland) grant no. 2021/41/N/NZ2/00551 (to N.L.).

## OCENA POTENCJAŁU PRZECIWNOWOTWOROWEGO W BADANIACH *IN VITRO* FERMENTOWANEGO JARMUŻU (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *SABELLICA*)

MAGDALENA MICHALAK-TOMCZYK, ANNA RYMUSZKA, ANNA SIEROŚŁAWSKA

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii

W ostatnim czasie rośliny bogate w związki biologicznie czynne stają się bardzo popularne jako część nowej żywności funkcjonalnej. W przypadku warzyw szczególną rolę odgrywają przedstawiciele rodzaju *Brassica*, ponieważ liczne badania dowiodły, że dieta bogata w warzywa kapustowate wiąże się z obniżeniem ryzyka zachorowania na raka i inne choroby przewlekłe. Jarmuż (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) jest jednym z przedstawicieli warzyw kapustowatych, który zyskuje coraz większą popularność jako przedmiot badań naukowych. Zjawiskiem szczególnie istotnym wydaje się aspekt prozdrowotny jarmużu, a także możliwość wykorzystania tego warzywa w procesach technologicznych w celu opracowania produktów spożywczych o nowych cechach. Warzywo to jest cennym źródłem minerałów, błonnika, glukozyzolanów oraz związków przeciwutleniających, takich jak flawonoidy, witaminy, karotenoidy i kwasy fenolowe, dzięki czemu przypisuje się mu działanie prozdrowotne. Dodatkowo, zastosowanie fermentacji – procesu, który wydłuża okres przydatności do spożycia, zmienia właściwości organoleptyczne i biodostępność związków bioaktywnych w warzywach, może modulować aktywność biologiczną polifenoli, a co za tym idzie właściwości prozdrowotne samych produktów.

W pracy zbadano działanie prozdrowotne (przeciwzapalne i przeciwnowotworowe) wybranych kwasów fenolowych zawartych w jarmużu. W tym celu dokonano oceny zmian zawartości związków fenolowych podczas fermentacji jarmużu (ze szczególnym uwzględnieniem kwasu gentyzynowego i salicylowego) metodami LC-MS oraz HPLC. Ocenie poddano cytotoksyczność kwasu gentyzynowego i salicylowego wobec wybranych linii komórkowych. Dokonano także analizy zmian stężenia interleukin IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, PGE2, CysLT oraz aktywności cyklooksygenazy stosując testy ELISA oraz stężenia NO z wykorzystaniem metody Griess'a. Analizy obejmowały również monitorowanie zmian w morfologii komórek linii nowotworowych w obecności badanych kwasów fenolowych.

## EVALUATION OF *IN VITRO* ANTICANCER POTENTIAL OF FERMENTED CURLY KALE (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *SABELLICA*)

MAGDALENA MICHALAK-TOMCZYK, ANNA RYMUSZKA, ANNA SIEROŚŁAWSKA

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Animal Physiology and Toxicology

Recently, plants rich in biologically active compounds have become very popular as a part of novel functional foods. In case of vegetables, representatives of the genus *Brassica* are under scientific attention because numerous studies proved that a diet rich in cruciferous vegetables is associated with lowering the risk of cancer and other chronic diseases. Curly kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) is one of the representatives of cruciferous vegetables, which is gaining increasing popularity as a subject of scientific research. The pro-health aspect of curly kale seems to be of particular importance, as is the possibility of using this vegetable in technological processes to develop food products with new features. This vegetable is a valuable source of minerals, fiber, glucosinolates and antioxidant compounds such as flavonoids, vitamins, carotenoids and phenolic acids, which is why it is believed to promote health. In addition, the use of fermentation – a process that extends the shelf life, changes the organoleptic properties and bioavailability of bioactive compounds in vegetables, may modulate the biological activity of polyphenols, and thus the health-promoting properties of the products themselves.

In this study health promoting activity (anti-inflammatory and antitumor effect) of selected phenolic acids presented in curly kale has been investigated. For this purpose the changes in the content of phenolic compounds during curly kale fermentation (with particular emphasis on gentisic and salicylic acids) were assessed using the LC-MS and HPLC methods. The cytotoxicity of gentisic and salicylic acids against selected cell lines was assessed. The changes in the concentration of interleukins IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, PGE2, CysLT, and cyclooxygenase activity were also analyzed using ELISA tests and NO concentration using the Griess method. The analyzes also included the monitoring of changes in the morphology of tumor line cells in the presence of the tested phenolic acids.

## BEZPIECZEŃSTWO STOSOWANIA BAKTERIOFAGÓW W TERAPII CHORÓB INFEKCYJNYCH NA PRZYKŁADZIE PREPARATU BAFASAL

EWELINA A. WÓJCIK, JAROSŁAW DASTYCH

Proteon Pharmaceuticals SA, Łódź, ul. Tylna 3a, 90-364

Ze względu na narastający problem antybiotykooporności patogenów bakteryjnych, terapia fagowa cieszy się w ostatnich latach coraz większym zainteresowaniem. Stanowi ona szansę i alternatywę dla współczesnych metod ochrony i walki z czynnikami infekcyjnymi. Jednak opracowanie nowoczesnego produktu fagowego wymaga racjonalnego doboru składników koktajlu i wyboru właściwej postaci preparatu, która wspomaga efektywne dostarczanie aktywnych fagów do miejsca ich działania. Równie ważne jest precyzyjne określenie cech produktu bezpośrednio związanych z biologią bakteriofagów. Firma Proteon Pharmaceuticals stworzyła platformę technologiczną, która pozwala opracowywać produkty na bazie fagów i wdrażać nowe strategie kontroli bakterii chorobotwórczych. Platforma opracowana przez Proteon Pharmaceuticals pozwala na projektowanie wysoce bezpiecznych i skutecznych produktów składających się z mieszaniny starannie dobranych i scharakteryzowanych genotypowo zjadliwych fagów, które eliminują bakterie chorobotwórcze, nie powodując skutków ubocznych. Dostępne już na wielu rynkach produkty fagowe stosowane u zwierząt hodowlanych chronią zwierzęta przed chorobami zakaźnymi, poprawiają wydajność produkcji zwierzęcej i zwiększają bezpieczeństwo żywności pochodzenia zwierzęcego. Przykładem takiego produktu jest BAFASAL-dodatek paszowy do stosowania u drobiu, chroniący ptaki przed *Salmonella*. Preparat został przebadany zgodnie z wytycznymi EFSA, wykazując wysokie bezpieczeństwo dla człowieka, ptaków i środowiska oraz wysoką skuteczność w ograniczaniu bakterii *Salmonella*. W badaniach bezpieczeństwa preparatu zastosowano nowatorską metodę RapidAIM, opracowaną przez firmę MedBiome Inc., która pozwoliła zbadać wpływ preparatu BAFASAL na mikrobiom jelitowy człowieka. Analizy multiomiczne, w tym sekwencjonowanie genów 16S rRNA i metaproteomika, wykazały, że preparat BAFASAL jest dobrze tolerowany przez naturalną florę jelitową zdrowego człowieka. Preparat fagowy nie wpływał niekorzystnie na skład i funkcję mikroflory *ex vivo*, co stanowi dodatkowy argument na rzecz bezpieczeństwa jego stosowania i może posłużyć jako standardowa ocena działania nowych preparatów fagowych na ludzki mikrobiom.

## SAFETY OF THE USE OF BACTERIOPHAGES IN THE THERAPY OF INFECTIVE DISEASES ON THE EXAMPLE OF THE BAFASAL PREPARATION

EWELINA A. WÓJCIK, JAROSŁAW DASTYCH

Proteon Pharmaceuticals SA, Łódź, Tylina 3a, 90-364

Due to the growing problem of antibiotic resistance of bacterial pathogens, phage therapy has become more and more popular in recent years. It is an opportunity and an alternative to modern methods of protection and fight against infectious agents. However, the development of a modern phage product requires a rational selection of cocktail components and the design of the correct format of the product that supports the effective delivery of active phages to the place of their action. It is equally important to precisely define the characteristics of the product that are directly related to the biology of bacteriophages. Proteon Pharmaceuticals has created a technology platform to develop phage-based products and implement new strategies to control pathogenic bacteria. The platform developed by Proteon Pharmaceuticals allows the design of highly safe and effective products consisting of a mixture of carefully selected and genotypically characterized virulent phages that eliminate pathogenic bacteria without causing side effects. Already available on many markets, phage products used in farm animals protect animals against infectious diseases, improve the efficiency of animal production and increase the safety of food of animal origin. An example of such a product is BAFASAL – a feed additive for use in poultry that protects birds against *Salmonella*. The preparation has been tested in accordance with the EFSA guidelines, demonstrating high safety for humans, birds and the environment, as well as high efficiency in reducing *Salmonella* bacteria. In the safety studies of the preparation, the innovative RapidAIM method, developed by MedBiome Inc., was used, which allowed to study the effect of BAFASAL on the human intestinal microbiome. Multiomic analyzes, including 16S rRNA gene sequencing and metaproteomics, showed that BAFASAL is well tolerated by the natural intestinal flora of a healthy people. The phage preparation did not adversely affect the composition and function of *ex vivo* microflora, which is an additional argument for the safety of its use and can serve as a standard assessment of the effect of new phage preparations on the human microbiome.



## WSPÓŁCZESNA RADIOTERAPIA ONKOLOGICZNA

ANNA BRZOZOWSKA

Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej im. św. Jana z Dukli II Oddział Radioterapii, Jaczewskiego 7, 20-090 Lublin

Radioterapia onkologiczna jest jedną z podstawowych, obok chirurgii, chemioterapii czy immunoterapii, metod leczenia chorych na nowotwory złośliwe. Przy użyciu promieniowania jonizującego dochodzi podczas radioterapii do zniszczenia komórek nowotworowych przy niestety nadal dużym ryzyku uszkodzenia zdrowych tkanek otaczających guz nowotworowy. Kierunkiem rozwoju współczesnej radioterapii jest zastosowanie zaawansowanych technologicznie technik i urządzeń, których celem jest precyzyjne podanie wysokiej dawki promieniowania w obszarze guza z równoczesnym oszczędzeniem zdrowych tkanek. Realizacja tego planu opiera się na wielu wzajemnie zależnych elementach m.in. takich jak:

1. Właściwe obrazowanie leczonego obszaru za pomocą nowoczesnych metod rekonstrukcji przestrzennych (TK, MR, PET-CT) oraz ich fuzji
2. Wykonanie właściwego planu napromieniania przy użyciu komputerowych systemów planowania leczenia w celu wyliczania rozkładu dawki w ciele pacjenta.
3. Zaawansowanie wielu nowoczesnych technik radioterapii np:
  - **IMRT** – napromienianie z zastosowaniem modulacji intensywności wiązki pozwala na niemal dowolnie przestrzenne kształtowanie rozkładu dawki pochłoniętej.
  - **TBI** – (Total Body Irradiation)- napromienianie całego ciała u dzieci i dorosłych przed przeszczepem szpiku kostnego.
  - **SRS**- Radioterapia stereotaktyczna (radiochirurgia) – polega na podaniu jednorazowo wysokiej dawki na niewielki obszar w bardzo precyzyjny sposób. Najczęściej stosowana do leczenia małych zmian w mózgu (oponiaki, guzy przysadki, nerwiaki nerwu VIII, przerzuty do mózgu).
  - Zastosowanie techniki **VMAT** z bramkowaniem oddechowym w radiochirurgii stereotaktycznej przy napromienianiu nowotworów obszaru klatki piersiowej. W technice tej dochodzi do przerywania emisji promieniowania jonizującego, gdy guz znajduje się poza polem wiązki terapeutycznej
  - Technika napromieniania na głębokim wdechu (DIBH) pacjentek z rakiem piersi w celu zmniejszenia ryzyka uszkodzenia serca
4. Zastosowanie radioterapii protonowej (hadronowej) z wykorzystaniem wytworzonych w cyklotronie protonów umożliwiają lepszą miejscową kontrolę nowotworu i mniejsze ryzyko wystąpienia powikłań. Terapia protonowa ma za-

stosowanie w przypadku nowotworów umiejscowionych głęboko (np. guzy wewnętrzzaskowe), o małej promieniowrażliwości i u dzieci.

Celem tak intensywnego rozwoju radioterapii jest zapewnienie chorym nie tylko maksymalnej skuteczności i bezpieczeństwa prowadzonego leczenia oraz uzyskanie wysokich wskaźników wyleczenia, ale także zapewnienie wysokiej jakości życia bez powikłań po zakończonym leczeniu.

## CONTEMPORARY RADIOTHERAPY

*ANNA BRZOZOWSKA*

Center of Oncology of the Lublin Region St. Jana z Dukli, Radiotherapy Department, Jaczewskiego 7, 20-090 Lublin

Radiotherapy is the most important modality for the curative treatment of cancer and it uses beams of intense energy to kill cancer cells. During irradiation surrounding healthy tissues are also often damaged.

The goal of the development of modern radiotherapy is the use of technologically advanced techniques and devices aimed to precise administration of a high dose of radiation in the tumor area while sparing healthy tissues. The implementation of this plan is based on many interdependent elements, including:

1. Proper imaging of the treated area using modern methods of reconstruction (CT, MR, PET-CT) and their fusion
2. Make an appropriate radiation plan using computerized treatment planning systems to calculate the dose distribution in the patient's body
3. The use of many advanced techniques of radiotherapy, e.g.
  - **IMRT** – Intensity-modulated radiation therapy uses multiple small photon or proton beams of varying intensities to precisely irradiate a tumor.
  - **TBIT** – Total body irradiation is a form of radiation therapy in which a patient's whole body is treated with radiation. TBI is used to prepare the body for a stem cell or bone marrow transplant.
  - **SRST** – Stereotactic radiosurgery is used to treat functional abnormalities and small tumors of the brain such as meningiomas, pituitary tumors, neuromas of nerve VIII, metastases to the brain. SRS involves the delivery of a high dose of focused radiation therapy to a small area in the brain or other parts of the head.
  - **VMAT** – Gated Volumetric Modulated Arc Therapy is an emerging radiation therapy modality for treatment of tumors affected by respiratory motion and it allows the volume of normal tissue exposed to high doses of radiation to be reduced.
  - **DIBH** – Deep inspiration breath hold is a technique where patients take a deep breath during treatment, and hold this breath while the radiation is delivered. Deep-inspiration breath-hold can spare the heart during irradiation of the left breast in breast cancer patients
4. The use of proton (hadron) radiotherapy with the use of protons produced in the cyclotron enables better local control of the tumor and a lower risk of complications. Proton therapy is used in the treatment of deeply located tumors (e.g. intracranial tumors), with low radiosensitivity and in children

The aim of such intensive development of radiotherapy is to provide patients not only with the maximum effectiveness and safety of the treatment and obtaining high survival rates, but also to ensure a high quality of life without complications after treatment.

## WYNIKI LECZENIA OPERACYJNEGO JEDNOOGNISKOWYCH I WIELOMIEJSCOWYCH PRZERZUTÓW RAKÓW DO KRĘGOSŁUPA

*PAWEŁ ANDRZEJEWICZ, WŁADYSŁAW ROGAŁA, TOMASZ WNUK, PIOTR MAKSYMIOUK, DAWID PYZIK, KRZYSZTOF GRABOWSKI, DAWID KIJEWSKI, MATEUSZ MATYJASZCZYK, TOMASZ MAZURKIEWICZ*

Oddział Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej

Jedną z częstszych lokalizacji przerzutów nowotworowych w narządzie ruchu jest kręgosłup. Przerzuty mogą niszczyć jeden lub wiele kręgów. Zmiany przerzutowe, obejmujące wiele kręgów stwarzają problemy terapeutyczne i stawiają pytanie, czy leczyć jedno czy wszystkie ogniska.

**Celem pracy.** Celem jest ocena wyników leczenia operacyjnego pacjentów z pojedynczymi i mnogimi przerzutami do kręgosłupa.

**Metoda.** Oceniano stan neurologiczny przed i po operacji, stopień sprawności chorych w skali ECOG, wynik onkologiczny miejscowy oraz czas przeżycia.

**Materiał.** W latach 2016-2019 operowaliśmy 240 chorych z przerzutami raków do kręgosłupa u 197 stwierdzono niszczenie jednego kręgu, a u 43 wieloogniskowe zmiany w kręgosłupie.

Chorych w wielomiejscowych przerzutami leczylimy tylko z dojścia tylnego.

**Wyniki.** Spośród operowanych pacjentów do dziś żyje 70 osób. U chorych wielomiejscowymi przerzutami uzyskano poprawę neurologiczną, zwiększenie komfortu życia, poprawę sprawności, zmniejszenie dolegliwości bólowych podobnie jak u chorych z jednomiejscowymi zmianami. Różnił się natomiast czas przeżycia.

## SURGICAL TREATMENT RESULTS OF SINGLE-FOCAL AND MULTI-SITE CANCER METASTASES TO THE SPINE

*PAWEŁ ANDRZEJEWICZ, WŁADYSŁAW ROGALA, TOMASZ WNUK, PIOTR MAKSYMIAK, DAWID PYZIK, KRZYSZTOF GRABOWSKI, DAWID KIJEWSKI, MATEUSZ MATYJASZCZYK, TOMASZ MAZURKIEWICZ*

Center of Oncology of the Lublin Region

One of the most common localization of neoplastic metastases in the locomotor system is the spine.

Metastasis can destroy one or more vertebrae. Metastatic lesions involving multiple vertebrae cause therapeutic problems and raise the question to treat one or all lesions.

**The goal of the work.** The aim is to evaluate the results of surgical treatment of patients with single and multiple metastases to the spine.

**Method.** The neurological status before and after the operation, the degree of efficiency of the patients on the ECOG scale, local oncological result and survival time were assessed.

**Material.** In the years 2016-2019, we operated 240 patients with metastases of cancers to the spine, 197 had destruction of one vertebra, and 43 had multifocal lesions in the spine.

We treated patients with multiple metastases only from the posterior approach.

**Results.** Among the operated patients, 70 people are still alive today. In patients with multiple metastases, neurological improvement was achieved, as well as increased quality of life, improved efficiency, and reduced pain, similarly to patients with single-site lesions. However, the time of survival differed.

## ZESPOLENIA ZŁAMAŃ PATOLOGICZNYCH KOŚCI DŁUGICH

WŁADYSŁAW ROGAŁA, PAWEŁ ANDRZEJEWICZ, TOMASZ WNUK, PIOTR MAKSYMIUK, DAWID PYZIK, KRZYSZTOF GRABOWSKI, DAWID KIJEWSKI, MATEUSZ MATYJASZCZYK, TOMASZ MAZURKIEWICZ

Oddział Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej Centrum Onkologii Ziemi Lubelskiej

Przerzuty nowotworów do kości długich prowadzą do złamań patologicznych, przez co ograniczają sprawność chorych, wywołują duże dolegliwości bólowe. Znacząca część powoduje przykucie pacjenta do łóżka, zagraża to śmiertelnym powikłaniami takimi jak zapalenie płuc, dróg moczowych, odleżyny.

**Cel pracy.** Celem była ocena trwałości i skuteczności leczenia przerzutów do kości długich przez wycięcie przerzutu, stabilizację śródszpikową, lub założenie protezy resekcyjnej bliższej części kości udowej.

**Materiał.** W latach 2016-2019 leczylimy 187 chorych z przerzutami do kości, w tym w kości udowej 138, ramiennej 44 (inne) u 7. U 103 pacjentów wykonano resekcję bliższej części kości udowej i założono protezę resekcyjną, u 58 pacjentów wykonywano odcinkową resekcję złamania z zespoleniem gwoździem śródszpikowym i uzupełnienie ubytku cementem. U 26 jedynie wzmacniano kość prętą śródszpikową.

**Metoda.** Wyniki oceniano stopniem sprawności chorych w skali ECOG (skala sprawności według Eastern Cooperative Oncology Group), badaniem radiologicznym, oraz estymatorem przeżycia *Kapłana-Meiera*

**Wyniki.** 53 pacjentów nadal żyje. Czas przeżycia od 27 miesięcy do 66, średnia 37.

Wszyscy pacjenci po operacji uzyskali zmniejszenie dolegliwości bólowych spowodowanych neutralizacją złamania po zespoleniu i rekonstrukcji ubytków. Znaczne zmniejszenie dolegliwości bólowych, nie wymagające przyjmowania leków opioidowych uzyskano u 140 pacjentów.

Dobry i zadowalający wynik sprawności uzyskano u 118 pacjentów

## STABILIZATION OF PATHOLOGICAL FRACTURES OF LONG BONES

WŁADYSŁAW ROGAŁA, PAWEŁ ANDRZEJEWICZ, TOMASZ WNUK, PIOTR MAKSYMIOUK, DAWID PYZIK, KRZYSZTOF GRABOWSKI, DAWID KIJEWSKI, MATEUSZ MATYJASZCZYK, TOMASZ MAZURKIEWICZ

Center of Oncology of the Lublin Region

Metastasis of neoplasms to long bones lead to pathological fractures, which limit the efficiency of patients and cause severe pain. A significant part of them causes the patient to be bedridden, it may lead to fatal complications, such as pneumonia, urinary tract inflammation, pressure ulcers.

Objective of the work. The aim was to evaluate the durability and effectiveness of the treatment of long bone metastases, by excision of the metastasis, intramedullary stabilization, or insertion of a resection prosthesis in the proximal part of the femur.

Material. In the years 2016-2019, we treated 187 patients with bone metastases, including the femur 138, the humerus 44 (other) in 7.

In 103 cases, a resection of the proximal part of the femur was performed and a resection prosthesis was installed, in 58 cases a segmental fracture resection with an intramedullary nail was performed and the defect was supplemented with cement. In 26 cases, only the bone was strengthened with an intramedullary rod.

Method. The results were assessed using the ECOG scale (Eastern Cooperative Oncology Group performance scale), radiological examination, and the Kaplan-Meier survival estimate.

Results. 53 patients are still alive. Survival from 27 months to 66, mean 37.

All postoperative patients achieved a reduction of pain caused by the neutralization of the fracture after stabilization and reconstruction of lesions.

A significant reduction in pain, not requiring the use of opioid drugs, was achieved in 140 cases.

A good and satisfactory result in general efficiency was obtained in 118 cases



## SKINREMS – SKÓRNY TEST NIACYNOWY JAKO POTENCJALNE NARZĘDZIE DO BIOTYPOWANIA PACJENTÓW Z ZABURZENIAMI PSYCHOTYCZNYMI I PERSONALIZACJI ICH LECZENIA

*RYSZARD SITARZ<sup>1</sup>, ALICJA FORMA<sup>1</sup>, KAJA KARAKUŁA<sup>1</sup>, DARIUSZ JUCHNOWICZ<sup>2</sup>, JACEK BAJ<sup>3</sup>, ROBERT KARPIŃSKI<sup>4</sup>, JOANNA ROG<sup>1</sup>, PAWEŁ KRUKOW<sup>4</sup>, KAMIL JONAK<sup>4</sup>, HANNA KARAKUŁA-JUCHNOWICZ<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Chair and I Department of Psychiatry, Psychotherapy, and Early Intervention, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Department of Psychiatric Nursing, Medical University of Lublin, Poland

<sup>3</sup> Chair and Department of Anatomy, Medical University of Lublin, Poland

<sup>4</sup> Department of Clinical Neuropsychiatry, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

**Wstęp:** Zaburzenia psychiczne są niejednorodne pod względem patofizjologii. W związku z tym kwestionowana jest zasadność poszukiwania pojedynczego biomarkera choroby, wskazując na potrzebę stratyfikacji pacjentów na podstawie wspólnego podłoża biologicznego. Hipoteza błonowa zakłada, że zmiany w metabolizmie kwasów tłuszczowych mogą prowadzić do nieprawidłowej budowy i funkcji błon komórkowych.

**Cel pracy:** Praca ma na celu przedstawienie nowatorskiego sposobu oceny skórno testu niacynowego (NSFT)- nieinwazyjnej i powtarzalnej metody pomiaru reakcji skórnej na aplikację kwasu nikotynowego, służącej ocenie zawartości kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych.

**Materiały i metody:** Multidyscyplinarny zespół badaczy zaprojektował i stworzył nowatorski system pomiarowy do oceny NSFT oraz przeprowadził jego pierwsze próby.

**Wyniki:** W naszych wcześniejszych badaniach, bez zastosowania zaprojektowanego układu pomiarowego, czułość i swoistość NSFT jako metody różnicującej grupę pacjentów ze SCHI i ChAD wyniosła odpowiednio około 91% i 72%. Oczekuje się, że udoskonalenie pomiaru zwiększy oba parametry testu.

**Wnioski:** Nowa metoda oceny NSFT może być narzędziem umożliwiającym: 1. Trafne różnicowanie pacjentów ze SCHI, ChAD, 2. identyfikację grupy pacjentów z obserwowanymi zaburzeniami metabolizmu lipidów błonowych, u których należy się spodziewać korzystnej odpowiedzi terapeutycznej na wdrożenie suplementacji kwasami tłuszczowymi.

## SKINREMS – NIACIN SKIN FLUSH TEST AS A POTENTIAL DEVICE FOR BIOTYPING PATIENTS WITH PSYCHOTIC DISORDERS AND PERSONALIZING THEIR TREATMENT

*RYSZARD SITARZ<sup>1</sup>, ALICJA FORMA<sup>1</sup>, KAJA KARAKUŁA<sup>1</sup>, DARIUSZ JUCHNOWICZ<sup>2</sup>, JACEK BAJ<sup>3</sup>, ROBERT KARPIŃSKI<sup>4</sup>, JOANNA ROG<sup>1</sup>, PAWEŁ KRUKOW<sup>4</sup>, KAMIL JONAK<sup>4</sup>, HANNA KARAKUŁA-JUCHNOWICZ<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Chair and I Department of Psychiatry, Psychotherapy, and Early Intervention, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Department of Psychiatric Nursing, Medical University of Lublin, Poland

<sup>3</sup> Chair and Department of Anatomy, Medical University of Lublin, Poland

<sup>4</sup> Department of Clinical Neuropsychiatry, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

**Introduction:** Psychotic disorders are heterogeneous in terms of pathophysiology. Therefore, the validity of searching for a single biomarker of the disease is questioned, pointing to the need to stratify patients based on a common biological basis. The membrane hypothesis assumes that changes in fatty acid metabolism can lead to abnormal structure and function of cell membranes.

**Objectives:** The study aims to present an innovative method of assessing the skin niacin test (NSFT) – a non-invasive and repeatable method of measuring the skin reaction to the application of nicotinic acid, used to assess the content of fatty acids in cell membranes.

**Materials and Methods:** A multidisciplinary team of researchers designed and developed a novel measurement system for NSFT assessment and conducted its first trials.

**Results:** In our previous studies, without the use of the designed measuring system, the sensitivity and specificity of NSFT as a method differentiating the group of patients with SCHI and BD were approximately 91% and 72%, respectively. It is expected that the refinement of the measurement will increase both test parameters.

**Conclusions:** The new method of NSFT assessment may be a tool enabling: 1. Accurate differentiation of patients with SCHI and BD, 2. identification of patients group with observed disorders of membrane lipid metabolism, who should be expected to have a favorable therapeutic response to the implementation of fatty acid supplementation.

## TEST NIACYNOWY JAKO METODA STRATYFIKACJI PACJENTÓW I PERSONALIZACJA ICH LECZENIA – PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

RYSZARD SITARZ<sup>1</sup>, ALICJA FORMA<sup>1</sup>, KAJA KARAKUŁA<sup>1</sup>, DARIUSZ JUCHNOWICZ<sup>2</sup>, JACEK BAJ<sup>3</sup>, ROBERT KARPIŃSKI<sup>4</sup>, JOANNA ROG<sup>1</sup>, PAWEŁ KRUKOW<sup>4</sup>, KAMIL JONAK<sup>4</sup>, HANNA KARAKUŁA-JUCHNOWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Chair and I Department of Psychiatry, Psychotherapy, and Early Intervention, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Department of Psychiatric Nursing, Medical University of Lublin, Poland

<sup>3</sup> Chair and Department of Anatomy, Medical University of Lublin, Poland

<sup>4</sup> Department of Clinical Neuropsychiatry, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

**Wstęp:** Według teorii Horrobina nieprawidłowy metabolizm kwasów tłuszczowych jest czynnikiem predysponującym do rozwoju schizofrenii (SCHI), choroby afektywnej dwubiegunowej (ChAD) lub zaburzenia schizoafektywnego (SCHA). Test niacynowy jest powtarzalną i nieinwazyjną metodą oceny reakcji skórnej na aplikację kwasu nikotynowego, która wskazuje na zaburzenia metabolizmu błonowych kwasów tłuszczowych.

**Cel pracy:** Celem pracy jest przegląd piśmiennictwa w celu oceny przydatności i skuteczności testu niacynowego jako potencjalnego badania do monitorowania przebiegu zaburzeń psychicznych.

**Materiały i metody:** Przegląd literatury w PubMed przy użyciu słów kluczowych [niacin skin flush test] OR [niacin skin flushing] OR [niacin skin flush] OR [niacin skin test] AND [schizophrenia] OR [bipolar disorder] OR [schizoaffective disorder]. Przegląd obejmował artykuły oryginalne, recenzje, przeglądy systematyczne, metaanalizy i opisy przypadków z lat 1974-2022 w języku polskim i angielskim.

**Wyniki:** Przeanalizowano 86 artykułów poświęconych testowi niacynowemu w przebiegu zaburzeń psychicznych. U chorych na SCHI, ChAD, SCHA obserwuje się nieprawidłowe odpowiedzi na test niacynowy, co sugeruje wspólny mechanizm patofizjologiczny.

**Wnioski:** Zastosowanie testu niacynowego może być metodą, która daje szansę na wyodrębnienie grupy pacjentów, u których zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych mogą być powodem do stosowania określonych schematów terapeutycznych, takich jak suplementacja wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi.

## THE NIACIN SKIN FLUSH TEST AS A PATIENT STRATIFICATION METHOD AND THEIR TREATMENT PERSONALIZATION – LITERATURE REVIEW

*RYSZARD SITARZ<sup>1</sup>, ALICJA FORMA<sup>1</sup>, KAJA KARAKUŁA<sup>1</sup>, DARIUSZ JUCHNOWICZ<sup>2</sup>, JACEK BAJ<sup>3</sup>, ROBERT KARPIŃSKI<sup>4</sup>, JOANNA ROG<sup>1</sup>, PAWEŁ KRUKOW<sup>4</sup>, KAMIL JONAK<sup>4</sup>, HANNA KARAKUŁA-JUCHNOWICZ<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Chair and I Department of Psychiatry, Psychotherapy, and Early Intervention, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Department of Psychiatric Nursing, Medical University of Lublin, Poland

<sup>3</sup> Chair and Department of Anatomy, Medical University of Lublin, Poland

<sup>4</sup> Department of Clinical Neuropsychiatry, Medical University of Lublin, 20-439 Lublin, Poland

**Introduction:** According to Horrobin's theory, abnormal fatty acid metabolism is a predisposing factor to the development of schizophrenia (SCHI), bipolar disorder (BD) or schizoaffective disorder (SCHA). The niacin test is a reproducible and non-invasive method of assessing the skin reaction to the application of nicotinic acid, which indicates disorders of membrane fatty acid metabolism.

**Objectives:** The aim of the study is to review the literature to assess the usefulness and effectiveness of the niacin test as a potential test for monitoring the course of mental disorders.

**Materials and Methods:** PubMed literature review using the keywords [niacin skin flush test] OR [niacin skin flushing] OR [niacin skin flush] OR [niacin skin test] AND [schizophrenia] OR [bipolar disorder] OR [schizoaffective disorder]. The review included original articles, reviews, systematic reviews, meta-analyses and case reports from 1974-2022 in Polish and English.

**Results:** 86 articles devoted to the niacin test in the course of mental disorders were analyzed. Abnormal responses to the niacin test are observed in patients with SCHI, BD, SCHA, which suggests a common pathophysiological mechanism.

**Conclusions:** The use of the niacin test may be a method that gives a chance to identify a group of patients in whom disorders of fatty acid metabolism may be a reason for the use of specific therapeutic regimens, such as supplementation with polyunsaturated fatty acids.

## ODDZIAŁYWANIE CHROMU(III) I KOBALTU(II) NA WYBRANE LINIE KOMÓRKOWE – ASPEKTY CYTOTOKSYCZNE, GENOTOKSYCZNE I MUTAGENNE

KATARZYNA CZARNEK<sup>1</sup>, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Nauk o Zdrowiu, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Lublin,

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn

Celem pracy było określenie wpływu chromu(III) i kobaltu(II) na organella komórki, a następnie określenie rodzaju interakcji między tymi pierwiastkami. Wykorzystano związki chlorku chromu i chlorku kobaltu w zakresie stężeń od 100 do 1400  $\mu\text{M}$ , których działaniu poddano trzy linie komórkowe: BALB/3T3, BJ i HepG2. Następnie wykonano testy cytotoksyczności i genotoksyczności. Przeprowadzono również test mutagenności Ames (szczypty *Salmonella Typhimurium* TA98 i TA100 poddano działaniu wzrastających stężeń tj. 100 do 1000  $\mu\text{M}$  chlorku kobaltu lub chlorku chromu). Na podstawie otrzymanych wyników z pierwszego etapu badań, wybrano stężenia pierwiastków w celu określenia interakcji między nimi. Komórki badanych linii poddawano działaniu mieszanin związków: chlorku chromu o stężeniu 200  $\mu\text{M}$  i chlorku kobaltu o stężeniu 1000  $\mu\text{M}$  lub chlorku chromu o stężeniu 1000  $\mu\text{M}$  i chlorku kobaltu o stężeniu 200  $\mu\text{M}$ , w przypadku testów cytotoksyczności i genotoksyczności. Podobnie w teście mutagenności szczepy bakteryjne *Salmonella Typhimurium* TA98 i TA100 poddawano działaniu mieszanin związków o takich samych stężeniach pierwiastków jak w przypadku wyżej wymienionych testów. W testach cytotoksyczności w niskich stężeniach obu badanych związków obserwowano stymulację proliferacji komórek, a w wyższych stężeniach odnotowano spadek żywotności komórek w przypadku wszystkich badanych linii. Po przeprowadzonych testach cytotoksyczności wyznaczono wartości  $\text{IC}_{50}$ . Ponadto odnotowano genotoksyczne i mutagenne działanie obu związków wraz ze wzrostem ich stężeń. Podczas jednoczesnej inkubacji z chlorkiem chromu o stężeniu 200  $\mu\text{M}$  i chlorkiem kobaltu o stężeniu 1000  $\mu\text{M}$  komórek wszystkich badanych linii obserwowano antagonizm – chrom(III) w stężeniu 200  $\mu\text{M}$  pełnił funkcje ochronne wobec toksycznego stężenia kobaltu(II) o stężeniu 1000  $\mu\text{M}$ . Podobne obserwacje poczyniono w testach genotoksyczności i mutagenności. Natomiast w przypadku interakcji chlorku chromu o stężeniu 1000  $\mu\text{M}$  i chlorku kobaltu o stężeniu 200  $\mu\text{M}$  nie obserwowano ochronnego działania chlorku chromu wobec chlorku kobaltu. W tym przypadku obserwowano synergizm między badanymi pierwiastkami. Chrom(III) w tej interakcji nasila proapoptotyczną aktywność kobaltu(II).

## THE EFFECT OF CHROMIUM (III) AND COBALT (II) ON SELECTED CELL LINES – CYTOTOXIC, GENOTOXIC AND MUTAGENIC ASPECTS

KATARZYNA CZARNEK<sup>1</sup>, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Health Sciences, Faculty of Natural Sciences and Health, The John Paul II Catholic University of Lublin, Poland,

<sup>2</sup> Department of Microbiology and Clinical Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Olsztyn, Poland

The aim of the study was to determine the effect of chromium (III) and cobalt (II) on cell organelles, and then to determine the type of interactions between these elements. In this work three cell lines: BALB / 3T3, BJ and HepG2 were exposed to chromium chloride and cobalt chloride at concentrations ranging from 100 to 1400  $\mu\text{M}$ . The cytotoxicity and genotoxicity assays were used, as well the Ames mutagenic assay (strains of *Salmonella Typhimurium* TA98 and TA100 were treated with increasing concentrations ranging from 100 to 1000  $\mu\text{M}$  of cobalt chloride or chromium chloride). On the basis of the results obtained from the first stage of the research, the concentrations of elements were selected in order to determine the interactions between them. The cells of the tested cell lines were treated with mixtures of the following compounds: chromium chloride at the concentration of 200  $\mu\text{M}$  and cobalt chloride at the concentration of 1000  $\mu\text{M}$  or chromium chloride at the concentration of 1000  $\mu\text{M}$  and cobalt chloride at the concentration of 200  $\mu\text{M}$  in the case of cytotoxicity and genotoxicity assays. Additionally, in the mutagenicity assay, the bacterial strains *Salmonella Typhimurium* TA98 and TA100 were treated with the mixtures with the same element concentrations as in the case of cytotoxicity assays. In the cytotoxicity assay at low concentrations of both tested compounds, stimulation of cell proliferation was observed. In higher concentrations, the cell viability decreased for all the tested lines. Afterwards  $\text{IC}_{50}$  values were determined in cytotoxicity assays. Negative effects of chromium chloride and cobalt chloride were also observed in genotoxicity and mutagenicity assays. Along with the increase in the concentration of the element, the increase of mutations were observed. During incubation with chromium chloride at the concentration of 200  $\mu\text{M}$  and cobalt chloride at the concentration of 1000  $\mu\text{M}$  in the cells of all the analyzed cell lines, antagonism was observed – chromium (III) at the concentration of 200  $\mu\text{M}$  protected from cobalt (II) toxicity. Such observations were made in the case of genotoxicity and mutagenicity assays. However, in the case of interaction of chromium chloride at the 1000  $\mu\text{M}$  and cobalt chloride at 200  $\mu\text{M}$ , the protective effect of chromium chloride on cobalt chloride was not observed. In this case, synergism between the studied elements was observed. Chromium(III) in this interaction intensified the pro-apoptotic activity of cobalt(II).

## WPŁYW OLEJKU ETERYCZNEGO Z NASION CZARNUSZKI SIEWNEJ (*NIGELLA SATIVA*) NA PROLIFERACJĘ, AKTYWACJĘ I APOPTOZĘ LIMFOCYTÓW T

KLAUDIA CIESIELSKA-FIGŁON<sup>1</sup>, AGNIESZKA DACA<sup>2</sup>, ADAM KOKOTKIEWICZ<sup>3</sup>, MARIA ŁUCZKIEWICZ<sup>3</sup>, BOŻENA ZABIEGAŁA<sup>4</sup>, JACEK M. WITKOWSKI<sup>1</sup>, KATARZYNA A. LISOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Fizjopatologii

<sup>2</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski, Zakład Patologii i Reumatologii Doświadczalnej

<sup>3</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Farmakognozji

<sup>4</sup> Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Analitycznej

Substancje pochodzenia roślinnego cieszą się w medycynie znacznym zainteresowaniem, a wśród roślin wymienianych w literaturze ważne miejsce zajmuje czarnuszka siewna (*Nigella sativa*). Jest to jednoroczna roślina z rodziny Jaskrowatych. Jej owoce zrosnięte są w mieszek i zawierają czarne, aromatyczne drobne nasiona. Z nasion pozyskuje się olej, zawierający frakcję tłustą, eteryczną oraz alkaloidy, tokoferole, fitosterole, saponiny i flawonoidy. Pozyskiwany olej nazywany w starożytności „złotem Faraonów” był uważany za panaceum na wiele różnych chorób, zwłaszcza układu oddechowego, pokarmowego i sercowo-naczyniowego. Obserwacje kliniczne wskazują, że nasiona i olej z *N. sativa* mogą łagodzić objawy takich chorób jak astma, alergiczny nieżyt nosa lub reumatoidalne zapalenie stawów. Jednak mechanizm działania oleju na układ odpornościowy nie jest w pełni poznany.

W niniejszej pracy przedstawiamy właściwości immunomodulacyjne olejku eterycznego (OE) otrzymanego z nasion czarnuszki siewnej metodą hydrodestylacji. Za pomocą cytometrii przepływowej analizowano fenotyp, aktywność proliferacyjną oraz podatność na apoptozę ludzkich limfocytów T osób zdrowych stymulowanych monoklonalnym przeciwciałem anti-CD3, w obecności seryjnych etanolowych rozcieńczeń badanego olejku. Uzyskane wyniki wykazały, że olej eteryczny z nasion czarnuszki siewnej znacząco hamował proliferację limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup>, indukował śmierć komórek w sposób zależny od dawki oraz zmniejszał ekspresję antygenów CD28 i CD25 istotnych dla aktywacji limfocytów.

Wyniki wskazują, że olejek eteryczny z nasion czarnuszki siewnej ma silne właściwości immunomodulacyjne, które najprawdopodobniej związane są z zawartymi w nim substancjami aktywnymi.

## THE INFLUENCE OF NIGELLA SATIVA ESSENTIAL OIL ON PROLIFERATION, ACTIVATION, AND APOPTOSIS OF HUMAN T LYMPHOCYTES IN VITRO

KLAUDIA CIESIELSKA-FIGŁON<sup>1</sup>, AGNIESZKA DACA<sup>2</sup>, ADAM KOKOTKIEWICZ<sup>3</sup>, MARIA ŁUCZKIEWICZ<sup>3</sup>, BOŻENA ZABIEGAŁA<sup>4</sup>, JACEK M. WITKOWSKI<sup>1</sup>, KATARZYNA A. LISOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Gdańsk, Faculty of Medicine, Department of Physiopathology,

<sup>2</sup> Medical University of Gdańsk, Faculty of Medicine, Division of Pathology and Experimental Rheumatology,

<sup>3</sup> Medical University of Gdańsk, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy,

<sup>4</sup> Gdańsk University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry

Recently, substances of plant origin have attracted considerable interest in medicine, and black cumin (*Nigella sativa*) has an important place among the plants mentioned in the literature. It is an annual flowering plant from the Ranunculaceae family. Its fruits grow into follicles and contain black aromatic tiny seeds. Oil is obtained from the seeds containing fixed and essential fractions, alkaloids, phytosterols, tocopherols, saponins, and flavonoids. In antiquity, this plant called the “gold of the Pharaohs” was considered a panacea for many different diseases, particularly respiratory, digestive, and cardiovascular diseases. Clinical observations indicate that *N. sativa* seeds and oil can alleviate symptoms of diseases such as asthma, allergic rhinitis, or rheumatoid arthritis. However, the mechanism of action of the oil on the immune system is not fully understood.

In this study, we examined the immunomodulatory properties of essential oil (EO) obtained from the *Nigella sativa* seeds by hydrodistillation. The phenotype, proliferative activity, and susceptibility to apoptosis of human T lymphocytes of healthy people stimulated with anti-CD3 monoclonal antibody in the presence of serial ethanol dilutions of the tested oil were analyzed by flow cytometry. Our results showed that EO significantly inhibited the proliferation of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes, induced cell death in a dose-dependent manner, and reduced the expression of CD28 and CD25 antigens essential for lymphocyte activation.

The results indicate that essential oil from *Nigella sativa* has potent immunomodulatory properties, which are most likely related to the active substances it contains.



## STWORZENIE MODELU KOMÓRKOWEGO OSTREJ BIAŁACZKI SZPIKOWEJ Z MUTACJĄ *FLT3* DO BADANIA WPŁYWU MUTACJI W GENIE *FLT3* NA ZMIANY WIDMA RAMANOWSKIEGO KOMÓREK

MAŁGORZATA ZASOWSKA<sup>1</sup>, PAULINA LASKOWSKA<sup>1</sup>, ANNA M. NOWAKOWSKA<sup>2</sup>, ALEKSANDRA BOREK-DOROSZ<sup>2,3</sup>, MACIEJ SZYDŁOWSKI<sup>1</sup>, MAŁGORZATA BARAŃSKA<sup>2,3</sup>, KATARZYNA MAJZNER<sup>2,3</sup>, PRZEMYSŁAW JUSZCZYŃSKI<sup>1</sup>, PIOTR MRÓWKA<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Zakład Hematologii Eksperymentalnej, Warszawa

<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, Kraków

<sup>3</sup> Jagiellońskie Centrum Terapii Doświadczalnej (JCET), Uniwersytet Jagielloński, Kraków

<sup>4</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Biofizyki, Fizjologii i Patofizjologii, Warszawa

Ostra białaczka szpikowa (AML, ang. *acute myeloid leukemia*) jest nowotworem złośliwym komórek układu krwiotwórczego pochodzących od komórek prekursorowych linii mieloidalnej znajdujących się w szpiku kostnym. Jak dotąd nie jest znana jedna przyczyna AML, znane są natomiast genetyczne i środowiskowe czynniki, które zwiększają ryzyko jej wystąpienia. W przebiegu AML zawsze obserwuje się występowanie charakterystycznych mutacji w genach takich białek jak *FLT3*, *DNMT3*, *RUNX2*, *IDH1/2*, *MLL*, *CEBPA*, *NPM1*, *KRAS*, *NRAS*, *KIT*, *PTPN11*, *TET2* i innych. W niniejszej pracy skupiono się na mutacji genu *FLT3*, ponieważ należy ona do jednych z najczęściej występujących mutacji w AML i uważana jest za mutację kierującą komórki na drogę transformacji nowotworowej.

Jednym z rodzajów mutacji w genie *FLT3* jest wewnątrzrandemowa duplikacja (*FLT3-ITD*), wykrywana u około 25% chorych i niekorzystnie wpływająca na rokowanie. Pierwszy etap niniejszej pracy obejmował skonstruowanie wektora lentiwirusowego pozwalającego wprowadzić do komórek gen *FLT3-ITD*. Po wygenerowaniu wektora, drugim etapem było otrzymanie komórek z ekspresją zmutowanego *FLT3*. W tym celu wykonano transdukcję białaczkowej linii komórkowej HEL otrzymanym konstruktem.

Następnie komórki zostały zobrazowane przy użyciu spektroskopii Ramana. Technika ta, opiera się na wykorzystaniu światła rozproszonego do zdobycia informacji o drganiach molekularnych, co pozwala na poznanie symetrii i struktury cząsteczek oraz charakterystykę związków. Dzięki niej można zaobserwować różnice ilościowe w składzie chemicznym komórki, a pośrednio zmian na poziomie metabolizmu. *FLT3* prowadzi do indukcji szlaku *STAT 5* aktywując onkogen *c-MYC*, co wpływa na biogenezę oraz proliferację mitochondriów, mającą swoją manifestację w obrazie mikroskopii ramanowskiej. Zaobserwowane różnice między komórkami z mutacją *FLT3-ITD* a komórkami z genem w formie dzikiej potencjalnie mogą zostać wykorzystane w szybkiej diagnostyce AML.

## CONSTRUCTION OF A CELLULAR MODEL OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH *FLT3* MUTATION TO STUDY THE INFLUENCE OF MUTATION IN *FLT3* GENE ON CHANGES IN THE RAMAN SPECTRA OF CELLS

MAŁGORZATA ZASOWSKA<sup>1</sup>, PAULINA LASKOWSKA<sup>1</sup>, ANNA M. NOWAKOWSKA<sup>2</sup>, ALEKSANDRA BOREK-DOROSZ<sup>2,3</sup>, MACIEJ SZYDŁOWSKI<sup>1</sup>, MAŁGORZATA BARAŃSKA<sup>2,3</sup>, KATARZYNA MAJZNER<sup>2,3</sup>, PRZEMYSŁAW JUSZCZYŃSKI<sup>1</sup>, PIOTR MRÓWKA<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Warsaw, Poland

<sup>2</sup> Jagiellonian University, Faculty of Chemistry, Krakow, Poland

<sup>3</sup> Jagiellonian University, Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET), Krakow, Poland

<sup>4</sup> Department of Biophysics, Physiology and Pathophysiology, Medical University of Warsaw, Poland

Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant tumor of hematopoietic cells derived from myeloid progenitor cells in the bone marrow. Nowadays, there is not known cause of AML, but there are genetic and environmental factors that increase the risk of its occurrence. In the course of AML, characteristic mutations in the genes of proteins such as *FLT3*, *DNMT3*, *RUNX2*, *IDH1/IDH2*, *MLL*, *CEBPA*, *NPM1*, *KRAS*, *NRAS*, *KIT*, *PTPN11*, *TET2* and others are always observed. This work focuses on the *FLT3* gene mutation, because it is one of the most common mutations in AML and is considered to be the mutation directing cells to the path of tumor transformation.

One type of mutation in the *FLT3* gene is internal tandem duplication (*FLT3-ITD*), detected in approximately 25% of patients and adversely affecting prognosis. The first stage of this work involved the construction of a lentiviral vector that would allow the introduction of the *FLT3-ITD* gene into cells. After generating the vector, the second step was to obtain cells expressing the mutant *FLT3*. For this purpose, the HEL leukemia cell line was transduced with the obtained construct.

The cells were then imaged using Raman spectroscopy. This technique is based on the use of scattered light to obtain information about molecular vibrations, which allows to learn about the symmetry and structure of molecules as well as the characteristics of compounds. Thanks to it, it is possible to observe quantitative differences in the chemical composition of the cell and, indirectly, changes at the level of metabolism. *FLT3* induces the STAT 5 pathway by activating the c-MYC oncogene, which influences the biogenesis and proliferation of mitochondria, which is manifested in the Raman microscopy image. The observed differences between cells with the *FLT3-ITD* mutation and cells with the wild-type gene can potentially be used in the rapid diagnosis of AML.

## CHOROBY ODZWIERZĘCE – NOWE WIRUSY I ICH NIEPRZEWIDYWALNA PATOGENNOŚĆ DLA CZŁOWIEKA

ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI, JOANNA MAŁACZEWSKA

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej 10-917 Olsztyn-Kortowo, ul. Oczapowskiego 13.

Obserwowane w ostatniej dekadzie zmiany klimatyczne, globalizacja, jak również przesunięcia antygenowe, dryft antygenowy, mutacje i zmiany epigenetyczne są najważniejszymi czynnikami powodującymi częste zmiany mikroorganizmów. Dotyczą one zmian ich właściwości, inwazyjności, jak również szybkiego przekraczania przez nie barier międzygatunkowych i zdolności adaptacyjnych do nowych gatunków. Do patogenów o tak silnych zdolnościach należą wirusy, czego efektem jest pojawienie się nowych chorób o nieprzewidywalnej patogenności dla zwierząt i człowieka. Ze znanych ponad 250 zoonotycznych wirusów ponad 10 stanowi obecnie potencjalne największe zagrożenie transferu na człowieka. Należy tu wymienić obok wirus SARS-CoV-2, wirusy Lassa, Marburg i Ebola, wirus Zika i Powassan, wirus ospy małpiej, hepewirus zapalenia wątroby typu E czy bokawirusy (HBoV, CaBoV1) układów oddechowego i pokarmowego dotyczące szczególnie małych dzieci i szczeniąt. W ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost liczby (wzrost trzykrotny) chorób wirusowych przenoszonych przez stawonogi (komary i kleszcze). Zaliczamy do nich tak groźne wirusy jak: Bourbon, Heartland, Keystone czy Oropouche. Wirus Bourbon jest RNA wirusem z rodziny *Ortomyxoviridae*, który spowodował w latach 2018-2020 liczne zachorowania u ludzi po ugryzieniu przez kleszcze z objawami wysokiej gorączki, bólami głowy, mięśni i stawów, wysypką plamisto-grudkową, zapalenie mózgu, a pod koniec choroby rozwija się zespół ciężkiej niewydolności oddechowej. Podobne objawy wywołuje u ludzi wirus Heartland przenoszony przez kleszcze z rodziny *Phanuiviridae* oraz wirus Keystone przenoszony przez komary należący do grupy serologicznej *California Orthobunyavirus* (*California encephalitis virus*). Natomiast wirus Oropouche z rodziny *Bunyaviridae* przenoszony przez komary powoduje u ludzi tzw. „gorączkę Oropouche” z objawami grypopodobnymi, wysypką, krwawieniem z nosa i wybroczynami na skórze oraz zapalenie opon i mózgu. W podsumowaniu należy stwierdzić, że pojawiające się nowe wirusy cechuje możliwość reasortacji genetycznej, przekraczania barier międzygatunkowych i nasilania zjadliwości oraz szybkiego rozprzestrzeniania się na świecie.

## ZOONOSES – NEW VIRUSES AND THEIR UNPREDICTABLE PATHOGENICITY TO HUMANS

ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI, JOANNA MAŁACZEWSKA

University of Warmia and Mazury, Department Microbiology and Clinical Immunology 10-917 Olsztyn-Kortowo, Oczapowskiego 13

Climate change, globalisation, as well as antigenic shifts, antigenic drift, mutations and epigenetic changes, which have been very evident in the last decade, are the most important factors causing frequent changes in microorganisms. These concern changes in their properties, invasiveness, as well as their rapid crossing of interspecies barriers and adaptability to new species. Pathogens with such strong capabilities include viruses, resulting in the emergence of new diseases with unpredictable pathogenicity for animals and humans. Of the more than 250 known zoonotic viruses, more than 10 currently pose the greatest potential threat of transfer to humans. These include the SARS-CoV-2 virus, Lassa, Marburg and Ebola viruses, Zika and Powassan viruses, monkeypox virus, hepatitis E hepatitis virus or bacciviruses (HBoV, CaBoV1) of the respiratory and gastrointestinal tracts, especially affecting young children and puppies. In recent years, there has been a sharp increase (threefold increase) in viral diseases transmitted by arthropods (mosquitoes and ticks). These include such dangerous viruses as Bourbon, Heartland, Keystone and Oropouche. Bourbon virus is an RNA virus of the *Ortomyxoviridae* family that has caused numerous human cases in 2018-2020 after a tick bite with symptoms of high fever, headache, muscle and joint pain, maculopapular rash, encephalitis, and towards the end of the disease, a severe respiratory distress syndrome develops. Heartland virus (transmitted by ticks) of the *Phanuiviridae* family and the mosquito-borne Keystone virus, which belongs to the serogroup *California Orthobunyavirus* (California encephalitis virus), cause similar symptoms in humans. The mosquito-borne Oropouche virus of the *Bunyaviridae* family causes so-called “Oropouche fever” in humans with flu-like symptoms, rash, nose bleeding and petechiae on the skin, as well as meningitis and encephalitis. **In conclusion**, it should be stated that emerging new viruses are characterised by the possibility of genetic reassortment, crossing interspecies barriers and increasing virulence and rapid spread throughout the world.

## PANDEMIA COVID-19, PÓŹNE KONSEKWENCJE PSYCHOLOGICZNE. BADANIE PORÓWNAWCZE

SYLWIA KRASOWSKA<sup>1</sup>, MAGDALENA CHARUKIEWICZ<sup>2</sup>, MARTA ODZENIAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Psychologii

<sup>2</sup> Uczelnia Medyczna im. Marii Skłodowskiej Curie w Warszawie, Kierunek lekarski

Trwająca od końca 2019 roku pandemia COVID-19, postawiła przed światem pierwszą w XXI wieku tak duży kryzys zdrowotny i nieustająco odgrywa ogromną rolę do dnia dzisiejszego. Mimo upływającego czasu, badań nad wirusem SARS-CoV-2, dużej wiedzy na temat dróg infekcji i przebiegu choroby, a także długotrwałych konsekwencji, wciąż poszukujemy odpowiedzi na wiele pytań, a w tym również o stan psychiczny ludzi. Psychika stanowi jedną ze stref niewątpliwie najbardziej dotkniętych przez sytuację pandemiczną. Wciąż jednak ocena czynników wywołujących określone objawy psychiczne, pozostaje nie w pełni poznana.

Biorąc pod uwagę powyższe informacje celem badania było przeprowadzenie retrospektywnego porównania, co oznacza, że uwzględnili on korelację między różnymi grupami osób. Podstawowym celem była ocena wpływu przebiegu infekcji wirusem SARS-CoV-2 na stan psychiczny i pojawienie się objawów psychopatologicznych, względem grupy poddanej jedynie kwarantannie. Zbadanie obu grup, liczących w sumie około 200 osób w okresie 6 miesięcy po zachorowaniu lub kwarantannie za pomocą jednakowych narzędzi – kwestionariusza własnego, oraz kwestionariuszy MCQ-30 (Metacognitions Questionnaire- 30), GHQ-12 – (General Health Questionnaire- 12), co pozwoliło na rzetelną podstawę do wyciągnięcia wniosków na temat relacji COVID-19- zdrowie psychiczne. Umożliwiło to zbadanie różnic i autentycznego czynnika wywołującego zaburzenia psychiczne. Dzięki temu z większym prawdopodobieństwem przybliżono odpowiedź na pytanie, które zmienne są istotniejszym czynnikiem psychopatologii, a co za tym idzie odpowiednio przygotować leczenie, terapie i umożliwić jak najlepszą prewencję. Ponadto homogeny protokół pozwoli na ograniczenie błędów związanych ze zmiennością pytań i czasu ich wykonywania. Wreszcie, charakter przekrojowy i skupienie się na objawach trwających w perspektywie długoterminowego wpływu neuropsychiatrycznego obciążenia po COVID-19 pozwoli na wyłączenie czynników związanych z bezpośrednim czasem trwania infekcji czy kwarantanny.

## COVID-19 PANDEMIC, LATE PSYCHOLOGICAL CONSEQUENCES. COMPARISON STUDY

SYLWIA KRASOWSKA<sup>1</sup>, MAGDALENA CHARUKIEWICZ<sup>2</sup>, MARTA ODZENIAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medical Sciences, Department of Psychology

<sup>2</sup> Maria Skłodowska-Curie Medical University in Warsaw, Medical Faculty

The COVID-19 pandemic, which has been ongoing since the end of 2019, has put before the world the first such a large health crisis in the twenty-first century and continues to play a huge role to this day. Despite the passage of time, research on the SARS-CoV-2 virus, extensive knowledge about the routes of infection and the course of the disease, as well as long-term consequences, we are still looking for answers to many questions, including the mental state of people. The psyche is one of the zones undoubtedly most affected by the pandemic situation. Still, the assessment of the factors causing certain psychological symptoms remains not fully understood.

Given the above information, the aim of the study was to conduct a retrospective comparison, which means that it will take into account the correlation between different groups of people. The main goal was to assess the impact of SARS-CoV-2 infection on mental state and the appearance of psychopathological symptoms, relative to the group subjected only to quarantine. Examining both groups, totaling about 200 people in the period of 6 months after getting sick or quarantine, using the same tools – a self-questionnaire, and MCQ-30 (Metacognitions Questionnaire- 30), GHQ-12 questionnaires (General Health Questionnaire- 12) , which allowed for a reliable basis for drawing conclusions about the COVID-19-mental health relationship. This made it possible to investigate the differences and the authentic trigger for mental disorders. Thanks to this, the answer to the question of which variables are the most important factor of psychopathology was more likely to be approximated, and thus properly prepare treatment, therapies and enable the best possible prevention. In addition, a homogeneous protocol will reduce errors related to the variability of questions and the time of their execution. Finally, the cross-cutting nature and focus on symptoms that persist in the perspective of the long-term impact of the neuropsychiatric load after COVID-19 will allow to exclude factors related to the direct duration of infection or quarantine.

## WYBRANE CYTOKINY/CHEMOKINY JAKO MARKERY PROGNOSTYCZNE W ZAKAŻENIU COVID-19

MONIKA LEŚNIAK<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>1</sup>, KLAUDIA WIELGOSZ<sup>1</sup>, ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1</sup>, JACEK Z. KUBIAK<sup>1</sup>, KATARZYNA PLEWKA<sup>2</sup>, KSZYSZTOF KLOS<sup>2</sup>, ROBERT ZDANOWSKI<sup>1</sup>, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych

<sup>2</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergologii

**Wstęp:** Wśród pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 nadal utrzymuje się wysoki wskaźnik śmiertelności. Dotyczy to zwłaszcza chorych wymagających inwazyjnego wspomagania oddychania. Wczesna identyfikacja biomarkerów odpowiadających za niekorzystną prognozę leczenia jest ważnym elementem postępowania terapeutycznego.

**Cel:** Wytypowanie potencjalnych wyznaczników odpowiedzi immunologicznej korelujących z ciężkością przebiegu COVID-19.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na grupie 105 hospitalizowanych dorosłych pacjentów z COVID-19. Kontrolę stanowiło 26 osób bez wywiadu w kierunku COVID-19. Na podstawie postępu choroby w okresie obserwacji pacjentów podzielono na dwie grupy: 1. z łagodnymi/umiarkowanymi objawami (tlenoterapia z niskimi dawkami tlenu przy użyciu kaniul nosowych lub masek twarzowych) i 2. z ciężką niewydolnością oddechową (tlenoterapia donosowa z wysokimi dawkami tlenu lub wentylacją inwazyjną). Do grupy 1 zakwalifikowano 92 pacjentów z lekkim przebiegiem COVID-19, natomiast do grupy 2 zakwalifikowano 13 pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19. We wszystkich grupach oznaczono stężenie cytokin (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, INF $\gamma$ , IL-17) oraz chemokin (CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9, XCL10) w surowicy krwi metodą cytometrii przepływowej (CytoFlex, Beckman Coulter).

**Wyniki:** Analiza stężeń wybranych cytokin w surowicy krwi wykazała zwiększone stężenia w zakresie IL-2, IL-6 i INF $\gamma$  u wszystkich pacjentów w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast stężenie IL-17 było istotnie podwyższone wyłącznie u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19. W przypadku chemokin: CXCL8, CXCL9, CXCL10 zaobserwowano istotny wzrost stężenia u wszystkich pacjentów w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto stężenie chemokiny CXCL10 było istotnie wyższe u pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 w porównaniu do pacjentów z lekkim przebiegiem tej choroby.

**Wnioski:** Zaobserwowane zmiany potwierdzają duży potencjał IL-17 oraz CXCL10 jako markerów ciężkiego przebiegu COVID-19.

*Badania finansowane przez NCBiR w ramach projektu SZPITALE-JEDNO-IMIENNE/43/2020 oraz przez MEiN w ramach projektu 5/491340/SPUB/SN/2021*



## SELECTED CYTOKINES/CHEMOKINES AS PROGNOSTIC MARKERS IN COVID-19 INFECTION

MONIKA LEŚNIAK<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>1</sup>, KLAUDIA WIELGOSZ<sup>1</sup>, ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1</sup>, JACEK Z. KUBIAK<sup>1</sup>, KATARZYNA PLEWKA<sup>2</sup>, KSZYSZTOF KLOS<sup>2</sup>, ROBERT ZDANOWSKI<sup>1</sup>, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Military Institute of Medicine, Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies

<sup>2</sup> Military Institute of Medicine, Department of Infectious Diseases and Allergology

**Introduction:** There is still the high mortality rate among patients hospitalized with COVID-19, especially, in patients requiring invasive ventilatory support. Early identification of prognostic factors corresponding to unfavourable outcome is an important part of therapeutic management.

**Aim:** Identification of potential immune response biomarkers correlating with COVID-19 severity.

**Material and methods:** We conducted a study in a cohort of 105 hospitalized adult patients with COVID-19. 26 individuals without a history of COVID-19 were used as a control. Based on the disease progression in the follow-up period the patients were divided into 2 groups: 1. with mild/moderate symptoms (low-dose oxygen therapy using nasal cannulas or face masks) and 2. with severe respiratory failure (high-flow nasal oxygen therapy or invasive ventilation). 92 patients with mild COVID-19 were classified in group 1 and 13 patients with severe COVID-19 were classified in group 2. Serum levels of cytokines (IL-2, IL-4, IL-6, IL 10, TNF, INF $\gamma$ , IL-17) and chemokines (CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL9, XCL10) were determined in all the groups by flow cytometry (CytoFlex, Beckman Coulter).

**Results:** Analysis of serum concentrations of selected cytokines revealed increased levels of IL-2, IL-6 and INF $\gamma$  in all patients compared to controls. In contrast, IL-17 levels were significantly elevated only in patients with severe COVID-19. For the chemokines: CXCL8, CXCL9, CXCL10 significant increases were observed in all patients compared to controls. In addition, CXCL10 chemokine levels were significantly higher in patients with a severe COVID-19 in comparison to patients with a mild course of this disease.

**Conclusions:** The observed changes confirm the strong potential of IL-17 and CXCL10 as markers of severe COVID-19 progression.

*Research supported by NCBiR project SZPITALE-JEDNOIMIENNE /43/2020 and project by MEiN under the project 5/491340/SPUB/SN/2021*



## ROLA LIMFOCYTÓW REGULATOROWYCH W ZAKAŻENIU WIRUSEM SARS CoV-2

ROBERT ZDANOWSKI<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>1</sup>, MONIKA LEŚNIAK<sup>1</sup>, KLAUDIA PORĘBSKA<sup>1</sup>, KSZYSZTOF KŁOS<sup>2</sup>, KATARZYNA PLEWKA<sup>2</sup>, ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1</sup>, KLAUDIA BRODĄCZEWSKA<sup>1</sup>, JACEK Z. KUBIAK<sup>1</sup>, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych

<sup>2</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergologii

**Wstęp:** Limfocyty T regulatorowe (Treg) są komórkami odpowiedzialnymi za wygaszenie odpowiedzi immunologicznej oraz ochronę organizmu przed autoagresją. Ich aktywność supresorowa polega na kontakcie bezpośrednim z komórkami immunokompetentnymi oraz pośrednio poprzez wydzielanie cytokin w tym IL-10 oraz TGF- $\beta$ . Limfocyty o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>Hi</sup>CD127<sup>Lo</sup> są główną populacją z której wywodzą się naturalne limfocyty T regulatorowe. Limfocyty B regulatorowe, podobnie jak Treg, pełnią funkcję w wygaszaniu odpowiedzi immunologicznej jednak ich rola jest znacznie mniej poznana. Działają one przez wydzielanie supresorowych cytokin (IL-10, TGF- $\beta$ ), immunoglobulin (IgG4, sialowane IgG) i granzymów oraz przez bezpośredni kontakt międzykomórkowy.

**Cel:** Określenie roli limfocytów regulatorowych w zakażeniu wirusem SARS CoV-2.

**Materiały i metody:** Wykorzystano próbki pochodzące od 44 pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 oraz 26 osób bez historii COVID-19 (grupa kontrolna). Pacjentów podzielono na dwie grupy na podstawie postępu choroby w okresie obserwacji. Do pierwszej grupy zakwalifikowano 38 pacjentów z lekkim przebiegiem COVID-19 (tlenoterapia z niskimi dawkami tlenu przy użyciu kaniul nosowych lub masek twarzowych), natomiast do drugiej grupy zakwalifikowano 6 pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 (tlenoterapia donosowa z wysokimi dawkami tlenu lub wentylacją inwazyjną). Odsetek limfocytów regulatorowych oznaczono metodą cytometrii przepływowej (CytoFLEX, Beckman Coulter).

**Wyniki:** We wszystkich grupach uzyskano istotne różnice w odsetku limfocytów T regulatorowych posiadających wewnątrz komórki ekspresję FoxP3<sup>+</sup> oraz limfocytów B regulatorowych o fenotypie CD19<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>. U pacjentów z ciężkim przebiegiem COVID-19 zaobserwowano znaczny spadek limfocytów T o fenotypie CD4<sup>+</sup>CD25<sup>Hi</sup>CD127<sup>Lo</sup> będących główną populacją z której wywodzą się naturalne limfocyty Treg.

**Wnioski:** Obniżenie odsetka subpopulacji limfocytów regulatorowych w połączeniu z silnym wzrostem odpowiedzi prozapalnej wydaje się być główną przyczyną ciężkiego przebiegu zakażenia SARS CoV-2.

*Badania finansowane przez NCBiR w ramach projektu SZPITALE-JEDNO-IMIENNE/43/2020 oraz przez MEiN w ramach projektu 5/491340/SPUB/SN/2021*

## ROLE OF REGULATORY LYMPHOCYTES IN SARS CoV-2 VIRUS INFECTION

ROBERT ZDANOWSKI<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>1</sup>, MONIKA LEŚNIAK<sup>1</sup>, KLAUDIA PORĘBSKA<sup>1</sup>, KSZYSZTOF KŁOS<sup>2</sup>, KATARZYNA PLEWKA<sup>2</sup>, ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1</sup>, KLAUDIA BRODĄCZEWSKA<sup>1</sup>, JACEK Z. KUBIAK<sup>1</sup>, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Military Institute of Medicine, Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies

<sup>2</sup> Military Institute of Medicine, Department of Infectious Diseases and Allergology

**Introduction:** Regulatory T lymphocytes (Treg) are the cells responsible for extinguishing the immune response and protecting the body against autoimmune damage. Their suppressor activity is based on direct contact with immunocompetent cells and indirectly through the secretion of cytokines, including IL-10 and TGF- $\beta$ . Lymphocytes with the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>Hi</sup>CD127<sup>Lo</sup> phenotype are the main population from which natural T regulatory lymphocytes derive. Regulatory B lymphocytes, like Treg, play a role in extinguishing the immune response, but their role is much less understood. They act by secreting suppressor cytokines (IL10, TGF  $\beta$ ), immunoglobulins (IgG4, sialylated IgG), granzymes, and by direct cell-to-cell contact.

**Aim:** To determine the role of regulatory lymphocytes in SARS CoV-2 infection

**Materials and methods:** Samples from 44 patients hospitalized due to COVID-19 and 26 people without a history of COVID-19 (control group) were used. Patients were divided into two groups based on disease progression during the follow-up period. The first group included 38 patients with a mild course of COVID-19 (oxygen therapy with low doses of oxygen using nasal cannulas or face masks), while the second group included 6 patients with a severe course of COVID-19 (nasal oxygen therapy with high doses of oxygen or invasive ventilation). The percentage of regulatory lymphocytes was determined by flow cytometry (CytoFLEX, Beckman Coulter).

**Conclusions:** Decrease in the percentage of regulatory lymphocyte subpopulations combined with a strong increase in the pro-inflammatory response appears to be the main course of SARS CoV-2 infection.

*Research supported by NCBIr project SZPITALE-JEDNOIMIENNE /43/2020 and project by MEiN under the project 5/491340/SPUB/SN/2021*

## SEROPREWALENCJA ZAKAŻEŃ SARS-COV-2 POŚRÓD PSÓW, KOTÓW I FRETEK ŻYJĄCYCH W POLSCE, 2021/2022

EDYTA KACZOREK-ŁUKOWSKA<sup>1</sup>, KERSTIN WERNIKE<sup>2</sup>, MARTIN BEER<sup>2</sup>, MAŁGORZATA WRÓBEL<sup>1</sup>, JOANNA MAŁACZEWSKA<sup>1</sup>, ELŻBIETA MIKULSKA-SKUPIEŃ<sup>3</sup>, KAROLINA MALEWSKA<sup>4</sup>, IZABELA MIELCZARSKA<sup>5</sup>, ALICJA BLANK<sup>1</sup>, MIROŚŁAWA BLANK<sup>6</sup>, ANNA JAŁONICKA<sup>7</sup>, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology and Clinical Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, Poland;

<sup>2</sup> Institute of Diagnostic Virology, Friedrich-Loeffler-Institut, Südufer 10, 17493 Greifswald – Insel Riems, Germany;

<sup>3</sup> Veterinary Health Center “Lion”, Wilczyńskiego 26, 10-686 Olsztyn, Poland;

<sup>4</sup> Veterinary Polyclinic, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, Poland; 5Tri-City Veterinary Clinic, Świętokrzyska 33A, 80-041 Gdańsk;

<sup>6</sup> Association of Friends of Ferrets, Mickiewicza 18a/4, 01-517 Warsaw, Poland;

<sup>7</sup> PULSVET Specialist Veterinary Clinic, Alternatywy 7/U8, 02-775 Warsaw, Poland

Wirus SARS-CoV-2 został po raz pierwszy zidentyfikowany w Chinach i jest odpowiedzialny za obecnie trwającą pandemię. W początkowym okresie skupiano się jedynie na przypadkach zachorowań u ludzi. Nie mniej z czasem zainteresowanie przesunęło się na to, jak SARS-CoV-2 wpływa na zwierzęta domowe. Najpopularniejszymi zwierzętami towarzyszącymi są psy i koty, ale coraz większą popularnością zaczynają cieszyć się również fretki. Do tej pory potwierdzono, iż wirus SARS-CoV-2 może występować pośród tych zwierząt, a do zakażenia najprawdopodobniej dochodzi poprzez kontakt z zakażonym właścicielem. Naszym badanie przeprowadzono łącznie na 676 zwierzętach (45 fretek, 388 psów i 243 kotów) żyjących na terenie Polski. Próby surowic zbierano w okresie: czerwiec-wrzesień 2021 dla fretek i październik-luty 2021/2022 dla psów i kotów. Wszystkie surowice były badane na obecność przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 przy użyciu wielogatunkowego testu ELISA opartego wykrywaniu domeny wiążącej receptor (RBD) oraz w przypadku prób dodatnich i wątpliwych dodatkowo wykonano badanie pośredniego testu immunofluorescencyjnego (iIFA). W przypadku fretek które zostały włączone do badania, 29% (13/45) miało kontakt z właścicielami z potwierdzonym zakażeniem SARS-CoV-2. Niemniej jednak u żadnego ze zwierząt nie udało się wykryć przeciwciał specyficznych dla SARS-CoV-2, niezależnie od statusu zakażenia właściciela. Wyniki te sugerują, że zwierzęta te nie tak łatwo mogą ulec zakażeniu w warunkach naturalnych, nawet po dłuższym kontakcie z zakażoną osobą. W przypadku pozostałych zwierząt okazało się, że 16% psów i 18,9% kotów było serododatnich. Tak wysoka seroprewalencja pośród psów i kotów prawdopodobnie związana jest z tym, że w okresie pobierania prób Polska znajdowała się w środku czwartej fali pandemii.

## SEROPREVALENCE OF SARS-COV-2 INFECTION AMONG DOGS, CATS AND FERRETS LIVING IN POLAND, 2021/2022

EDYTA KACZOREK-LUKOWSKA<sup>1</sup>, KERSTIN WERNIKE<sup>2</sup>, MARTIN BEER<sup>2</sup>, MAŁGORZATA WRÓBEL<sup>1</sup>, JOANNA MAŁACZEWSKA<sup>1</sup>, ELŻBIETA MIKULSKA-SKUPIEŃ<sup>3</sup>, KAROLINA MALEWSKA<sup>4</sup>, IZABELA MIELCZARSKA<sup>5</sup>, ALICJA BLANK<sup>1</sup>, MIROŚŁAWA BLANK<sup>6</sup>, ANNA JAŁONICKA<sup>7</sup>, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiology and Clinical Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, Poland;

<sup>2</sup> Institute of Diagnostic Virology, Friedrich-Loeffler-Institut, Südufer 10, 17493 Greifswald – Insel Riems, Germany;

<sup>3</sup> Veterinary Health Center “Lion”, Wilczyńskiego 26, 10-686 Olsztyn, Poland;

<sup>4</sup> Veterinary Polyclinic, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, Poland;

<sup>5</sup> Tri-City Veterinary Clinic, Świętokrzyska 33A, 80-041 Gdańsk;

<sup>6</sup> Association of Friends of Ferrets, Mickiewicza 18a/4, 01-517 Warsaw, Poland;

<sup>7</sup> PULSVET Specialist Veterinary Clinic, Alternatywy 7/U8, 02-775 Warsaw, Poland

The SARS-CoV-2 virus was first identified in China and is responsible for the pandemic currently ongoing. In the early period, the focus was only on human cases. Over time, no less, interest has now shifted to how SARS-CoV-2 affects pets. The most common companion animals are dogs and cats, but ferrets are also starting to become more and more popular. So far, it has been confirmed that the SARS-CoV-2 virus can occur among these animals and that infection most likely occurs through contact, with an infected owner. Our study was conducted on a total of 676 animals (45 ferrets, 388 dogs, and 243 cats) living in Poland. Samples of sera were collected from June-September 2021 for ferrets and October-February 2021/2022 for dogs and cats. All sera were tested for the presence of antibodies to SARS-CoV-2 using a multispecies ELISA based on detection of the receptor-binding domain (RBD), and for positive and doubtful samples, an indirect immunofluorescence assay (iIFA) was additionally performed. For ferrets that were included in the study, 29% (13/45) had contact owners with confirmed SARS-CoV-2 infection. However, none of the animals could be detected with SARS-CoV-2-specific antibodies, regardless of the owner's infection status. These results suggest that these animals may not as easily become infected in the natural environment, even after prolonged contact with an infected person. For other animals, we found that 16% of dogs and 18.9% of cats were seropositive. Such high seroprevalence among dogs and cats is probably related to the fact that at the time of sampling Poland was in the middle of the fourth wave of the pandemic.

## WYSTĘPOWANIE STANÓW ZAPALNYCH U MŁODYCH DOROSŁYCH

ALICJA SIERAKOWSKA<sup>1</sup>, MICHAŁ BRACZKOWSKI<sup>2</sup>, DARIUSZ SOSZYŃSKI<sup>2</sup>, BEATA CHOMICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Opolski, Wydział Lekarski, Studenckie Koło Naukowe Fizjologii

<sup>2</sup> Uniwersytet Opolski, Wydział Lekarski, Zakład Fizjologii

Tlenek azotu to endogenny, rozpuszczalny gaz, któremu przypisuje się wysoką aktywność biologiczną. Zaangażowany zarówno w procesy fizjologiczne jak i patofizjologiczne organizmu. Aktywność tego związku jest wprost proporcjonalna do stężenia w jakim występuje. Regulacja homeostazy układu krwionośnego, oddechowego, odpornościowego czy przewodnictwo w układzie nerwowym koreluje z niskim stężeniem tlenu azotu. Natomiast wysokiemu stężeniu cząsteczki przypisuje się działanie prozapalne oraz cytotoksyczne. Za jego aktywność odpowiedzialne są syntazy NO, występujące w poszczególnych izoformach t.j. eNOS- śródbłonkowa, nNOS- neuronalna oraz iNOS- indukowalna. Aktywność nNOS warunkuje produkcję wielokrotnie wyższego stężenia związku w porównaniu z poprzednimi formami. Jej największa ekspresja zachodzi w pneumocytach, gdzie za pośrednictwem cytokin prozapalnych takich jak IL-6, IL-1B, TNF-a czy INF-γ indukowana jest działalność syntazy. Celem eksperymentu był pomiar stężeń tlenu azotu w wydychanym powietrzu, będącego wykładnikiem toczącego się procesu zapalnego w organizmie. Grupę badawczą stanowili młodzi dorośli-studenci II roku kierunku Lekarskiego Uniwersytetu Opolskiego. Grupa badawcza objęła 96 osób w wieku między 20 a 30 rokiem życia, po wcześniejszym wykluczeniu eozynofilowego zapalenia oskrzeli, oskrzelowej astmy alergicznej, astmy niealergicznej, POCHP, dyskinezy rzęsek, alergicznego nieżytu nosa, okresowych obturacji oskrzeli oraz przewlekłego kaszlu, jak również osób przyjmujących przewlekle leki przeciwzapalne. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem aparatu Medisoft FeNO+. Całość projektu badawczego obejmowała dwukrotne pomiary stężenia tlenu azotu w wydychanym powietrzu w odstępie 60 dni. Każdy pomiar składał się z trzech następujących bezpośrednio po sobie powtórzeń i ustaleniu średniej. Przy drugim pomiarze zaobserwowano spadek stężenia NO u 65% badanych. Powyższe wyniki wskazują na przewlekle występujący stan zapalny, który zgodnie z teorią neuroinflamacji może leżeć u podstaw zarówno przewlekłych chorób somatycznych jak i psychicznych.

## EXISTENCE INFLAMMATORY IN YOUNG ADULTS

*ALICJA SIERAKOWSKA<sup>1</sup>, MICHAŁ BRACZKOWSKI<sup>2</sup>, DARIUSZ SOSZYŃSKI<sup>2</sup>, BEATA CHOMICZ<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> University of Opole, Wydział Lekarski, Studenckie Koło Naukowe Fizjologii

<sup>2</sup> University of Opole, Wydział Lekarski, Zakład Fizjologii

Nitric oxide is an endogenous, soluble gas with high biological activity. Depending on the concentration at which it occurs, nitric oxide is involved in both the physiological and pathophysiological processes, and its activity is directly proportional to this concentration. The regulation of homeostasis of the circulatory, respiratory and immune systems as well as conductivity in the nervous system correlate with a low concentration of nitric oxide. On the other hand, a high concentration of this molecule is attributed a pro-inflammatory and cytotoxic effect. Its action is based directly on the activity of NO synthases, among which three isoforms should be distinguished: eNOS-endothelial, nNOS-neuronal and inducible iNOS, which is involved in inflammatory processes. The activity of nNOS determines the production of a much higher concentration of the nitric oxide compared to other isoforms. The highest expression of nNOS occurs in pneumocytes, where synthase expression is enhanced by pro-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-1B, TNF- $\alpha$  and INF- $\gamma$ . The aim of the study was to compare the concentrations of nitric oxide in the exhaled air, which is an indicator of the ongoing inflammatory process under various conditions with different health status of the participants of research project. The research group consisted of young adults – 2nd year students of the Faculty of Medicine at the University of Opole. The research group included 96 people aged between 20 and 30, after previously excluding eosinophilic bronchitis, bronchial allergic asthma, non-allergic asthma, chronic obstructive pulmonary disease, ciliary dyskinesia, allergic rhinitis, periodic bronchial obstruction and chronic cough, as well as people taking chronic medications anti-inflammatory. The tests were carried out with the use of the Medisoft FeNO + apparatus. The entire research project included two measurements of the nitric oxide concentration in the exhaled air, 60 days apart. Each measurement consisted of three consecutive repetitions and determination of the mean. In 65% of respondents, a decrease in nitric oxide concentration was observed during the second measurement. Results indicate chronic inflammatory, which in accordance in neuroinflammatory theories, based on chronic somatic and psychiatry diseases.

## **BADANIA NAD AKTYWNOŚCIĄ CYTOTOKSYCZNĄ ZWIĄZKÓW Z GRUPY FITOALEKSYN NA KOMÓRKI NOWOTWOROWE WYWODZĄCE SIĘ Z ENTEROCYTÓW**

*ANNA SIEROŚLAWSKA, ANNA RYMUSZKA*

Katolicki Uniwersytet Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii

Choroby nowotworowe są jedną z najczęstszych przyczyn umieralności w Polsce i na świecie. Najnowsze statystyki wskazują, że w ciągu ostatnich trzydziestu lat, liczba zachorowań na nowotwory złośliwe w Polsce wrosła ponad dwukrotnie. Leczenie systemowe obejmuje chemioterapię, czyli terapię z wykorzystaniem cytostatyków, hormonoterapię, immunoterapię, czy w końcu leczenie celowane.

W ostatnich latach wiele nadziei pokłada się w rozwój nowych terapii bazujących na substancjach czynnych pozyskiwanych z roślin. Szczególne miejsce zajmują fitoaleksyny. Są to związki organiczne należące do izoflawonoidów, seskwiterpenów, poliacetylenów i innych grup wytwarzanych przez rośliny w odpowiedzi na sytuację stresową.

Istnieją doniesienia, że niektóre indolowe fitoaleksyny mogą wykazywać aktywność przeciwdrobnoustrojową, przeciwzapalną, antyoksydacyjną, a także blokować proliferację komórek zwierzęcych i ludzkich. Uważa się, że niektóre związki z tej grupy mogą interferować z procesami transformacji nowotworowej, w tym regulować kontrolę cyklu komórkowego, apoptozę, czy blokować różne szlaki sygnalizacyjne indukowane w transformowanych komórkach. Pomiędzy różnymi zidentyfikowanymi substancjami należącymi do fitoaleksyn, szczególnie interesujące wydają się brasylnina i kamaleksyna. Celem prezentowanych badań było określenie cytotoksyczności i selektywności obu związków wobec komórek wywodzących się z przewodu pokarmowego człowieka. W badaniach wykorzystane zostały komórki linii Caco-2 oraz linii CCD-18Co (CRL-1459). Linia Caco-2 to komórki gruczolakoraka jelita grubego, powszechnie wykorzystywane do m.in. oceny przenikalności leków, jak również do określania cytotoksyczności różnych substancji. Jako model odniesienia wybrane zostały komórki CCD-18Co, będące normalnymi, ludzkimi fibroblastami, pochodzącymi z okrężnicy.

Wykazano działanie cytotoksyczne obu związków, przy czym wrażliwość obu badanych rodzajów komórek na zastosowane koncentracje fitoaleksyn była odmienna.



## STUDY ON THE CYTOTOXIC ACTIVITY OF COMPOUNDS FROM THE PHYTOALEXIN GROUP ON TUMOR CELLS DERIVED FROM ENTEROCYTES

*ANNA SIEROŚLAWSKA, ANNA RYMUSZKA*

John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health Sciences, Department of Animal Physiology and Toxicology

Neoplastic diseases are one of the most common causes of mortality in Poland and in the world. The latest statistics show that in the last thirty years, the number of cases of malignant neoplasms in Poland has more than doubled. Systemic treatment includes chemotherapy, i.e. therapy with the use of cytostatics, hormone therapy, immunotherapy, and finally targeted therapy.

In recent years, much hope has been placed on the development of new therapies based on active substances derived from plants. Phytoalexins occupy a special place. These are organic compounds belonging to isoflavonoids, sesquiterpenes, polyacetylenes and other groups produced by plants in response to a stressful situation.

It has been reported that some indole phytoalexins may exhibit antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activity, as well as block the proliferation of animal and human cells. It is believed that some compounds from this group may interfere with neoplastic transformation processes, including regulation of cell cycle control, apoptosis, or inhibition of various signaling pathways induced in transformed cells. Among the various identified phytoalexin substances, brasinin and camalexin seem of particular interest.

The aim of the presented research was to determine the cytotoxicity and selectivity of both compounds towards cells derived from the human gastrointestinal tract. Cells of the Caco-2 line and the CCD-18Co line (CRL-1459) were used in the research. The Caco-2 line consists of colorectal adenocarcinoma cells, commonly used for e.g. drug permeation assessment, as well as to determine the cytotoxicity of various substances. CCD-18Co cells, which are normal human colon-derived fibroblasts, were chosen as the reference model.

The cytotoxic activity of both compounds was demonstrated, while the sensitivity of both tested cell types to the applied phytoalexin concentrations varied.



## METALOKARBORANY JAKO INNOWACYJNE CZĄSTECZKI PRZECIWGRZYBICZE

KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, MONIKA JANECKO<sup>1</sup>, WALDEMAR GOLDEMAN<sup>2</sup>, ANNA NASULEWICZ-GOLDEMAN<sup>3</sup>, MATEUSZ PSURSKI<sup>3</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>4</sup>, TOMASZ M. GOSZCZYŃSKI<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biologii Molekularnej, Lublin

<sup>2</sup> Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Organicznej i Medycznej, Wrocław

<sup>3</sup> Polska Akademia Nauk, Instytut Immunologii i Terapii Eksperymentalnej im. Ludwika Hirszfelda, Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej, Wrocław

<sup>4</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra Chemii Medycznej, Lublin

<sup>5</sup> Polska Akademia Nauk, Instytut Immunologii i Terapii Eksperymentalnej im. Ludwika Hirszfelda, Laboratorium Chemii Biomedycznej, Wrocław

Infekcje grzybicze wywołane przez drożdżaki z rodzaju *Candida* stanowią poważny problem zdrowia publicznego. Ze względu na fakt, że leki przeciwgrzybicze są często nieefektywne, gdyż drożdżaki wykazują oporność na stosowane substancje, istnieje paląca potrzeba opracowywania nowych antymikotyków. Ciekawą propozycją w tym zakresie są abiotyczne cząsteczki metalokarboranów. Otwierają one możliwość opracowania nowej klasy związków o wysokiej aktywności wobec drożdżaków z rodzaju *Candida*, omijających znane mechanizmy oporności. Badaniami objęto szesnaście cząsteczek – pochodnych metalokarboranu [COSAN]. Wykazano, że zsyntetyzowane pochodne są aktywne wobec klinicznych izolatów *Candida albicans*, a ponadto hamują wzrost szczepów opornych wobec powszechnie stosowanych leków przeciwgrzybiczych. Zaobserwowano również, że jeden z metalokarboranów wykazywał synergistyczne działanie w połączeniu z Amfoterycyną B. Równocześnie niektóre cząsteczki wykazywały niski poziom toksyczności wobec mysich fibroblastów (Balb/3T3), ludzkich komórek nabłonkowych gruczołu piersiowego (MCF10A), oraz embrionów ryb *Danio rerio*. Przedstawione wyniki pokazują przeciwgrzybiczy potencjał metalokarboranów, które mogą być poważnie brane pod uwagę jako przyszli kandydaci na leki w walce z lekoopornymi drożdżakami.

## METALLACARBORANE DERIVATIVES AS INNOVATIVE ANTIFUNGAL AGENTS

KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, MONIKA JANECKO<sup>1</sup>, WALDEMAR GOLDEMAN<sup>2</sup>, ANNA NASULEWICZ-GOLDEMAN<sup>3</sup>, MATEUSZ PSURSKI<sup>3</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>4</sup>, TOMASZ M. GOSZCZYŃSKI<sup>5</sup>

<sup>1</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Molecular Biology, Lublin, Poland

<sup>2</sup>Wrocław University of Science and Technology, Faculty of Chemistry, Department of Organic and Medicinal Chemistry, Wrocław, Poland

<sup>3</sup>Polish Academy of Sciences, Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Laboratory of Experimental Anticancer Therapy, Wrocław, Poland

<sup>4</sup>Medical University of Lublin, Faculty of Medical Sciences, Department of Medical Chemistry, Lublin, Poland

<sup>5</sup>Polish Academy of Sciences, Hirsfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Laboratory of Biomedical Chemistry, Wrocław, Poland

Infections resulting from *Candida* species are serious public health problems. Since systemic antifungals are often ineffective, and additionally fungi can develop resistance to them, there is a growing need for innovative antimycotics. Our research revealed inorganic, abiotic metallacarboranes as an alternative approach to antifungal therapy. The compounds can provide opportunities for discovering new classes of antimycotics with high anti-*Candida* activity while at the same time insensitivity to drug resistance development and also low toxicity against human cells. Sixteen compounds based on metallacarborane cage, cobalt bis-dicarbollide, [COSAN] were studied on a panel of 100 clinical isolates of *Candida albicans*. Presented data prove that metallacarborane derivatives are effective against clinical isolates of *Candida albicans*, even those resistant to systemic drugs, and show synergistic potential in combination with the antifungal drug Amphotericin B. In parallel, some novel antifungals show acceptable low toxicity level to normal murine fibroblasts (Balb/3T3), human mammary gland epithelial cells (MCF10A) as well as to fish embryos (*Danio rerio*). The research shows that metallacarborane derivatives have a potential to put up a drug candidate for the future fight against drug-resistant fungal pathogens.

## JEZIORA ZAPADLISKOWE JAKO BOGATE ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW PRZECIWNOWOTWOROWYCH. NA PRZYKŁADZIE MAKROFITU *CERATOPHYLLUM DEMERSUM*

MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, TOMASZ LENARD<sup>2</sup>, MARTA OLECH<sup>3</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, ELŻBIETA KOCHANOWICZ<sup>1</sup>, MAŁGORZATA PONIEWOZIK<sup>4</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>5</sup>, KAMILA GÓRKA<sup>1</sup>, MATEUSZ KWAŚNIK<sup>6</sup>, AJOKU U. SAMPSON<sup>6</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biologii Molekularnej,

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii,

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Farmakognozji i Botaniki Farmaceutycznej,

<sup>4</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin,

<sup>5</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Chemii Medycznej,

<sup>6</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Koło Naukowe Biotechnologii

Nowotwory są obecnie drugą najpowszechniejszą chorobą i najczęstszą przyczyną zgonów na świecie. Chemioterapia powoduje często szereg skutków ubocznych, dlatego istnieje pilna potrzeba poszukiwania substancji pochodzenia naturalnego, które mogą być stosowane jako środki przeciwnowotworowe lub chemoprewencyjne. Zastosowanie roślin jest jedną z najstarszych gałęzi medycyny, a substancje pochodzenia roślinnego używane są zarówno w profilaktyce problemów zdrowotnych jak i leczeniu chorób przewlekłych. Rogatek sztywny (*Ceratophyllum demersum* L.) jest przykładem makrofitu zanurzonego, wykazującym unikalne cechy związane ze specyfiką jego występowania. Doniesienia literaturowe wskazują na zastosowanie rośliny jako środka przeciwbólowego, przeciwgorączkowego, przeciwzapalnego, leczącego wrzody, rany i krwawienia. Biorąc pod uwagę powyższe wskazania, wykorzystano jego potencjał skupiając się na potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych. Badania obejmowały: zbiór roślin i ekstrakcję, analizy fitochemiczne ekstraktu, które ujawniły bogatą zawartość substancji biologicznie czynnych, badania cytotoksyczności wobec sześciu linii komórek nowotworowych układu pokarmowego, wykazujące istotny wpływ na żywotność szczególnie trzech linii, wskazując linię gruczolakoraka jelita grubego (SW480) jako najbardziej wrażliwą oraz ocenę toksyczności na modelu zwierzęcym danio pręgowanego (*Danio rerio*), które wykazało brak lub niską toksyczność w zakresie stężeń efektywnych wobec komórek nowotworowych.

## ANTHROPOGENIC LAKES AS A RICH SOURCE OF ANTICANCER COMPOUNDS. THE CASE OF THE SUBMERGED MACROPHYTE *CERATOPHYLLUM DEMERSUM*

MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, TOMASZ LENARD<sup>2</sup>, MARTA OLECH<sup>3</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, ELŻBIETA KOCHANOWICZ<sup>1</sup>, MAŁGORZATA PONIEWOZIK<sup>4</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>5</sup>, KAMILA GÓRKA<sup>1</sup>, MATEUSZ KWAŚNIK<sup>6</sup>, AJOKU U. SAMPSON<sup>6</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Molecular Biology, Lublin, Poland,

<sup>2</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Animal Physiology and Toxicology, Lublin, Poland,

<sup>3</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, Lublin, Poland,

<sup>4</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Plant Physiology and Biotechnology, Lublin, Poland,

<sup>5</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medical Sciences, Department of Medical Chemistry, Lublin, Poland,

<sup>6</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Scientific Circle of Biotechnology Students, Lublin, Poland

Cancer is the second most common disease and the most frequent cause of death worldwide. Chemotherapy often cause a number of side effects, therefore, there is an urgent need to search for substances of natural origin that can be used as anti-cancer or chemopreventive agents. The use of plants is one of the oldest branches of medicine, substances of plant origin are applied as both prevention of health problems and treatment of chronic diseases. Hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) is an example of a submerged macrophyte, exhibiting unique properties related to the specificity of its occurrence. Literature reports indicate the use of the plant as a pain relieving, antipyretic, anti-inflammatory, curing ulcers, wounds and bleedings. Given the above indications, we used its potential focusing on possible anti-cancer properties. Research included: collection of plants and extraction, phytochemical studies of the obtained extract, which revealed rich composition of biologically active substances, cytotoxicity studies against six cancer cell lines derived from digestive system, showing significant impact on viability of particularly three lines, indicating colorectal adenocarcinoma cell line (SW480) as the most sensitive one and toxicity evaluation on zebrafish (*Danio rerio*) animal model, which showed no or low toxicity in the concentration range effective against cancer cells.

## NOWE MOŻLIWOŚCI LECZENIA ZAKAŻEŃ *CANDIDA ALBICANS* OPARTE NA NATURALNYCH SUBSTANCJACH

MONIKA JANECZKO, KONRAD KUBIŃSKI, MACIEJ MASŁYK, ELŻBIETA KOCHANOWICZ, KAMILA GÓRKA

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biologii Molekularnej, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, Polska Email: monika.janeczko@kul.pl

Obecnie głównym problemem w dziedzinie mikologii medycznej jest oporność patogenów grzybowych na leki. W porównaniu z antybiotykami przeciwbakteryjnymi dostępność środków przeciugrzybiczych stosowanych w terapii jest znacznie mniejsza. Wynika to głównie z faktu, że grzyby są organizmami eukaryotycznymi, co zbliża je ewolucyjnie do komórek ludzkich i ogranicza możliwości pozyskania selektywnych celów komórkowych dla leków [1].

Ograniczone możliwości leczenia chorób grzybiczych spowodowane opornością stworzyły potrzebę poszukiwania nowych sposobów na skuteczną terapię. Rozwiązaniem tego problemu jest identyfikacja nowych cząsteczek o aktywności przeciugrzybiczej skierowanych zarówno na znane, jak i na nowe cele molekularne komórek patogenów. Alternatywną i efektywną metodą leczenia jest również terapia skojarzona, polegająca na łączeniu nowych cząsteczek z lekami przeciugrzybiczymi w celu zniwelowania efektów ubocznych i wzmocnienia ich aktywności. Skuteczne środki przeciugrzybicze są często identyfikowane i otrzymywane z naturalnych źródeł, w tym głównie z drobnoustrojów i roślin [2].

Niniejsza prezentacja dotyczy aktywności naturalnych substancji roślinnych, emodyny, sylimaryny, bajkaleiny i kwercetyny skierowanej przeciw *Candida albicans*, który jest najczęstszym ludzkim patogenem grzybiczym. Związki te zostały przebadane wielokierunkowo, a ich aktywności ściśle powiązano ze specyficznymi czynnikami wirulencji drożdżaka, w tym zdolności przylegania do komórek gospodarza i powierzchni abiotycznych, tworzenia biofilmu, wydzielania enzymów hydrolitycznych oraz zdolności do przekształcania z drożdżowej do strzępkowej formy wzrostu (dimorfizm) [3].

### Literatura:

- [1] Sun, S., Hoy, M.J., Heitman, J., 2020. Fungal pathogens. Curr Biol. 30(19): R1163-R1169.
- [2] Aslam, B., Wang, W., Arshad, M.I., et al., 2018. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infect Drug Resist. 11:1645-1658.
- [3] Tsui, C., Kong, E.F., Jabra-Rizk, M.A., 2016. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. Pathog Dis. 74(4): ftw018.

## NEW OPTIONS FOR TREATMENT OF *CANDIDA ALBICANS* INFECTIONS BASED ON NATURAL SUBSTANCES

MONIKA JANECKO, KONRAD KUBIŃSKI, MACIEJ MASŁYK, ELŻBIETA KOCHANOWICZ, KAMILA GÓRKA

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Molecular Biology, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, Poland Email address: monika.janeczko@kul.pl

Nowadays drug resistance of fungal pathogens is a major problem in the field of medical mycology. Compared to antibacterial antibiotics, the availability of antifungal agents used in therapy is much lower. This is mainly due to the fact that fungi are eukaryotic organisms, which brings them evolutionarily closer to human cells and limits the possibility of obtaining selective cellular targets for antifungal drugs [1].

The limited treatment options for fungal diseases caused by resistance have created a need to search for new and effective treatments. The solution to this problem is the identification of new molecules with antifungal activity targeting both known and new molecular targets of pathogen cells. An alternative and effective method of treatment is also combination therapy, which consists in combining new molecules with antifungal drugs in order to eliminate side effects and enhance their activity. Effective antifungal agents are often identified and obtained from natural sources, including mostly microbes and plants [2].

This presentation shows the effects of natural plant substances: emodin, silymarin, baicalein and quercetin on *Candida albicans*, which is the most common human fungal pathogen. These compounds have been studied in many aspects, and their activity was closely related to specific factors of yeast virulence, including the ability to adhere to host cells and abiotic surfaces, form biofilm, secrete hydrolytic enzymes, and convert from yeast to filamentous growth (dimorphism) [3].

### References:

- [1] Sun, S., Hoy, M.J., Heitman, J., 2020. Fungal pathogens. *Curr Biol.* 30(19): R1163-R1169.
- [2] Aslam, B., Wang, W., Arshad, M.I., et al., 2018. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist.* 11:1645-1658.
- [3] Tsui, C., Kong, E.F., Jabra-Rizk, M.A., 2016. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathog Dis.* 74(4): ftw018.

## ŚLĄZOWIEC PENSYLWAŃSKI JAKO ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW O DZIAŁANIU PRZECIWGRZYBOWYM

KINGALEWTAK<sup>1</sup>, MARTA FIOŁKA<sup>2</sup>, PAULINA CZAPLEWSKA<sup>3</sup>, TOMASZ BUCHWALD<sup>4</sup>, WERONIKA SOFIŃSKA-CHMIEL<sup>5</sup>

<sup>1</sup> UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Biologii Komórki,

<sup>2</sup> UMCS, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Immunobiologii,

<sup>3</sup> UG i GUMed, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii, Laboratorium Spektrometrii Mas,

<sup>4</sup> Politechnika Poznańska, Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej, Instytut Badań Materiałowych i Inżynierii Kwantowej,

<sup>5</sup> UMCS, Wydział Chemii, Laboratorium Analityczne

Obecny stan chorób cywilizacyjnych do jakich zalicza się grzybice jest wypadkową narastającej oporności mikroorganizmów na dostępne antybiotyki, ale także ich znaczną toksycznością. W związku z tym źródłem nowych terapeutyków z powodzeniem mogą stać się rośliny. Analiza aktywności przeciwgrzybowej ekstraktu z nasion ślázowca pensylwańskiego (*Sida hermaphrodita*) obejmowała zbadanie wpływu surowego ekstraktu z nasion, ekstraktu po dializie oraz frakcji ekstraktu zawierających związki różnych mas cząsteczkowych na komórki drożdży z rodzaju *Candida*.

Stwierdzono, że zarówno surowy ekstrakt z nasion *S. hermaphrodita* jak i ekstrakt po dializie statystycznie istotnie obniżał aktywność metaboliczną komórek *C. albicans* szczepu dzikiego. W przypadku frakcji ekstraktu, największy spadek aktywności metabolicznej komórek drożdży zanotowano po zastosowaniu frakcji zawierającej związki o masie cząsteczkowej przekraczającej 100 kDa. Analizy z zastosowaniem technik mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej, transmisyjnej, mikroskopii sił atomowych, a także spektroskopia w podczerwieni wykazały, że ekstrakt z nasion oddziałował na ścianę komórkową drożdży *C. albicans*. Potwierdziły to zmiany strukturalne w ścianie, wzrost średniej grubości ściany komórkowej w porównaniu do komórek kontrolnych, a także liczne deformacje powierzchni ściany drożdży obserwowane w obrazie mikroskopowym.

Analiza cytotoksyczności względem fibroblastów skóry ludzkiej pozwoliła stwierdzić, że ekstrakt z nasion *S. hermaphrodita* nie wykazywał działania cytotoksycznego. Charakterystyka biochemiczna i proteomiczna, wykorzystująca techniki spektroskopowe, spektrometryczne oraz elektroforetyczne potwierdziła białkowo-węglowodanowy charakter ekstraktu z nasion ślázowca pensylwańskiego. Analiza proteomiczna MALDI i ESI LC-MS/MS uwidoczniła w ekstrakcie typowe dla nasion białka i peptydy o charakterze strukturalnym, zapasowym i enzymatycznym. W profilu białkowym ekstraktu oznaczono także białka i peptydy o charakterze przeciwdrobnoustrojowym, zidentyfikowane jako wicyliny oraz białka transportujące lipidy.

## VIRGNIA MALLOW AS A SOURCE OF COMPOUNDS WITH ANTIFUNGAL ACTIVITY

KINGALEWTAK<sup>1</sup>, MARTA FIOŁKA<sup>2</sup>, PAULINA CZAPLEWSKA<sup>3</sup>, TOMASZ BUCHWALD<sup>4</sup>, WERONIKA SOFIŃSKA-CHMIEL<sup>5</sup>

<sup>1</sup> UMCS, Faculty of Biology and Biotechnology, Department of Cell Biology,

<sup>2</sup> UMCS, Faculty of Biology and Biotechnology, Department of Immunobiology,

<sup>3</sup> University of Gdańsk and Medical University of Gdańsk, Intercollegiate Faculty of Biotechnology Mass Spectrometry Laboratory,

<sup>4</sup> Poznań University of Technology, Faculty of Technical Physics, Institute of Material Research and Quantum Engineering,

<sup>5</sup> UMCS, Faculty of Chemistry, Analytical Laboratory

The current state of civilization diseases, which include mycoses, is the result of the growing resistance of microorganisms to the available antibiotics, but also their significant toxicity. Therefore, plants can successfully become a source of new therapeutics.

The analysis of the antifungal activity of the virgnia mallow seed extract included the examination of the effect of the crude seed extract, the extract after dialysis and extract fractions containing compounds of different molecular weights on *Candida* cells. It was found that both the crude seed extract of *S. hermaphrodita* and the extract after dialysis significantly reduced the metabolic activity of wild-type *C. albicans* cells.

In the case of the seed extract fraction, the greatest decrease in the metabolic activity of yeast cells was recorded after the use of the fraction containing compounds with the molecular weight exceeding 100 kDa. Analyzes using light, fluorescence, transmission, atomic force microscopy as well as infrared spectroscopy showed that the seed extract affects the cell wall of wild-type *C. albicans* cells. This was confirmed by structural changes in the wall, an increase in the average thickness of the cell wall compared to the control cells, as well as numerous deformations of the surface of the yeast wall observed in the microscopic image.

The analysis of the cytotoxicity against human skin fibroblasts showed that the extract of *S. hermaphrodita* seeds did not exhibit cytotoxic activity. Biochemical and proteomic characteristics using spectroscopic, spectrometric, and electrophoretic techniques, confirmed the protein-carbohydrate character of the extract from the mallow seeds, with high similarity to the IR spectrum of albumin. Proteomic analysis using MALDI, and ESI LC-MS/MS revealed in the extract proteins and peptides of structural, storage and enzymatic nature, that are typical for seeds. Proteins and peptides with antimicrobial nature, identified as vicillins and lipid transporting proteins, were also determined in the protein profile of the extract.



## WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWZAPALNE RÓŻANECZNIKA ŻÓŁTEGO (*RHODODENDRON LUTEUM SWEET*)

LENA ŁYKO, MARTA OLECH, RENATA NOWAK, WOJCIECH ZIEMICHÓD

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Botaniki Farmaceutycznej,  
ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

Różanecznik żółty (*Rhododendron luteum* Sweet) jest przedstawicielem rodziny wrzosowatych (*Ericaceae*) występującym naturalnie w Polsce. Wiedza na temat składu fitochemicznego i aktywności biologicznej gatunku jest fragmentaryczna. Dane etnobotaniczne wskazują na jego tradycyjne zastosowanie m.in. w chorobach o podłożu zapalnym.

Celem niniejszej pracy było oznaczenie aktywności przeciwzapalnej i antyoksydacyjnej szeregu ekstraktów z liści *R. luteum*. Dodatkowo zaplanowano otrzymanie i analizę frakcji polifenolowych z tego materiału roślinnego, w kierunku określenia ich składu oraz aktywności przeciwzapalnej w warunkach *in vitro*.

W wyniku badań wskazano typy ekstraktów charakteryzujące się najwyższą zdolnością do hamowania lipooksygenazy. Były to wyciągi zawierające duże ilości polifenoli. W kolejnym etapie w wyniku kilkietapowego frakcjonowania ekstraktu z liści różanecznika otrzymano próbki o wysokiej koncentracji wolnych i związanych kwasów fenolowych oraz aglikonów i glikozydów flawonoidowych. Wszystkie badane próbki wykazywały zdolność do hamowania enzymów prozapalnych: lipooksygenazy ( $IC_{50}$ :  $0.33 \pm 0.01$ – $2.96 \pm 0.06$  mg suchego ekstraktu (SE)/ml) i hialuronidazy ( $IC_{50}$ :  $78.76 \pm 2.09$  –  $429.07 \pm 31.08$   $\mu$ g SE/ml). Niektóre próbki wykazywały także zdolność hamowania cyklooksigenazy-1 ( $IC_{50}$ :  $311.8 \pm 10.95$   $\mu$ g) i cyklooksigenazy-2 ( $IC_{50}$ :  $53.40 \pm 5.07$ ;  $608.09 \pm 14.78$   $\mu$ g SE/ml). Zastosowanie chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS/MS) pozwoliło na określenie składu i zawartości kwasów fenolowych oraz flawonoidów w badanych frakcjach. W najbardziej aktywnych próbkach wykazano obecność znacznych ilości związków fenolowych o właściwościach przeciwzapalnych takich jak: kwas kawowy, katechina czy kwercetyna. Dalsze szczegółowe badania składu chemicznego i aktywności biologicznej różanecznika żółtego są w toku.

## ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF YELLOW AZALEA (*RHODODENDRON LUTEUM* SWEET)

LENA ŁYKO, MARTA OLECH, RENATA NOWAK, WOJCIECH ŻIEMICHÓD

Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin, Poland

*Rhododendron luteum* Sweet is one of the representatives of the *Ericaceae* family occurring naturally in Poland. The knowledge on phytochemical composition and biological activity of the species is limited. However, ethnobotanical data indicate its traditional use in inflammatory diseases.

The aim of the present study was to determine the anti-inflammatory and antioxidant activity of a series of *R. luteum* leaf extracts. Additionally, it was planned to obtain and analyze polyphenolic fractions from this plant material, in order to determine their composition and *in vitro* anti-inflammatory activity.

As a result, the types of extracts characterized by the highest ability to inhibit lipoxygenase were identified. These were extracts containing high amounts of polyphenols. In the next step, after several stages of fractionation of rhododendron leaf extract, samples with high concentration of free and bound phenolic acids, flavonoid aglycones and flavonoid glycosides were obtained. All samples showed the ability to inhibit pro-inflammatory enzymes: lipoxygenase (IC<sub>50</sub>:  $0.33 \pm 0.01$ - $2.96 \pm 0.06$  mg dry extract (DE)/ml) and hyaluronidase (IC<sub>50</sub>:  $78.76 \pm 2.09$  –  $429.07 \pm 31.08$  µg DE/ml). Some of the tested samples also showed the ability to inhibit cyclooxygenase-1 (IC<sub>50</sub>:  $311.8 \pm 10.95$  µg/ml) and cyclooxygenase-2 (IC<sub>50</sub>:  $53.40 \pm 5.07$ ;  $608.09 \pm 14.78$  µg DE/ml). The use of liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS/MS) allowed to determine the composition and content of phenolic acids and flavonoids in the fractions. In the most active samples, the presence of significant amounts of phenolic compounds with anti-inflammatory properties such as caffeic acid, catechin and quercetin was demonstrated.

Further studies on the chemical composition and biological activity of rhododendron are in progress.

## ZASTOSOWANIE EKSTRAKЦИИ WSPOMAGANEJ DZIAŁANIEM ENZYMÓW CELULOLITYCZNYCH W POZYSKIWANIU BIOAKTYWNYCH METABOLITÓW Z PSEUDOOWOCNI RÓŻY

WOJCIECH ZIEMICHÓD, SYLWIA PODSTAWKA, MATEUSZ GAJOS, MARTA OLECH

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Botaniki Farmaceutycznej, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin

Pseudoowocnia róży jest surowcem farmakopealnym, spożywczym i kosmetycznym zawierającym szereg aktywnych biologicznie metabolitów. Klasyczne metody ekstrakcji nie pozwalają wydobyć całości jej aktywnych składników. Poszukiwane są nowoczesne rozwiązania, które pozwolą efektywnie wykorzystać surowiec i wpisują się w założenia tzw. „zielonej chemii”. Takim rozwiązaniem może być zastosowanie ekstrakcji wspomaganej działaniem enzymów celulolitycznych.

Celem pracy była ocena zastosowania ekstrakcji wspomaganej działaniem enzymów celulolitycznych do zwiększenia efektywności pozyskiwania aktywnych metabolitów z pseudoowocni róży pomarszczonej. Badana była skuteczność kilku typów enzymów hydrolizujących (pektynaz i karbohydraz oraz ich mieszanin), wpływ różnych temperatur i czasu trwania enzymolizy na zawartość metabolitów w finalnym wyciągu. Do oceny efektywności ekstrakcji wykorzystano analizę całkowitej zawartości polifenoli, flawonoidów, karotenoidów oraz ocenę aktywności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem metod spektrofotometrycznych. Dodatkowo przeprowadzono szczegółowe oznaczenia zawartości kwasów fenolowych i flawonoidów za pomocą techniki LC-ESI-MS/MS.

Wyniki wskazują, że zastosowanie ekstrakcji z zastosowaniem enzymów celulolitycznych powoduje znaczny wzrost masy pozyskiwanego suchego ekstraktu z pseudoowocni (do 953,04 mg/g suchej masy surowca). Po zoptymalizowaniu warunków procesu (rodzaju enzymu, temperatury oraz czasu enzymolizy) obserwowano także wzrost ilości wmywanych polifenoli (do 48,26 mg polifenoli z 1 g surowca), flawonoidów (543, 61 µg/g), karotenoidów (do 39,91 µg/g) oraz aktywności antyoksydacyjnej wyciągu. Z zastosowaniem metody LC-MS/MS wykazano obecność w ekstraktach charakterystycznych dla surowca kwasów fenolowych oraz flawonoidów, określając jak warunki enzymolizy wpływają na profil tych metabolitów w ekstraktach.

## THE APPLICATION OF ENZYME-ASSISTED EXTRACTION FOR THE RECOVERY OF BIOACTIVE METABOLITES FROM ROSE HIP

WOJCIECH ZIEMICHÓD, SYLWIA PODSTAWKA, MATEUSZ GAJOS, MARTA OLECH

Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin, Poland

Rose pseudo-fruit is a pharmaceutical, food and cosmetic raw material containing many biologically active metabolites. Classical extraction methods are not effective enough to elute all of its active ingredients. New solutions matching the assumptions of “green chemistry” for the management of natural materials are being sought. Enzyme-assisted extraction is a developing technique, which seems to be a promising tool for more efficient exploitation of plant materials.

Therefore, this study aimed to evaluate the use of enzyme-assisted extraction for increasing the recovery of active metabolites from rose (*Rosa rugosa* rose) hip. The effectiveness of several types of hydrolysing enzymes (pectinases, carbohydrases and their mixtures), the influence of different enzymolysis temperatures and duration on the content of metabolites in the final extracts were investigated. The total phenolic, flavonoid and carotenoid content, as well as the assessment of antioxidant activity with the use of spectrophotometric methods were determined. Additionally, LC-ESI-MS/MS technique was used for detailed analysis of individual phenolic acids and flavonoids.

It was shown that the use of cellulolytic enzymes causes a significant increase in the weight of the obtained dry extract (up to 953.04 mg/g dry weight). Under the optimized conditions (proper type of enzyme, temperature and enzymolysis time), an increase in the amount of eluted polyphenols (up to 48.26 mg of polyphenols from 1 g of raw material), flavonoids (543.61 µg/g), carotenoids (up to 39.91 µg/g) and increased antioxidant activity were observed. LC-MS/MS analysis revealed the presence of several (characteristic of the rose hip) phenolic acids and flavonoids in the extracts. This study has also shown how the enzymolysis conditions affect the profile of these metabolites in the final samples.

## INNOWACYJNE METODY LECZENIA MDS I AML

*ŁUKASZ SZYMAŃSKI, RAFAŁ SKOPEK, MAŁGORZATA PALUSIŃSKA, SŁAWOMIR LEWICKI, ARTUR ZELENT*

Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt, Polskiej Akademii Nauk, Postępu 36A, 05-552 Magdalena

Zespoły mielodysplastyczne (MDS) są chorobami śmiertelnymi, w których obecnie jedyną szansą na pełne wyleczenie stanowi przeszczep komórek macierzystych. MDS stanowią heterogenną grupę nowotworów złośliwych krwiotwórczych komórek macierzystych, charakteryzujących się znaczną zachorowalnością i wysoką śmiertelnością. Brak skutecznych terapii MDS przyczynia się do wzrostu śmiertelności, głównie z powodu zakażeń oportunistycznych (70%) i transformacji do ostrej białaczki szpikowej (AML). Około 80% przypadków jest rozpoznawanych w grupie osób powyżej 60 roku życia (częściej u mężczyzn). Roczna liczba zachorowań w Polsce wynosi około 2000. Zmiany epigenetyczne są funkcjonalnie powiązane z MDS. Retinoidy, takie jak kwas all-trans retinowy (ATRA), są naturalnymi pochodnymi witaminy A, które wykazały silne działanie przeciwnowotworowe w typie AML zwanym ostrą białaczką promielocytową (APL). Jednak związki te okazały się nieskuteczne klinicznie w przypadku AML i MDS innych niż APL. Ten brak odpowiedzi AML na ATRA wynika, przynajmniej częściowo, z wyłączenia genów, które w normalnych warunkach są regulowane przez ATRA, co powoduje, że nie reagują one na ten lek. Do grona tych genów należą mediatory odpowiedzi na ATRA – receptory kwasu retinowego. Nasze badania koncentrują się na innowacyjnych metodach leczenia zespołu mielodysplastycznego i ostrej białaczki szpikowej.

Finansowanie: OPUS17 nr 2019/33/B/NZ5/02399 wspierany przez Narodowe Centrum Nauki.

## INNOVATIVE APPROACHES FOR MDS AND AML TREATMENT

*ŁUKASZ SZYMAŃSKI, RAFAŁ SKOPEK, MAŁGORZATA PALUSIŃSKA, SŁAWOMIR LEWICKI, ARTUR ŻELENT*

Department of Molecular Biology, Institute of Genetics and Animal Biotechnology, Polish Academy of Science, Postępu 36A, 05-552 Magdalenka

Myelodysplastic syndromes (MDS), are fatal diseases with no curative therapy outside the context of stem cell transplantation. MDS comprise a heterogeneous group of clonal hematopoietic stem cell malignancies with significant morbidity and high mortality. The lack of effective MDS therapies contributes to rising mortality, mostly due to opportunistic infections (70%) and transformation to acute myeloid leukemia (AML). About 80 percent cases are diagnosed in a group of people over 60 years of age (more often in men). The annual number of cases in Poland is around 2000. Deregulated epigenetics has been functionally linked to MDS. Retinoids such as all-trans retinoic acid (ATRA) are natural derivatives of vitamin A that have been shown to possess potent anti-cancer activities in a type of AML called acute promyelocytic leukaemia (APL). However, these compounds have not been clinically effective in non-APL AMLs and MDS. This lack of response of AML to ATRA is due, at least in part, to genes normally targeted by ATRA becoming switched off in a way that makes them non-responsive to this drug, including its mediators the retinoic acid receptors. Our studies are focused on innovative approaches for Myelodysplastic Syndrome and Acute Myeloid Leukemia treatment.

Funding: OPUS17 no. 2019/33/B/NZ5/02399 supported by National Science Centre.

## HEMOFILIA I JEJ ROLA W KONTEKŚCIE DOLEGLIWOŚCI KRĘGOSŁUPA

*JERZY BEDNARSKI, ALEKSANDRA GÓRSKA, IWONA ŁUSZCZEWSKA-SIERAKOWSKA, ZOFIA HOFFMAN*

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Zakład Anatomii Prawidłowej, Al. Racławickie 1, 20-059 Lublin

Hemofilia, która jest chorobą genetyczną, prowadzi do występowania bólu stawowego, który ma swoje podłoże w zmianach degeneracyjnych stawów. Z uwagi na wylewy krwi, dolegliwości najczęściej występują w dużych stawach, jak np. stawy kolanowe lub stawy łokciowe. W praktyce klinicznej oraz w pracach naukowych opisywane są także dolegliwości bólowe kręgosłupa.

Celem autorów jest opisanie oraz analiza mechanizmu powstawania dolegliwości bólowych kręgosłupa, głównie w odcinku lędźwiowym. Autorzy podejmują się zwięzłego podsumowania najnowszych doniesień naukowych dostępnych w bazie Cochrane i Pubmed oraz postawienia wniosków przydatnych w leczeniu pacjentów, zapobieganiu chorobie i dolegliwościom.

Wyniki pracy autorów mogą być przydatne zarówno w opracowaniu metod leczniczych, jak i wyznaczeniu nowych celów diagnostycznych i terapeutycznych.

## HAEMOPHILIA AND ITS ROLE IN THE CONTEXT OF SPINE AILMENTS

*JERZY BEDNARSKI, ALEKSANDRA GÓRSKA, IWONA ŁUSZCZEWSKA-SIERAKOWSKA, ZOFIA HOFFMAN*

Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Anatomy Department, Al. Raclawickie 1, 20-059 Lublin

Haemophilia, which is a genetic disorder, leads to arthritis which has its origins in degenerative changes of joints. The pain ailments occur mostly in big joints such as knee or elbow due to haemorrhages. Spine ailments are also described in clinical practice and in scientific works.

The aim of the authors is to describe and analyse the mechanism of developing spine ailment mainly in lumbar section. The authors try to briefly summarise the latest scientific reports available in Cochrane and Pubmed database and they also draw conclusions useful in treatment of patients and prevention of the disease and ailments.

Results of the authors' work may be useful not only in development of treatment methods, but also in setting new diagnostic and therapeutic aims.



## NANOMATERIAŁY KRZEMIONKOWE ZAWIERAJĄCE METALE JAKO POTENCJALNE NOŚNIKI SUBSTANCJI AKTYWNYCH

ANNA BORÓWKA<sup>1</sup>, GRZEGORZ ŻUKOCIŃSKI<sup>2</sup>, ANNA SIEROSŁAWSKA<sup>1</sup>, ANNA RYMUSZKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk i Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii,

<sup>2</sup> Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Laboratorium Analityczne

Nanotechnologia to nowa dziedzina badań, której celem jest projektowanie i tworzenie struktur w zakresie 1-100 nm, w co najmniej jednym wymiarze. Do tego rodzaju obiektów należą nanocząstki krzemionkowe, które stały się szczególnie interesujące dla biomedycyny ze względu na ich unikalne właściwości, które można dostosować do zaistniałych potrzeb. Atrakcyjność mezoporowatych nanostruktur krzemionkowych wynika z faktu, że ich rozmiar, kształt, pole powierzchni, objętość i wielkość porów mogą być precyzyjnie regulowane podczas procesu produkcji. Ponadto nośniki oparte na mezoporowatej krzemionce wykazują dobrą biokompatybilność i mogą przenosić substancje nierozpuszczalne w wodzie lub niestabilne w roztworach wodnych. W celu poprawy właściwości przeciwbakteryjnych tych nośników wprowadza się do nich metale, zwłaszcza srebro i miedź [1]. Zwykle źródłem tych metali są azotany. W prezentowanych badaniach zaproponowano inne prekursory metali, które pozwalają uzyskać materiały o wysokiej czystości, ponieważ w procesie syntezy rozkładają się na nieszkodliwe produkty lotne. Badane były tu dwie drogi otrzymywania: metoda hydrotermalna i metoda impregnacyjna. Ocena efektów cytotoksycznych i drażniących wykazała, że materiały te są preferowanymi kandydatami do potencjalnych przyszłych zastosowań w medycynie lub kosmetologii jako nośniki substancji aktywnych.

### Literatura:

[1] Zhenga, K., Balasubramaniana, P., Patersonb, T.E., Steina, R., MacNeilc, S., Fiorillid, S., Vitale-Browned, C., Shepherd, J., Boccaccinia, A.R., 2019. *Materials Science & Engineering C* 103: 109764.

## METAL-CONTAINING SILICA NANOMATERIALS AS POTENTIAL CARRIERS OF ACTIVE SUBSTANCES

ANNA BORÓWKA<sup>1</sup>, GRZEGORZ ŻUKOCIŃSKI<sup>2</sup>, ANNA SIEROSŁAWSKA<sup>1</sup>, ANNA RYMUSZKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Animal Physiology and Toxicology,

<sup>2</sup> Maria Curie-Skłodowska University, Faculty of Chemistry, Analytical Laboratory

Nanotechnology is a novel research field aiming the design, development, and manipulation of structures in range of 1–100 nm, in at least one dimension. Silica nanoparticles are included in these types of structures and became particularly interesting for biomedical field due to their unique properties and easy customization. The attractiveness of mesoporous silica nanostructures comes from the fact that their size, shape, surface area, pore volume and pore size can be precisely regulated during the production process. In addition, mesoporous silica-based carriers exhibit good biocompatibility and can deliver substances that are insoluble in water or unstable in aqueous solutions. In order to improve the antimicrobial properties of these carriers, metals are introduced, especially silver and copper [1]. The usual sources of these metals are nitrates. The presented research proposed other metal precursors. They yield high-purity materials because they decompose into harmless volatile products during the synthesis process. Two routes of preparation are being tested: the hydrothermal method and the impregnation method. Evaluation of cytotoxic and irritant effects showed that these materials are preferred candidates for potential future applications in medicine or cosmetology as carriers of active substances.

### References:

[1] Zheng, K., Balasubramaniana, P., Patersonb, T.E., Steina, R., MacNeilc, S., Fiorillid, S., Vitale-Brovaroned, C., Shepherd, J., Boccaccinia, A.R., 2019. Materials Science & Engineering C 103: 109764.

## ANALITYCZNE ASPEKTY ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA METABOLITÓW SZŁAKU KINURENINOWEGO W PŁYNACH USTROJOWYCH CZŁOWIEKA

*ILONA SADOK\*, MAGDALENA STANISZEWSKA#*

Katolicki Uniwersytet Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Polska \*ilona.sadok@kul.pl; #magdalena.staniszevska@kul.pl

Szlak kinureninowy (z ang. Kynurenine Pathway, KP), prowadzący do powstania dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD<sup>+</sup>), jest głównym szlakiem metabolicznym tryptofanu, w którym tworzy się wiele aktywnych biologicznie metabolitów o właściwościach immunomodulacyjnych, przeciwutleniających, neuroprotektoryjnych lub neurotoksycznych. Stan zapalny, infekcje lub stres wpływają na katabolizm tryptofanu w ramach KP. Wiele publikacji donosi o zmianach w stężeniu indywidualnych metabolitów KP w różnych chorobach, np. neurodegeneracyjnych, nowotworach, zaburzeniach metabolicznych.

W ostatnich dziesięcioleciach, znaczące udoskonalenia metod ilościowych i jakościowych umożliwiają jednoczesny pomiar wielu metabolitów KP w próbkach biologicznych różnego pochodzenia. Dokładne oznaczenie indywidualnych metabolitów KP jest cennym narzędziem w stratyfikacji ryzyka i ocenie postępu choroby, diagnostyce oraz badaniu odpowiedzi pacjenta na leczenie. Jednakże oznaczenie metabolitów KP w złożonych matrycach takich jak tkanki i płyny ustrojowe jest wyzwaniem ze względu na ich niskie stężenia, niestabilność oraz interferencje pochodzące od innych składników próbki. Obecnie chromatografia cieczowa połączona z różnymi detektorami (w szczególności spektrometrami mas) jest uznanym narzędziem analitycznym w badaniach dotyczących aktywacji KP w patogenezie chorób człowieka. W komunikacie przedstawiamy przykłady opracowanych w naszym laboratorium metod wykorzystujących chromatografię cieczową ze spektrometrią mas do oznaczania zawartości metabolitów tryptofanu w płynach ustrojowych (surowicy krwi, płynie otrzewnowym) podczas śledzenia zaburzeń metabolizmu tryptofanu w raku żołądka i cukrzycy typu 2.

Badania zostały częściowo sfinansowane z grantu KUL (kierownik projektu Ilona Sadok) oraz z Narodowego Centrum Nauki z grantu OPUS13 (2017/25/B/NZ4/01198, kierownik projektu Magdalena Staniszevska). Do uzyskania wyników wykorzystano infrastrukturę KUL współfinansowaną z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Rozwój Polski Wschodniej 2007-2013 (POPW.01.03.00-06-003/09-00).

## ANALYTICAL ASPECTS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF KYNURENINE PATHWAY METABOLITES IN HUMAN BODY FLUIDS

*ILONA SADOK\*, MAGDALENA STANISZEWSKA#*

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Institute of Biological Sciences, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland \*ilona.sadok@kul.pl; #magdalena.staniszevska@kul.pl

The kynurenine pathway (KP) leading to the production of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) is a major metabolic route to production of multiple bioactive metabolites with immunomodulatory, antioxidant, neuroprotective or neurotoxic properties. Inflammation, infection and stress impact KP catabolism of tryptophan. Many publications had reported changes in concentrations of different KP metabolites in various disorders like neurodegenerative, metabolic and cancer diseases.

Significant improvement in quantitative and qualitative methods in the last decades allows simultaneous measurement of multiple KP metabolites in biological samples of different origins. A thorough determination of individual KP metabolites is a valuable tool for risk stratification and assessment of the disease progression, diagnostics, and response to treatment. However, the determination of KP metabolites in such complex matrices is challenging because of their trace concentrations, instability, or interference of sample components. Nowadays, liquid chromatography coupled with different detectors (especially mass spectrometric detectors) is well-recognized analytical tool in research on the evaluation the KP activation in pathogenesis of human diseases. Here, we present the examples of the liquid chromatography-mass spectrometry methods developed in our laboratory for the determination of tryptophan metabolites in body fluids (serum, peritoneal fluid) to be applied for monitoring of changes in tryptophan metabolism in gastric cancer and the type 2 diabetes.

The study was partially supported by the internal grant from The John Paul II Catholic University of Lublin (principle investigator Iлона Sadok) and by the Polish National Science Centre, grant OPUS13 (2017/25/B/NZ4/01198, principle investigator Magdalena Staniszevska). The results were obtained using the equipment of the John Paul II Catholic University of Lublin in Lublin, Poland, supported by the European Union from European Regional Development Fund under the Operational Programme Development of Eastern Poland 2007–2013 (agreement POPW.01.03.00-06-003/09-00).

## OCENA ZWIĄZKU POZIOMU EKSPRESJI mRNA CCR6/ CCL20 Z WYBRANYMI REGULATORAMI EPIGENETYCZNYMI U PACJENTÓW Z NIEDROBNOKOMÓRKOWYM RAKIEM PŁUCA – POSZUKIWANIE BIOMARKERÓW PROGRESJI

KAMILA BARAN, EWA BRZEZIAŃSKA-LASOTA

Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Wydział Lekarski, Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej, Zakład Biomedycyny i Genetyki, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

Rak płuca charakteryzuje się niskim wskaźnikiem 5-letniego przeżycia (6-13%). Najczęściej diagnozowanym typem histologicznym tego nowotworu jest niedrobnokomórkowy rak płuca (NDRP). Złe rokowanie związane jest głównie z diagnostyką pacjentów w zaawansowanym stadium choroby nowotworowej. Poznanie molekularnych mechanizmów w tym epigenetycznych, odpowiedzialnych za progresję nowotworu pomoże w opracowaniu markerów diagnostycznych oraz nowych celów terapeutycznych.

**Materiały i metody:** Do badania zakwalifikowano 28 pacjentów ze zdiagnozowanym NDRP. Całkowite RNA wyizolowano z fragmentów tkanki guza oraz tkanki niezmienionej makroskopowo, która stanowi kontrolę w badaniu. Poziom ekspresji badanych genów *CCR6* i *CCL20* oraz niekodujących RNA (ncRNA): miR-150 i linc000673 oceniono na podstawie metody qRT-PCR w czasie rzeczywistym.

**Wyniki:** Podwyższony poziom ekspresji w odniesieniu do kalibratora ( $RQ > 1$ ) mRNA *CCR6*, miR-150 i linc000673 oraz obniżony poziom ekspresji ( $RQ < 1$ ) mRNA *CCL20* zaobserwowano zarówno w tkance guza, jak i w tkance kontrolnej. Wyższy poziom ekspresji mRNA *CCL20* i linc000673 oraz niższy poziom ekspresji mRNA *CCR6* i miR-150 zaobserwowano w tkance guza w porównaniu z tkanką kontrolną ( $p > 0,05$ , test U Manna-Whitneya). Wykazano dodatnią korelację pomiędzy poziomem ekspresji mRNA *CCL20* oraz linc000673 a wielkością guza (klasyfikacja pTNM). Najniższy poziom ekspresji mRNA *CCR6* oraz miR-150 zaobserwowano u pacjentów z cechą T3. Ponadto wykazano ujemną korelację pomiędzy poziomem ekspresji mRNA *CCR6* oraz miR-150 a stopniem zaawansowania choroby nowotworowej (klasyfikacja AJCC). Najwyższy poziom ekspresji linc000673 zaobserwowano u pacjentów w III stadium zaawansowania nowotworu (AJCC).

**Wnioski:** Zmiany poziomu ekspresji mRNA *CCR6*, a także czynników regulatorowych: miR-150 oraz linc000673 w tkance nowotworowej płuca mogą być uznane jako biomarkery o negatywnej wartości prognostycznej dla pacjentów z NSCLC.

## ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP OF CCR6 / CCL20 mRNA EXPRESSION LEVEL WITH SELECTED EPIGENETIC REGULATORS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER – SEARCHING FOR PROGRESSION BIOMARKERS

KAMILA BARAN, EWA BRZEZIAŃSKA-LASOTA

Medical University of Lodz, Faculty of Medicine, Chair of Medical Biology and Microbiology, Department of Biomedicine and Genetics, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

Lung cancer is characterized by a low 5-year survival rate (6-13%). The most frequently diagnosed histological type of this cancer is non-small cell lung cancer (NSCLC). Poor prognosis is mainly related to the diagnosis of patients in the advanced stage of disease. Understanding the molecular mechanisms, including epigenetic, responsible for cancer progression will help in the development of diagnostic markers and new therapeutic targets.

**Materials and methods:** 28 patients diagnosed with NSCLC were qualified for the study. Total RNA was isolated from fragments of tumor tissue and macroscopically unchanged tissue, which serves as a control in the study. The expression level of the tested genes *CCR6* and *CCL20* as well as non-coding RNA (ncRNA): miR-150 and linc000673 was assessed on the basis of the real-time qRT-PCR method.

**Results:** Increased expression level in relation to the calibrator ( $RQ > 1$ ) of *CCR6*, linc000673 mRNA and miR-150 and decreased expression level ( $RQ < 1$ ) of *CCL20* mRNA were observed in both tumor and control tissue. Higher expression level of *CCL20* and linc000673 mRNA and lower expression level of *CCR6* mRNA and miR-150 were revealed in tumor tissue compared to control tissue ( $p > 0.05$ , Mann-Whitney U test). A positive correlation was found between the expression level of *CCL20* and linc000673 mRNA and the size of the tumor (pTNM classification). The lowest expression level of *CCR6* mRNA and miR-150 were observed in patients with T3 feature. Moreover, a negative correlation was revealed between the expression level of *CCR6* mRNA and miR-150 and the stage of the disease (AJCC classification). The highest expression level of linc000673 was observed in patients with III stage of cancer (AJCC).

**Conclusions:** Changes in the expression level of *CCR6* mRNA as well as regulatory factors: miR-150 and linc000673 in lung cancer tissue can be considered as biomarkers with negative prognostic value for NSCLC patients.

## ANTYMETASTATYCZNE WŁAŚCIWOŚCI IZOTIOCYJANIANÓW (ITCs) W TERAPII NIEDROBNOKOMÓRKOWEGO RAKA PŁUCA (NSCLC)

JOLANTA KRYCZKA<sup>1</sup>, BEATA KOLESIŃSKA<sup>2</sup>, EWA BRZEZIAŃSKA-LASOTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski, Katedra Biologii i Mikrobiologii Medycznej, Zakład Bio-medycyny i Genetyki, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź;

<sup>2</sup> Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny, Instytut Chemii Organicznej, ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź;

**Cel:** Ocena antymetastatycznych właściwości ITCs w terapii przeciwnowotworowej opartej na cisplatynie w zaawansowanym NSCLC.

**Materiały i metody:** Linie komórkowe NSCLC: A549, jej wariant oporny na cisplatynę A549CisR oraz NCI-H1581. Analizę ekspresji genów linii komórkowych A549/A549CisR, kodujących białka oporności wielolekowej (z rodziny ABC), metaloproteinazy (MMPs), dehydrogenazę aldehydową (ALDH) oraz markerów przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) dokonano z wykorzystaniem bazy danych Gene Expression Omnibus NCBI. Wpływ ITCs na: a) poziom białek ABC, ALDH, MMPs oraz markerów EMT wykonano metodą Western-blot; b) wrażliwość na cisplatynę analizowano testem WST; c) zdolności migracyjne komórek oszacowano testem „zarastania rysy”; d) aktywność proteolityczną analizowano za pomocą zymografii *in situ*. Analizę powinowactwa ITCs do białek ABC i ALDH wykonano za pomocą modelowania matematycznego *in silico*.

**Wyniki:** Analiza baz danych, wykazała podwyższony poziom ekspresji mRNA dla białek: ABCB1, ABCC1, ABCC4, ABCC6, fibronektyny, wimentyny, N-kadheryny, ALDH7A1, ALDH3A1 oraz MMP-7 i MMP-9 w komórkach A549CisR. Dane te zostały potwierdzone analizą Western-blot. Ponadto komórki odporne wykazały wysoki potencjał migracyjny. Modelowanie matematyczne wykazało wysokie powinowactwo ITCs do białek ALDH i ABC. Suplementacja komórek A549CisR izotiocyanianami: a) zwiększyła poziom E-kadheryny, ABCG2, obniżyła ABCC1, ALDH3A1 b) obniżyła aktywność proteolityczną c) obniżyła potencjał migracyjny. Ponadto komórki linii A549CisR i NCI-H1581 suplementowane ITCs wykazały wyższą wrażliwość na cisplatynę.

**Wnioski:** ITCs wykazujące silne powinowactwo do białek ABC i ALDH, uwrażliwiają komórki A549CisR i NCI-H1581 na działanie cisplatyny, zmniejszając ich zdolności migracyjne wykazując właściwości antymetastatyczne. Ponadto, badane związki przywracają fenotyp nabłonkowy w komórkach opornych na cisplatynę. Syntetyczne analogi ITCs w połączeniu z cisplatyną wykazują potencjał terapeutyczny w leczeniu raka płuca.



## ANTIMETASTATIC PROPERTIES OF ISOTHIOCYANATES (ITCs) IN THE TREATMENT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER (NSCLC)

JOLANTA KRYCZKA<sup>1</sup>, BEATA KOLESIŃSKA<sup>2</sup>, EWA BRZEZIAŃSKA-LASOTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Lodz, Department of Biomedicine and Genetics, 92-213 Lodz, Poland.

<sup>2</sup> Lodz University of Technology, Faculty of Chemistry, Institute of Organic Chemistry, Zeromskiego 116, 90-924 Lodz, Poland.

**Objective:** Assessment of antimetastatic properties of the ITCs in cisplatin-based anti-cancer therapy of advanced NSCLC.

**Materials and methods:** NSCLC cell line models: NCI-H1581, A549 and its cisplatin resistance variant A549CisR. Gene expression analysis of multidrug resistance proteins (ABC family), metalloproteinases (MMPs), aldehyde dehydrogenase (ALDH) and markers of epithelial-mesenchymal transition (EMT) expressed by A549 / A549CisR cell lines was performed using the Gene Expression Omnibus NCBI database. The impact of ITCs on: a) proteins levels of ABC, ALDH, MMPs and markers of EMT was determined by Western-blot method; b) sensitivity to cisplatin was analysed by the WST test; c) the migration capacity of the cells was assessed by the wound healing assay; d) proteolytic activity was analysed by in situ zymography. ITCs affinity analysis to ABC and ALDH proteins were performed using in silico mathematical modelling

**Results:** Database analysis showed increased mRNAs expression level of ABCB1, ABCC1, ABCC4, ABCC6, fibronectin, vimentin, N-cadherin, ALDH7A1, ALDH3A1, MMP-7 and MMP-9 in A549CisR cells. These data were confirmed by Western-blot analysis. Moreover, resistant cells presented elevated migratory potential. Mathematical modelling revealed high affinity of ITCs to ALDH and ABC proteins. ITCs supplementation of A549CisR cells: a) increased the level of E-cadherin, ABCG2, decreased level of ABCC1, ALDH3A1; b) decreased proteolytic activity; c) decreased migration potential. Additionally, A549CisR and NCI-H1581 cells supplemented by ITCs presented increased sensitivity to cisplatin.

**Conclusion:** ITCs presents strong affinity to ABC and ALDH proteins, sensitize A549CisR and NCI-H1581 cells to cisplatin treatment, decrease their migration capacity, demonstrating antimetastatic properties. Moreover, tested compounds reverse epithelial phenotype in cisplatin resistance cells. Synthetic analogues of ITCs as adjuvant to cisplatin presents promising therapeutic potential in treatment of lung cancer.



## PROFIL MUTACYJNY CHRZĘSTNIAKOMIĘSAKÓW NA PODSTAWIE CELOWANEGO SEKWENCJONOWANIA NASTĘPNEJ GENERACJI

AGNIESZKA E. ZAJĄC<sup>1</sup>, JAKUB PIĄTKOWSKI<sup>2</sup>, PAWEŁ GOLIK<sup>2,3</sup>, ANNA SZUMERA-CIEĆKIEWICZ<sup>4,5</sup>, PAWEŁ TETERYCZ<sup>1</sup>, ANDRZEJ TYSAROWSKI<sup>6</sup>, ANNA M. CZARNECKA<sup>1,7</sup>, PIOTR RUTKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków,

<sup>2</sup> Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Instytut Genetyki i Biotechnologii,

<sup>3</sup> Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk,

<sup>4</sup> Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej,

<sup>5</sup> Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej,

<sup>6</sup> Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Samodzielna Pracownia Diagnostyki Genetycznej i Molekularnej Nowotworów,

<sup>7</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, Zakład Farmakologii Doświadczalnej

Chrzęstniakomięsak (ChS) należy do grupy mięsaków kości i jest drugim co do częstości złośliwym pierwotnym nowotworem kości. Ze względu na rzadkość występowania i heterogenność jego patogeneza jest wciąż mało poznana, a metody leczenia utrudnione i ograniczone jedynie do leczenia chirurgicznego. Celem badania była identyfikacja mutacji występujących w różnych podtypach ChS, mogących uczestniczyć w jego patogenezie.

Materiałem do badań było DNA wyizolowane z bloczków parafinowych pobranych od 24 pacjentów ze zdiagnozowanymi ChS, o różnych podtypach histologicznych (7 G1, 3 G2, 9 G3, 4 odróżnicowane, 1 mezenchymalny). W celu oceny sygnatur mutacyjnych guza i obciążenia mutacyjnego (TMB) przeprowadzono sekwencjonowanie następnej generacji z użyciem panelu Oncomine™ Tumor Mutation Load Assay, obejmując 409 genów.

W badanej grupie pacjentów z ChS średni poziom TMB był równy około 4 mutacji/Mb. Wśród najczęściej zmutowanych genów, były te związane z proliferacją i przeżyciem, procesem różnicowania komórek, a także uczestniczące w remodelingu chromatyny. Mutacje *IDH1/IDH2* zidentyfikowano w 1/3 przypadków (G2, G3, odróżnicowane). Mutacje *PTCH1* wykryto w podtypach G3 i odróżnicowanym, z kolei mutacje *SRC*, *PIK3CA/PIK3CD* oraz *MTOR*, jedynie w mezenchymalnym. Dodatkowo jedynie w ChS G3 oraz odróżnicowanym zidentyfikowano mutacje *TP53*, *BCL2*, co może sugerować ich udział w progresji nowotworu.

## MUTATIONAL PROFILE OF CHONDROSARCOMAS BASED ON TARGETED NEXT-GENERATION SEQUENCING ANALYSIS

AGNIESZKA E. ZAJĄC<sup>1</sup>, JAKUB PIĄTKOWSKI<sup>2</sup>, PAWEŁ GOLIK<sup>2,3</sup>, ANNA SZUMERA-CIEĆKIEWICZ<sup>4,5</sup>, PAWEŁ TETERYCZ<sup>1</sup>, ANDRZEJ TYSAROWSKI<sup>6</sup>, ANNA M. CZARNECKA<sup>1,7</sup>, PIOTR RUTKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Department of Soft Tissue/Bone Sarcoma and Melanoma,

<sup>2</sup> University of Warsaw, Faculty of Biology, Institute of Genetics and Biotechnology,

<sup>3</sup> Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Science,

<sup>4</sup> Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Department of Pathology and Laboratory Diagnostics,

<sup>5</sup> Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Department of Diagnostic Hematology,

<sup>6</sup> Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Cancer Molecular and Genetic Diagnostics Laboratory,

<sup>7</sup> Mossakowski Medical Research Centre Polish Academy of Science, Department of Experimental Pharmacology

Chondrosarcoma (ChS) belongs to the group of bone sarcomas and is the second most common malignant primary bone tumor. Due to its rarity of occurrence and heterogeneity, its pathogenesis is still poorly understood and treatment options are difficult, and limited only to surgery. The aim of this study was to identify mutations occurring in different subtypes of ChS, which may participate in its pathogenesis.

The material for the study was DNA isolated from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue taken from 24 patients diagnosed with ChS, with different histological subtypes (7 G1, 3 G2, 9 G3, 4 dedifferentiated, and 1 mesenchymal). Next-generation sequencing, using the Oncomine™ Tumor Mutation Load Assay genetic panel of 409 genes, was performed to assess tumor mutational signatures and mutational burden (TMB).

The study group of patients with ChS had an average TMB level of around 4 mutations/Mb. Among the most frequently mutated genes, were those associated with proliferation and survival, the process of cell differentiation, and those involved in chromatin remodeling. *IDH1/IDH2* mutations were identified in 1/3 of cases (G2, G3, and dedifferentiated). Moreover, *PTCH1* mutations were detected only in the dedifferentiated and G3 subtypes of ChS, whereas mutations in *SRC*, *PIK3CA/PIK3CD* and *MTOR* genes were observed only in the mesenchymal subtype. In addition, *TP53* and *BCL2* mutations were identified only in G3 and dedifferentiated ChSs, which may suggest their involvement in tumor progression.

## PROFIL MOLEKULARNY MIĘSĄKÓW TKANEK MIĘKKICH

KLAUDIA BOBAK<sup>1</sup>, ANDRZEJ TYSAROWSKI<sup>2</sup>, MATEUSZ J. SPAŁEK<sup>1</sup>, ANNA SZUMERA-CIEĆKIEWICZ<sup>3,4</sup>, KAMIL SOKÓŁ<sup>3</sup>, MICHAŁ WĄGRODZKI<sup>3</sup>, HANNA KOSEŁA-PATERCZYK<sup>1</sup>, PIOTR RUTKOWSKI<sup>1</sup>, ANNA M. CZARNECKA<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków, Warszawa,

<sup>2</sup> Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Samodzielna Pracownia Diagnostyki Genetycznej i Molekularnej Nowotworów, Warszawa,

<sup>3</sup> Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Warszawa,

<sup>4</sup> Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Warszawa,

<sup>5</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Warszawa

**Wstęp:** Mięsaki tkanek miękkich (MTM) są dużą grupą heterogennych nowotworów i stanowią ok. 1-2% guzów litych u dorosłych. Celem badania była ocena zmian genetycznych w mięsakiach i odkrycie nowych potencjalnych celów terapeutycznych w leczeniu MTM.

**Materiały i metody:** Przeanalizowano próbki biopsji 20 pacjentów sprzed leczenia, którzy wzięli udział w badaniu klinicznym II fazy (NCT03989596), w tym 10 pacjentów z nieodróżnionym mięsakiem pleomorficznym (UPS), 1 pacjent z mięśniakomięsakiem gładkokomórkowym (LMS), 5 pacjentów z włókniakomięsakiem śluzowatym (MFS), 1 pacjent z tłuszczakomięsakiem pleomorficznym (PLPS), 1 pacjent z odróżnionym tłuszczakomięsakiem (DDLPS), 1 pacjent ze złośliwym guzem osłonek nerwów obwodowych (MPNST) i 1 pacjent z mięsakiem miogennym. Do sekwencjonowania nowej generacji użyto zestawu Illumina NGS TruSight Oncology 500.

**Wyniki i wnioski:** Analizowana grupa wykazała niskie obciążenie mutacyjnego guza i brak niestabilności mikrosatelitarnej. W czterech przypadkach (LMS, MFS, DDLPS) wykazano wysoki poziom amplifikacji (liczba kopii  $\geq 6$ ) genu *MDM2*, w tym w jednym przypadku (DDLPS) wykryto również wysoki poziom amplifikacji genu *CDK4*. Utratę genu *PTEN* stwierdzono w czterech przypadkach (UPS, MFS, PLPS). Utratę genu *PTEN* w PLPS odkryto po raz pierwszy. W dwóch przypadkach (LMS, MFS) stwierdzono fuzje genów *PRUNE2/NTRK2*. W trzech innych przypadkach stwierdzono mutacje genu *TP53* – dwie różne substytucje w MFS i PLPS, a także jedną mutację intronową w UPS. Ponadto w dwóch oddzielnych przypadkach (MPNST) wykryto dwie różne patogenne substytucje genu *NF1*. W MTM apoptoza, cykl komórkowy i szlaki proliferacyjne ulegają deregulacji. Uzyskane wyniki mogą wskazywać nowe cele terapeutyczne w leczeniu MTM.

## MOLECULAR PROFILE OF SOFT TISSUE SARCOMAS

KLAUDIA BOBAK<sup>1</sup>, ANDRZEJ TYSAROWSKI<sup>2</sup>, MATEUSZ J. SPAŁEK<sup>1</sup>, ANNA SZUMERA-CIEĆKIEWICZ<sup>3,4</sup>, KAMIL SOKÓŁ<sup>3</sup>, MICHAŁ WĄGRODZKI<sup>3</sup>, HANNA KOSEŁA-PATERCZYK<sup>1</sup>, PIOTR RUTKOWSKI<sup>1</sup>, ANNA M. CZARNECKA<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Department of Soft Tissue/Bone Sarcoma and Melanoma, Warsaw, Poland,

<sup>2</sup> Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Cancer Molecular and Genetic Diagnostics Laboratory, Warsaw, Poland,

<sup>3</sup> Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Department of Pathology and Laboratory Diagnostics, Warsaw, Poland,

<sup>4</sup> Institute of Hematology and Transfusion Medicine, Diagnostic Hematology Department, Warsaw, Poland,

<sup>5</sup> Mossakowski Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Department of Experimental Pharmacology, Warsaw, Poland

**Background:** Soft tissue sarcomas (STS) are a large group of heterogeneous neoplasms and represent approximately 1-2% of adult solid tumors. The study aimed to assess genetic changes in sarcomas that may be potential therapeutic targets in STS treatment.

**Materials and methods:** We analysed core biopsy samples of 20 patients before treatment who participated in a phase II clinical trial (NCT03989596) included 10 patients with undifferentiated pleomorphic sarcoma (UPS), 1 patient with leiomyosarcoma (LMS), 5 patients with myxofibrosarcoma (MFS), 1 patient with pleomorphic liposarcoma (PLPS), 1 patient with dedifferentiated liposarcoma (DDLPS), 1 patient with malignant peripheral nerve sheath tumour (MPNST) and 1 patient with myogenic sarcoma. For Next-Generation Sequencing (NGS) Illumina NGS TruSight Oncology 500 kit was used.

**Results and conclusions:** The analyzed group reported a low Tumor Mutational Burden and no microsatellite instability. In four cases (LMS, MFS, DDLPS), high-level amplification (copy number  $\geq 6$ ) of the *MDM2* gene was identified and also in one of those cases (DDLPS), a high-level *CDK4* amplification was detected. Loss of the *PTEN* gene was found in four cases (UPS, MFS, PLPS). For the first time, we report *PTEN* loss in PLPS. In two cases (LMS, MFS), fusions of the *PRUNE2/NTRK2* genes were found. In three other cases, the *TP53* gene mutations were reported – two various substitutions in MFS and PLPS, as well as one intronic mutation in UPS. Also, two different pathogenic substitutions of the *NF1* gene were detected in two separate cases (MPNST). Cell cycle, apoptosis, and proliferation pathways are deregulated in STS. The obtained results may indicate new therapeutic targets in the treatment of STS.

## **WPŁYW ZWIĄZKÓW MAŁOCZĄSTECZKOWYCH O CHARAKTERZE EPIGENETYCZNYM W KOMBINACJI Z ATRA NA AKTYWACJĘ SZLAKU SYGNAŁOWEGO KWASU RETINOWEGO: BADANIE PRZESIEWOWE**

*RAFAŁ SKOPEK, MAŁGORZATA PALUSIŃSKA, ŁUKASZ SZYMAŃSKI, ARTUR ZELEN*

Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN, Postępu 36A, 05-552 Magdalenka, Polska

Ostra białaczka szpikowa jest heterogennym nowotworem złośliwym układu krwiotwórczego, spowodowanym zahamowaniem różnicowania, nadmierną proliferacją i akumulacją w szpiku kostnym niedojrzałych komórek blastycznych pochodzenia progenitorowego. Obecnie ostra białaczka promielocytowa (APL) jest jedynym uleczalnym podtypem AML. Leczenie kwasem all-trans retinowym (ATRA), metabolitem witaminy A, jest dopuszczone do stosowania w terapii różnicującej APL. Z jakiegoś powodu wpływ ATRA na różnicowanie komórek AML poza APL jest zahamowany i sugerujemy, że można go odwrócić przez zastosowanie ATRA w połączeniu z epigenetycznie aktywnymi związkami małocząsteczkowymi.

W tym celu wprowadzono konstrukt p-GreenFire-RARE do komórek HEK293 w celu zbadania aktywacji szlaku kwasu retinowego w odpowiedzi na ATRA i związki małocząsteczkowe o charakterze epigenetycznym. W ten sposób mogliśmy ilościowo zmierzyć fluorescencję spowodowaną aktywnością lucyferazy po aktywacji RARE. Następnie przeprowadziliśmy test aktywności lucyferazy, aby sprawdzić wpływ związków małocząsteczkowych w połączeniu z ATRA na szlak kwasu retinowego.

Ostatecznie przebadaliśmy ponad 600 związków, które w połączeniu z ATRA mogą prowadzić do epigenetycznego różnicowania komórek białaczki do fizjologicznych komórek krwi. Badania te umożliwią zidentyfikowanie nowych przeciwnowotworowych celów terapeutycznych, w szczególności opracowanie nowych kombinacji leków epigenetycznych.

Finansowanie: projekt OPUS17 nr. 2019/33/B/NZ5/02399 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki.

## EFFECT OF SMALL EPIGENETIC MOLECULES IN COMBINATION WITH ATRA ON THE RETINOIC ACID SIGNALING PATHWAY ACTIVATION: A SCREENING STUDY

*RAFAŁ SKOPEK, MAŁGORZATA PALUSIŃSKA, ŁUKASZ SZYMAŃSKI, ARTUR ZELENT*

Department of Molecular Biology, Institute of Genetics and Animal Biotechnology, Polish Academy of Science, Postępu 36A, 05-552 Magdalenka, Poland

Acute myeloid leukemia is a heterogenic malignant neoplasm of the hemato-poietic system caused by differentiation inhibition, excessive proliferation, and accumulation of a myeloid progenitor-derived immature blast cells in the bone marrow. Currently, only acute promyelocytic leukemia (APL) is the only curable subtype of AML. Treatment with all-trans retinoic acid (ATRA), vitamin A metabolite, is approved for use in APL differentiation therapy. For some reason, the effect of ATRA on non-APL AML blast differentiation is blocked, and we suggest that it may be reversed by the use of ATRA in combination with epigenetically active small molecules.

We introduced p-GreenFire-RARE construct into the HEK293 cells to examine activation of retinoic acid pathway in response to ATRA and small epigenetic molecules. Thus, we could quantitatively measure fluorescence and luciferase activity after RARE activation. Subsequently, we carried out a luciferase assay to check the influence of small molecules in combination with ATRA on the retinoic acid pathway.

In the end, we screened over 600 compounds, that combined with ATRA may lead to epigenetically driven differentiation of leukemia cells to physiological blood cells. These studies will identify new targets for anti-cancer therapies, in particular development of new epi-drugs.

Funding: project OPUS17 no. 2019/33/B/NZ5/02399 supported by National Science Centre.

## WPŁYW KSANTOHUMOLU NA UKŁAD IMMUNOLOGICZNY

MAŁGORZATA WRÓBEL, JOANNA MAŁACZEWSKA, EDYTA KACZOREK-ŁUKOWSKA, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, 10-917 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 13

Chmiel (*Humulus lupulus* L.) jest stosowany od wieków w przemyśle spożywczym, głównie do produkcji piwa, jako dodatek poprawiający aromat i smak oraz wywierający działanie konserwujące. Jedną z aktywnych substancji obecnych w szyszkach chmielu jest prenyloflawonoid, ksantohumol (XN). Pomimo, iż związek ten znany jest od dawna, nadal trwają intensywne badania nad jego potencjalnym zastosowaniem w medycynie.

Obecnie badania nad terapeutycznym zastosowaniem ksantohumolu skupiają się głównie na immunologii nowotworów. Pośrednio hamuje on fosforylację kinazy białkowej B (Akt), która jest ważnym aktywatorem szlaku czynnika jądrowego  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). Inhibicja NF- $\kappa$ B wpływa korzystnie np. na hamowanie wzrostu komórek nowotworowych oraz angiogenezę, m.in. w przewlekłej białaczce szpikowej (CML). Ksantohumol indukuje apoptozę, zależną i niezależną od kaspazy, obniża aktywność topoizomery I, hamuje produkcję tlenku azotu (NO) oraz prostaty glandyny E2. Związek ten wykazuje ponadto potencjał przeciwzapalny oraz chemoprewencyjny poprzez oddziaływanie na cząsteczki kluczowe w kancerogenezie, takie jak np. cyklooksygenaza indukowana (COX2), co prowadzi do zmniejszenia produkcji PGE2 oraz zahamowania migracji komórek nowotworowych. Ksantohumol indukuje również dysmutazę ponadtlenkową (SOD), enzym odpowiedzialny za detoksykację reaktywnych form tlenu (ROS), powstających w stanach patologicznych. Istotne jest również regulowanie równowagi limfocytów Th1/Th2 przez ksantohumol w modelu nowotworowym, poprzez jego wpływ na zwiększenie ekspresji czynnika transkrypcyjnego T-bet i osłabienie ekspresji GATA-3. Powoduje to przesunięcie równowagi w kierunku populacji Th1, odpowiedzialnej za odporność komórkową organizmu, kluczową w walce z nowotworami.

Wiele właściwości ksantohumolu zostało już opisanych, nadal jednak pewne mechanizmy oddziaływania tego związku na organizm pozostają niejasne. Doprecyzowanie możliwości realnego zastosowania ksantohumolu, zarówno w medycynie ludzkiej jak i weterynaryjnej, wymaga przeprowadzenia gruntownych badań przedklinicznych.



## EFFECT OF XANTHOHUMOL ON THE IMMUNE SYSTEM

MAŁGORZATA WRÓBEL, JOANNA MAŁACZEWSKA, EDYTA KACZOREK-ŁUKOWSKA, ANDRZEJ KRZYSZTOF SIWICKI

University of Warmia and Mazury, Department of Microbiology and Clinical Immunology, 10-917 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 13

Hops (*Humulus lupulus* L.) have been used for centuries in the food industry, mainly in beer production. Its addition to this drink provides a better aroma and flavor and exerts a preservative effect. One of the active substances present in this plant is xanthohumol (XN), which is a prenylflavonoid found in hop cones. Although this compound has been known for many years, research on its potential application in various branches of medicine is still developing rapidly.

Currently, research on the therapeutic application of xanthohumol is focused mainly on cancer immunology. It indirectly inhibits the phosphorylation of protein kinase B (Akt), which is an important activator of the nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) pathway. Inhibition of NF- $\kappa$ B has beneficial effects, e.g., on tumor cell growth inhibition and angiogenesis in chronic myeloid leukemia (CML). Xanthohumol induces caspase-dependent and -independent apoptosis, decreases topoisomerase I activity, and inhibits nitric oxide (NO) and prostaglandin E2 production. The compound also shows anti-inflammatory and chemopreventive potential by acting on molecules crucial in carcinogenesis, such as inducible cyclooxygenase (COX2), leading to decreased PGE2 production and inhibition of tumor cell migration. Xanthohumol also induces superoxide dismutase (SOD), an enzyme responsible for detoxifying reactive oxygen species (ROS) formed in pathological states. The regulation of the Th1/Th2 lymphocyte balance by xanthohumol in a cancer model is also important, through its effect on increasing the expression of the transcription factor T-bet and attenuating the expression of GATA-3. This shifts the balance toward the Th1 population, responsible for the body's cellular immunity, crucial in the fight against cancer.

Many properties of xanthohumol have already been described, but still, some mechanisms of action of this compound on the body remain unclear. Clarifying the possibility of real applications of xanthohumol, both in human and veterinary medicine, requires thorough preclinical studies.



## IDENTYFIKACJA NISKOCZĄSTECZKOWYCH POLIPEPTYDÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH W HEMOLIMFIE LARW *GALLERIA MELLONELLA* PO ZAKAŻENIU BAKTERIAMI *PSEUDOMONAS ENTOMOPHILA*

MICHAŁ SUŁEK<sup>1</sup>, PAWEŁ MAK<sup>2</sup>, JAKUB KORDACZUK<sup>1</sup>, JUSTYNA ŚMIAŁEK<sup>2</sup>, IWONA WOJDA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Immunobiologii

<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Analitycznej

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. antimicrobial peptides – AMPs) to grupa polipeptydów będąca efektorami wrodzonych mechanizmów odpornościowych wszystkich organizmów żywych. AMPs charakteryzuje przede wszystkim szerokie spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego oraz brak powszechnej oporności mikroorganizmów na te cząsteczki. Z uwagi na to, upatruje się w nich kandydatów do opracowania leków nowej generacji. Barciak większy *Galleria mellonella*, który w środowisku naturalnym jest szkodnikiem pasiek, w warunkach laboratoryjnych doskonale sprawdza się jako organizm modelowy. Z uwagi na m.in. krótki cykl życiowy, łatwość hodowli oraz poznany genom, *G. mellonella* stanowi bardzo dobry model doświadczalny w badaniach interakcji gospodarz-patogen, również z wykorzystaniem patogenów ludzkich. Co więcej, owady są świetnym źródłem AMPs. Celem badań referowanych w niniejszym doniesieniu była identyfikacja małych białek obecnych w hemolimfie gąsienic *Galleria mellonella* po zakażeniu bakteriami *Pseudomonas entomophila* metodą iniekcji do hemocelu. W tym celu, z hemolimfy owadów zdrowych i zakażonych, wyodrębniono frakcję białek o małych masach, które posłużyły jako materiał do analizy techniką wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej z odwróconymi fazami (RP-HPLC). Po przeprowadzonej analizie porównawczej chromatogramów wybrano piki, których pola najbardziej różniły się między grupami owadów. Charakterystyczne frakcje odpowiadające wyselekcjonowanym pikom zebrano i poddano rozdzielowi elektroforetycznemu celem analizy densytometrycznej, a następnie zidentyfikowano metodą degradacji Edmana. Wśród zidentyfikowanych białek, których synteza indukowana była zakażeniem, znalazł się szereg znanych AMPs, jak również nowe, niescharakteryzowane związki. Uzyskane wyniki badań pozwoliły na jakościowe określenie części proteomu zaangażowanego w reakcję odpornościową owadów, jak również stanowią ważny element w poszukiwaniu nowych peptydów przeciwdrobnoustrojowych.

Podziękowania: *Pseudomonas entomophila* uzyskano dzięki uprzejmości dr Fridérica Boccarda (CNRS, Francja), którego grupa wyizolowała ten szczep w Gwadelupie. Badania finansowane przez NCN w ramach projektu OPUS 2020/37/B/NZ6/00167.

## IDENTIFICATION OF LOW MOLECULAR WEIGHT ANTIMICROBIAL POLYPEPTIDES IN THE HEMOLYMPH OF *GALLERIA MELLONELLA* LARVAE AFTER INFECTION WITH *PSEUDOMONAS ENTOMOPHILA*

MICHAŁ SUŁEK<sup>1</sup>, PAWEŁ MAK<sup>2</sup>, JAKUB KORDACZUK<sup>1</sup>, JUSTYNA ŚMIAŁEK<sup>2</sup>, IWONA WOJDA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Maria Curie-Skłodowska University, Institute of Biological Sciences, Department of Immunobiology

<sup>2</sup> Jagiellonian University, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Department of Analytical Biochemistry

Antimicrobial peptides (AMPs) are a group of polypeptides that are effectors of innate immune mechanisms in all living organisms. AMPs are primarily characterized by a broad spectrum of antimicrobial activity and the lack of widespread resistance of microorganisms to these molecules. Therefore, they are seen as candidates for the development of new-generation medicine. The greater wax moth *Galleria mellonella*, which is a pest of apiaries in the natural environment, is an excellent model organism in laboratory conditions. Due to its short life cycle, ease of breeding, and known genome, *G. mellonella* is a very good experimental model in the study of host-pathogen interactions, also with the use of human pathogens. Moreover, the insects are a great source of AMPs. The aim of the research was to identify low molecular weight proteins present in the hemolymph of *Galleria mellonella* larvae after intrahemocoelic infection with *Pseudomonas entomophila*. For this purpose, a fraction of low molecular weight polypeptides was isolated from the hemolymph of healthy and infected insects, which served as material for analysis using the reversed-phase high-pressure liquid chromatography (RP-HPLC) technique. After the comparative analysis of the chromatograms, peaks whose fields exhibited the greatest differences among the groups of insects were selected. Characteristic fractions corresponding to the selected peaks were collected, subjected to electrophoretic separation for densitometric analysis, and identified by Edman degradation. Among the identified proteins the synthesis of which was induced by infection, there were a number of known AMPs as well as new uncharacterized compounds. The research results allowed the qualitative determination of the part of the proteome involved in the insect immune response and are important data in the search for new antimicrobial peptides.

Acknowledgement: *Pseudomonas entomophila* is a kind gift from dr Frideric Boccard (CNRS, France), whose group isolated this strain in Guadelupe. Research financed by the National Science Center, project number 2020/37/B/NZ6/00167

## PERSPEKTYWY WYKORZYSTANIA METALOKARBORANÓW W NAUKACH BIOLOGICZNYCH

MICHALINA GOS

Polska Akademia Nauk, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda, Laboratorium Chemii Biomedycznej

Klaster boru, włączając w to metalokarborany, są cząsteczkami zyskującymi obecnie coraz większe zainteresowanie wśród naukowców zajmujących się zarówno chemią, jak i biologią oraz medycyną. Klaster boru to abiotyczne, zsyntezowane całkowicie przez człowieka cząsteczki stworzone głównie z atomów boru oraz wodoru lub jak w przypadku metalokarboranów – również z atomów węgla oraz metali takich jak kobalt czy żelazo. Ich zadziwiające właściwości, między innymi niespotykana stabilność fizyczna i termiczna, nietypowy amfifilowy charakter oraz podatność na różnego rodzaju modyfikacje sprawiają, że stają się one przedmiotem badań w coraz to liczniejszych dziedzinach. Jedną z nich jest terapia borowo-neutronowa (BNCT), w której klaster boru stanowią nośnik izotopu  $^{10}\text{B}$  do komórek nowotworowych. W naszych badaniach koncentrujemy się natomiast na badaniu metalokarboranów, w szczególności pochodnych [COSAN] $^{-}$ -u złożonego z centralnie położonego kationu kobaltu(III) oraz dwóch klatek karbolidowych, również w dziedzinie nowotworów, aczkolwiek pod kątem zastosowania tych cząsteczek jako samodzielnych leków o potencjale przeciwnowotworowym.

Czerpiąc z badań potwierdzających możliwość przenikania błon biologicznych przez [COSAN] $^{-}$  oraz udowadniających jego specyficzne wiązanie do poszczególnych białek (takich jak proteaza HIV czy anhidraza węglanowa IX), zaplanowaliśmy badania, w ramach których będziemy poszukiwać molekularnego podłoża przeciwnowotworowej aktywności metalokarboranów na szerokim panelu ludzkich linii nowotworowych oraz potencjalnego synergizmu tych cząsteczek z klinicznie stosowanymi cytostatykami. W tym celu wykonamy standardowe testy zahamowania proliferacji metodami SRB oraz MTT, wyznaczymy poziom toksyczności tych związków, a następnie poszerzymy zakres wykonywanych eksperymentów o testy badające mechanizmy komórkowe. Poszukiwanie molekularnych podstaw specyficznych właściwości przeciwnowotworowych, przy jednoczesnej możliwości konstruowania pochodnych metalokarboranów o zwiększonym działaniu tego typu, może stanowić podstawę do wprowadzenia tych nietypowych abiotycznych cząsteczek w dziedzinę projektowania leków oraz onkologii klinicznej.

## PROSPECTS FOR METALLACARBORANES' EMPLOYMENT IN BIOLOGICAL STUDIES

MICHALINA GOS

Polish Academy of Sciences, Hirszfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy, Laboratory of Biomedical Chemistry

Boron clusters, including metallacarboranes, are molecules gaining recently more and more interest amongst scientists from not only chemical fields, but biological and medical as well.

Boron clusters are abiotic, purely man-synthesised compounds mainly comprised of boron and hydrogen atoms or in the case of metallacarboranes – also carbon and metal (such as cobalt and iron). Their extraordinary properties: outstanding chemical and thermal stability, unusual amphiphilic character and susceptibility to various types of modifications amongst others, make them an interesting object of studies in more and more multiple fields. One of them is boron neutron capture therapy (BNCT) in which boron clusters localise specifically inside tumour cells and constitute a  $^{10}\text{B}$  isotope carrier. There they undergo neutron radiation which results in their decay creating lithium nuclei and alpha particles which in turn disrupt individual cells. In our studies we concentrate on metallacarboranes' (precisely  $[\text{COSAN}]^-$  derivatives comprised of centrally localised cobalt(III) cation and two surrounding carbollide cages) research in cancer studies as well, however in terms of implementing these molecules as individual drugs carrying specific antitumor potential.

Based on experiments confirming the possibility of penetrating biological membranes by  $[\text{COSAN}]^-$  and proving its specific binding to several proteins such as HIV protease and carbonic anhydrase IX we scheduled a research within which we will seek for molecular basis of metallacarboranes' antitumour activity on a wide panel of human cancer cell lines and their potential synergistic action with clinically administered cytostatic drugs. For this purpose we will conduct standard cell growth measurements after treatment with mentioned compounds using SRB and MTT assays, determine their toxicity levels and widen the scope of our studies on tests describing cellular mechanisms. Search for metallacarboranes' molecular grounds of their specific antitumor properties along with an enormous number of potentially available derivatives with even enhanced action might underlie these atypical abiotic molecules' implementation into drugs design and clinical oncology areas.

## ANALIZA DZIAŁANIA KOMPLEKSU BIAŁKOWO-POLISACHARYDOWEGO OTRZYMANEGO Z PŁYNU CELOMATYCZNEGO DŹDŻOWNICY *DENDROBAENA VENETA* NA KOMÓRKI DROŹDŻAKA *CANDIDA ALBICANS*

SYLWIA WÓJCIK-MIESZAWSKA, MARTA FIOŁKA

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Immunobiologii

Wstęp i cel badań: kandydozy układowe i uogólnione stanowią ogromny problem na oddziałach intensywnej terapii. Przyczyniają się nie tylko do zwiększenia kosztów leczenia, ale także obniżają komfort życia pacjenta i niejednokrotnie zmniejszają szanse na wyzdrowienie, przyczyniając się nawet do śmierci chorego. Konieczne jest więc poszukiwanie preparatów bezpiecznych dla poważnie chorych osób, a jednocześnie wysoce skutecznych by zwalczyć zakażenie. Prowadzone badania miały na celu analizę działania aktywnego kompleksu białkowo-polisacharydowego pozyskanego z płynu celomatycznego *Dendrobaena veneta* na patogenego drożdżaka *Candida albicans*, stanowiącego czynnik etiologiczny kandydoz.

Materiały i metody: badanym preparatem był kompleks białkowo-polisacharydowy pozyskany z płynu wypełniającego celomę ciała *D. veneta*. Hodowlę komórek grzybowych inkubowano z kompleksem o stężeniach 25, 50 i 100  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ . Do porównania wykorzystano hodowlę komórek kontrolnych bez dodatku preparatu. Efekty działania kompleksu białkowo-polisacharydowego na komórki drożdżowe analizowano z wykorzystaniem mikroskopii optycznej i fluorescencyjnej, a także skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej (SEM i TEM) i mikroskopii sił atomowych (AFM). Ponadto, efekty działania zanalizowano metodą spektroskopii FTIR, cytometrią przepływową i przeprowadzono analizę aktywności metabolicznej.

Wyniki: przeprowadzone badania ukazały liczne zmiany morfologiczne komórek grzybowych po inkubacji z aktywnym kompleksem, takie jak powiększanie mitochondriów i wakuoli, zaburzenia ciągłości ściany komórkowej i odsłanianie położonych głębiej  $\beta$ -glukanów, zaburzenia podziałów komórkowych i niecałkowity podział materiału jądrowego między komórkę macierzystą i potomną. Zaobserwowano również apoptozę i nekrozę komórek inkubowanych z frakcją.

Wnioski: kompleks białkowo-polisacharydowy wyizolowany z płynu celomatycznego wywołuje śmierć komórek na drodze apoptozy i nekrozy, a także powoduje odsłanianie immunogennej warstwy  $\beta$ -glukanów, które mogą stymulować odpowiedź immunologiczną organizmu prowadzącą do zwalczania patogena.

## ANALYSIS OF THE EFFECT OF THE PROTEIN- POLYSACCARIDE COMPLEX OBTAINED FROM *DENDROBAENA VENETA*'S COELOMIC FLUID ON *CANDIDA ALBICANS* YEAST CELLS

SYLWIA WÓJCIK-MIESZAWSKA, MARTA FIOŁKA

Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, Institute of Biological Sciences, Department of Immunobiology

Background and purpose of the research: systemic and generalized candidiasis are a huge problem in intensive care units. They not only contribute to increasing the costs of treatment, but also reduce the patient's quality of life and often reduce the chances of recovery, even leading to the patient's death. It is therefore necessary to look for preparations that are safe for seriously ill people, and at the same time highly effective to fight the infection. The conducted research was aimed at analyzing the effect of the active protein-polysaccharide complex obtained from the *Dendrobaena veneta* coelomic fluid on the pathogenic yeast *Candida albicans*, which is the etiological factor of candidiasis.

Materials and methods: the tested preparation was a protein-polysaccharide complex obtained from the fluid filling the body coeloma of *D. veneta*. The fungal cell culture was incubated with the complex at concentrations of 25, 50 and 100  $\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$ . For comparison, a control cell culture without the addition of the preparation was used. The effects of the protein-polysaccharide complex on yeast cells were analyzed using optical and fluorescence microscopy, as well as scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM) and atomic force microscopy (AFM). Moreover, the effects were analyzed by FTIR spectroscopy, flow cytometry and metabolic activity analysis was performed.

Results: the conducted studies showed numerous morphological changes of fungal cells after incubation with the active complex, such as enlargement of the mitochondria and vacuoles, disturbances in the continuity of the cell wall and exposing  $\beta$ -glucans, disturbances in cell separation and incomplete division of nuclear material between the parent and daughter cells. Apoptosis and necrosis of cells incubated with the fraction were also observed.

Conclusions: the protein-polysaccharide complex isolated from the coelomic fluid causes cell death by apoptosis and necrosis, and also reveals the immunogenic layer of  $\beta$ -glucans, which can stimulate the body's immune response leading to the elimination of the pathogen.



# **STRESZCZENIA WYSTĄPIEŃ PLAKATOWYCH**



## ODDZIAŁYWANIA MICRORNA RODZINY MIR-200 Z BIAŁKAMI SESN I ICH POTENCJALNE ZNACZENIE W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

JOANNA KOZAK, CEZARY GROCHOWSKI, RYSZARD MACIEJEWSKI

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra Anatomii Człowieka

Krótkie, niekodujące RNA zwane microRNA, hamują proces translacji poprzez wiązanie się z komplementarną sekwencją 3'UTR mRNA białka docelowego. Dostępne piśmiennictwo naukowe wskazuje na regulatorową funkcję microRNA różnorodnych szlaków sygnalizacyjnych, w tym tych związanych ze stresem oksydacyjnym i niedotlenieniem komórek. Do naszych badań wybraliśmy microRNA należące do rodziny miR-200 (miR-200a/200b/200c/141/429) i podjęliśmy próbę zdefiniowania roli miR-200 w regulacji ekspresji białek należących do rodziny SESN. Białka SESN stanowią interesujący obiekt badań z uwagi na zaangażowanie w szlaki sygnalizacyjne aktywowane stresem oksydacyjnym i związanymi z nim wolnymi rodnikami tlenowymi (ROS), niedotlenieniem czy uszkodzeniem DNA.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały bezpośrednie oddziaływania pomiędzy białkiem docelowym SESN3 a miR-200b, miR-200c i miR-429 w komórkach linii raka endometrium Ishikawa, AN3CA i KLE oraz bezpośrednie oddziaływania pomiędzy białkiem docelowym SESN2 a miR-141 i 141 w liniach komórkowych KLE i RL-95-2.

Podsumowując, analiza przeprowadzonych doświadczeń pozwoliła na potwierdzenie przewidywanych oddziaływań pomiędzy rodziną miR-200 a białkami SESN, które zaangażowane są w komórkową odpowiedź na stres oksydacyjny i procesy regulujące poziom ROS. Liczne doniesienia naukowe wskazują, że zaburzona homeostaza ROS w istotny sposób przyczynia się progresji nowotworu i wykształcenie przez komórki nowotworowe potencjału metastatycznego. Z drugiej strony, kumulacja ROS w komórkach nowotworowych podczas stosowania chemioterapii działa na nie toksycznie. Dochodzi do zaburzenia równowagi poszczególnych mechanizmów antyoksydacyjnych, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórki na drodze apoptozy. Uzasadnionym wydaje się podjęcie dalszych badań mających na celu dogłębne poznanie złożonych zależności między miR-200, białkami SESN i stresem oksydacyjnym wywołanym chemioterapeutykami. Zbadanie tych oddziaływań może stanowić istotny punkt wyjścia do poznania komórkowej odpowiedzi na zastosowaną terapię przeciwnowotworową.

## INTERPLAY BETWEEN MIR-200 FAMILY AND SESN PROTEINS AND THEIR PROSPECTIVE SIGNIFICANCE TO ANTICANCER THERAPY

JOANNA KOZAK, CEZARY GROCHOWSKI, RYSZARD MACIEJEWSKI

Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair of Human Anatomy

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding regulatory particles that may effectively inhibit mRNA translation or cause mRNA degradation by base pairing in the 3'UTR sequence of the target protein. In our study we focused on miRNA-200 family (miR-200) which includes miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 and miR-429. The number of studies shown that miRNAs are potent regulators of cellular signalling pathway connected with oxidative stress and hypoxia. The hypoxia, oxidative stress and reactive oxygen species (ROS), or DNA damage generate subsequent biological effect through the regulation of Sestrin (SESN 1-3) proteins family dependent pathways. Based on those findings we hypothesized that SESN proteins could be regulated by miR-200.

We demonstrated that SESN2 protein is a direct target of miR-141 in KLE and RL-95-2 EC cell lines. Moreover, we have shown that SESN3 protein is a direct target of miR-200b, miR-200c and miR-429 in Ishikawa, AN3CA and KLE cell lines.

In conclusion, we identified new interactions between miR-200 and the oxidative stress response SESN proteins that could regulate ROS level in the cancerous cells. Compelling evidence demonstrates that a dysregulation of intracellular ROS homeostasis plays an important role in the development and metastatic dissemination of cancerous cells. Moreover, the excessive accumulation of ROS during chemotherapy, makes cancerous cells sensitive to chemotherapeutic interventions. Hence, it seems reasonable to take a closer look at the crosstalk between miR-200, SESN proteins and oxidative stress, mostly induced by chemotherapeutics. Therefore, the reciprocal connection between miR-200-SESNs-ROS may serve as the important loop for regulating anti-cancer drugs' induced cellular response.

## 5-FLUOROURYDYNA JAKO INHIBITOR WZROSTU *CANDIDA ALBICANS*

MONIKA JANECZKO

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biologii Molekularnej, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, Polska Email: monika.janeczko@kul.pl

*Candida albicans* jest głównym gatunkiem odpowiedzialnym za inwazyjną kandydozę, identyfikowanym w 46,3% wszystkich przypadków. Jego zjadliwość jest bezpośrednio i ściśle związana ze zdolnością do tworzenia biofilmu. Biofilmy *C. albicans* to skomplikowane struktury, które zawierają komórki drożdżowe, pseudo-strzępki i strzępki otoczone macierzą zewnątrzkomórkową. Biofilmy tworzą się na tkankach żywiciela oraz na wszczepionych urządzeniach medycznych i charakteryzują się wysoką opornością na stosowane klinicznie środki przeciwgrzybicze. Biorąc pod uwagę rosnące znaczenie chorób grzybiczych i oporności patogenów na środki przeciwdrobnoustrojowe, istnieje duże zapotrzebowanie na opracowywanie nowych opcji leczenia [1].

Analogi nukleozydów to jedna z klas leków ważnych z klinicznego punktu widzenia, które są powszechnie stosowane jako środki przeciwnowotworowe i przeciwwirusowe. Wykazano także, że niektóre pochodne pirymidyny czy puryny, w tym związki fluorowcowane, tiolowane i azolowe, wykazuje działanie przeciwdrobnoustrojowe [2]. W przeprowadzonych doświadczeniach użyto 5-fluorourydyny (FUrđ) (analogu fluoropirymidyny) i udowodniono, że związek hamował wzrost *C. albicans* oraz ośmiu innych patogennych gatunków drożdży, a wartości MIC (minimalne stężenia hamujące) mieściły się w zakresie 0,2-12,8 µg/ml. Traktowanie komórek *C. albicans* FUrđ w stężeniu poniżej MIC hamowało wzrost strzępek. Ponadto, potwierdzono, że FUrđ hamował adhezję komórek *C. albicans* i tworzenie biofilmu oraz redukował zawartość zewnątrzkomórkowego DNA i białek w macierzy biofilmu. Za pomocą testu hemolitycznego potwierdzono brak toksyczności FUrđ wobec ludzkich czerwonych krwinek. Wyniki te wskazują na obiecujący potencjał terapeutyczny 5-fluorourydyny w zakażeniach wywołanych przez *C. albicans*.

### Literatura:

- [1] Lohse, M. B., Gulati, M., Johnson, A. D., Nobile, C. J., 2018. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature reviews. Microbiology*, 16(1), 19–31.
- [2] Thomson, J. M., Lamont, I. L., 2019. Nucleoside Analogues as Antibacterial Agents. *Frontiers in microbiology*, 10, 952.

## 5-FLUOROURIDINE AS THE GROWTH INHIBITOR OF *CANDIDA ALBICANS*

MONIKA JANECZKO

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Molecular Biology, Konstantynów 1i, 20-708 Lublin, Poland Email address: monika.janeczko@kul.pl

*Candida albicans* is the major species responsible for invasive candidiasis, identified in 46.3% of all cases. Its virulence is directly and closely related to ability to form a biofilm. *C. albicans* biofilms are complex structures that contain yeast cells, pseudohyphae and hyphae surrounded by an extracellular matrix. The biofilms are formed on the tissues of host and on the implanted medical devices and are characterized by high resistance to clinically used antifungal agents. Given the growing importance of fungal diseases and antimicrobial resistance, novel treatment options are in high demand [1].

Nucleoside analogues are one class of drugs that are important from a clinical perspective. They are common used as anticancer and antiviral agents. However, significant number of clinically approved pyrimidine and purine derivatives, including halogenated, thiolated and azolated compounds have been shown to have antimicrobial activity action [2]. In this study, 5-fluorouridine (FUr) (fluoropyrimidine analogue) was used. It was proved that the compound inhibited the growth of *C. albicans* and eight other pathogenic yeast species, and the MIC values (minimal inhibitory concentrations) ranged from 0.2-12.8 µg/ml. Treatment of FUr at sub-MIC concentration inhibited hyphal growth. In addition, it was confirmed that FUr inhibited *C. albicans* cell adhesion and biofilm formation, and reduced extracellular DNA and proteins in the biofilm matrix. The non-toxicity effect of FUr against human red blood cells was confirmed by the haemolytic assay. These results indicate the promising therapeutic potential of 5-fluorouridine in infections caused by *C. albicans*.

### References:

- [1] Lohse, M. B., Gulati, M., Johnson, A. D., Nobile, C. J., 2018. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature reviews. Microbiology*, 16(1), 19–31.
- [2] Thomson, J. M., Lamont, I. L., 2019. Nucleoside Analogues as Antibacterial Agents. *Frontiers in microbiology*, 10, 952.

## POLIMORFIZM GENU RECEPTORA DOPAMINY D4 U PACJENTÓW Z CUKRZYCĄ TYPU 1

BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, MAŁGORZATA MYŚLIWIEC<sup>2</sup>, PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra i Zakład Immunologii Medycznej; Dębinki 1; 80-211 Gdańsk; Polska

<sup>2</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra i Klinika Pediatrii, Diabetologii i Endokrynologii; Dębinki 7; 80-211 Gdańsk; Polska

### **Wstęp i cel**

Dopaminergiczne szlaki sygnałowe są jednym z regulatorów autoimmunizacji, dlatego wydaje się, że polimorfizm -521C>T genu *DRD4* może korelować z ryzykiem rozwoju cukrzycy typu 1 (DM1) oraz i jej powikłań i chorób współistniejących.

### **Materiały i metody**

Zbadaliśmy związki polimorfizmu -521C>T genu *DRD4* z cukrzycą oraz jej powikłaniami i chorobami współistniejącymi, a także ze stężeniem w surowicy markerów pro- i przeciwzapalnych, profilem lipidowymi oraz odsetkiem subpopulacji monocytów krwi obwodowej.

### **Wyniki**

Najważniejsze wnioski naszych badań to:

- 1) genotyp CC i allel C są związane ze zmniejszonym, a genotyp TT i allel T ze zwiększonym ryzykiem rozwoju DM1;
- 2) genotyp CC jest związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju dyslipidemii i retinopatii;
- 3) pacjenci z genotypem CC i allelem C mają najwyższy odsetek subpopulacji prozapalnych monocytów CD16<sup>+</sup>;
- 4) polimorfizm -521C>T genu *DRD4* moduluje stan zapalny a także profil lipidowy chorych na cukrzycę typu 1.

### **Wnioski**

Wyniki naszych badań sugerują, że dopaminergiczne szlaki sygnałowe mogą odgrywać istotną rolę w etiologii DM1 oraz jej powikłań i chorób współistniejących. Ponadto, polimorfizm -521C>T genu *DRD4* można uznać za marker ryzyka rozwoju DM1 oraz retinopatii i dyslipidemii u pacjentów z już rozpoznaną cukrzycą.

Badania zostały sfinansowane z funduszu badań statutowych ST49 Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

## VARIANT IN THE DOPAMINE-4-RECEPTOR GENE (*DRD4*) IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES

BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, MAŁGORZATA MYŚLIWIEC<sup>2</sup>, PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Department of Medical Immunology; Dębinki 1; 80-211 Gdańsk; Poland

<sup>2</sup>Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Chair & Clinics of Paediatrics, Diabetology and Endocrinology; Dębinki 7; 80-211 Gdańsk; Poland

### **Background and Aims**

Because dopaminergic signaling pathways are one of the regulators of autoimmunity, we hypothesize that the -521C>T *DRD4* gene polymorphism may correlate to the risk of diabetes mellitus type 1 (DM1) and its comorbidities.

### **Methods**

We have investigated the associations of the -521C>T *DRD4* gene polymorphism with the DM1 and its comorbidities as well as the levels of serum pro- and anti-inflammatory markers, lipid profiles and values of monocyte subsets.

### **Results**

The key results of our study are as follows:

- 1) CC genotype and C allele are associated with a reduced risk of DM1 development whereas TT genotype and T allele are associated with a higher risk of DM1;
- 2) CC genotype is associated with an increased risk of dyslipidemia and retinopathy in diabetic patients;
- 3) CC genotype and C allele carriers had the highest frequency of pro-inflammatory CD16<sup>+</sup> monocytes;
- 4) the *DRD4* -521C>T polymorphism modifies the inflammatory status as well as lipid profile in DM1 patients.

### **Conclusions**

Our data imply that the dopaminergic signaling pathways may play an important role in the etiology of DM1 as well as its comorbidities and will provide a new insight into the DM1 risk management. The -521C>T *DRD4* gene polymorphism could be considered a genetic marker to predict susceptibility to DM1 as well as retinopathy and dyslipidemia progress in patients with already established disease.

This work was supported by The State Committee for Scientific Research ST49 (Medical University of Gdańsk)

## WARIANTY GENÓW *CCR5* I *CAV1* WPŁYWAJĄ NA PRAWDOPODOBIEŃSTWO ROZWOJU DELIRIUM PO OPERACJI KARDIOCHIRURGICZNEJ Z UŻYCIEM KRĄŻENIA POZAUSTROJOWEGO

BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, PAWEŁ KOZAK<sup>2</sup>, AGATA MACIEJEWSKA<sup>1</sup>, ANETA SZOFER-SENDROWSKA<sup>2</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, ALEKSANDRA BIEDRZYCKA<sup>3</sup>, ANDRZEJ ŁOŚ<sup>4</sup>, MACIEJ MICHAŁ KOWALIK<sup>2</sup>, ROMUALD LANGO<sup>3</sup>, JAN ROGOWSKI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra i Zakład Immunologii Medycznej; Dębinki 1; 80-211 Gdańsk; Polska

<sup>2</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii; Smoluchowskiego 17; 80-214 Gdańsk; Polska

<sup>3</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Zakład Kardioanestezjologii; Dębinki 7; 80-211 Gdańsk; Polska.

<sup>4</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra i Klinika Kardiochirurgii i Chirurgii Naczyniowej; Smoluchowskiego 17; 80-214 Gdańsk; Polska.

**Wstęp i cel** Najczęstszym powikłaniem neuropsychiatrycznym po zabiegach kardiochirurgicznych jest delirium pooperacyjne (POD). Znane są związki polimorfizmów genów *CCR5* i *CAV1* z niektórymi zaburzeniami ośrodkowego układu nerwowego. Dlatego też w niniejszej pracy zbadaliśmy zależności między wybranymi polimorfizmami a POD w celu określenia wariantów genetycznych, które mogłyby pomóc w identyfikacji pacjentów o wysokim ryzyku rozwoju tego powikłania.

**Materiały i metody** Do badań zakwalifikowano 514 pacjentów kardiochirurgicznych operowanych z użyciem krążenia pozaustrojowego. Polimorfizmy genów określono w oparciu o metodę ARMS-PCR.

### Wyniki

Najważniejsze wnioski naszych badań to:

- 1) polimorfizmy genów *CCR5* and *CAV1* są związane z rozwojem POD;
- 2) allel  $\Delta 32$  genu *CCR5* jest związany z niższym, a genotyp CC genu *CAV1* z wyższym ryzykiem rozwoju POD;
- 3) analiza haplotypów wykazała, że obecność Hap1 i Hap4 wiąże się z niższym, a Hap2 z wyższym ryzykiem rozwoju POD;
- 4) diplotyp Dip5 jest związany z wyższym ryzykiem rozwoju POD;
- 5) obecność Hap2 i Dip5 jest istotnie i niezależnie związana ze zwiększonym, a  $\Delta 32$  i Hap4 ze zmniejszonym ryzykiem POD.

**Wnioski** Wyniki naszych badań sugerują, że polimorfizmy genów *CCR5* i *CAV1* można uznać za markery genetyczne zwiększonej podatności na rozwój delirium pooperacyjnego.

## GENETIC VARIANTS OF *CCR5* AND *CAV1* INFLUENCE PROBABILITY OF DELIRIUM DEVELOPMENT AFTER CARDIAC SURGERY ON CARDIOPULMONARY BYPASS

BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, PAWEŁ KOZAK<sup>2</sup>, AGATA MACIEJEWSKA<sup>1</sup>, ANETA SZOFER-SENDROWSKA<sup>2</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, ALEKSANDRA BIEDRZYCKA<sup>3</sup>, ANDRZEJ ŁOŚ<sup>4</sup>, MACIEJ MICHAŁ KOWALIK<sup>2</sup>, ROMUALD LANGO<sup>3</sup>, JAN ROGOWSKI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Department of Medical Immunology; Dębinki 1; 80-211 Gdańsk; Poland

<sup>2</sup> Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Department of Anaesthesiology & Intensive Care; Smoluchowskiego 17; 80-214 Gdańsk; Poland

<sup>3</sup> Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Department of Cardiac Anesthesiology; Dębinki 7; 80-211 Gdańsk; Poland.

<sup>4</sup> Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Department of Cardiac Surgery; Smoluchowskiego 17; 80-214 Gdańsk; Poland.

**Background and Aims** Postoperative delirium (POD) is the most common neuropsychiatric complication after cardiac surgery. *CCR5* and *CAV1* polymorphisms have been previously described for their connections with several central nervous system disorders. In the present study, we investigated the associations between selected polymorphisms and POD, with the aim of determining genetic variants that could help to identify patients at high risk of developing this complication.

**Methods** A total of 514 patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass have been included in the investigation. Genotyping of study cohort was carried out using ARMS-PCR.

### Results

The key results of our approach are as follows:

- 1) *CCR5* and *CAV1* polymorphisms are associated with POD;
- 2) the  $\Delta 32$  allele of *CCR5* is associated with lower risk of POD, whereas the CC genotype of *CAV1* is connected with higher risk of POD;
- 3) subsequent haplotype analysis demonstrated reduced risk of POD as associated with Hap1 and Hap4, simultaneously, increased risk of POD is linked with Hap2;
- 4) the haplotype combination Dip5 is associated with higher risk of POD;
- 5) the presence of Hap2 and Dip5 is significantly and independently connected with increased risk of POD, whereas  $\Delta 32$  allele and Hap4 are linked with reduced risk of this condition.

**Conclusions** Although further studies are required, our results, for the first time, indicate that *CCR5* and *CAV1* polymorphisms could be considered as genetic markers of increased susceptibility to POD.



## 5'TRIFOSFORAN-3'DIFOSFORAN ADENOZYNY JAKO POTENCJALNY ALARMON BAKTERYJNY

KATARZYNA POTRYKUS

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii, Gdańsk, Polska

Ze względu na stale zmieniające się warunki środowiskowe bakterie wyewoluowały wiele odpowiedzi regulatorowych, które pozwalają im radzić sobie z drastycznymi zmianami, jakie mogą napotkać. Jedną z takich odpowiedzi, tzw. odpowiedź ścisła, jest dobrze znaną odpowiedzią bakterii na niedobór składników odżywczych, która polega na syntezie specyficznych efektorów nukleotydowych, (p)ppGpp (5'trifosforan-3'difosforan guanozyny i 5'difosforan-3'difosforan guanozyny). Związki te nazwano alarmonami, ponieważ „alarmują” komórki o zmianach w warunkach środowiskowych. U *Escherichia coli* synteza (p)ppGpp jest przeprowadzana albo przez RelA (w warunkach głodu aminokwasowego) albo przez SpoT (w warunkach głodu węglowego, żelazowego, azotowego i kwasów tłuszczowych; jak również w warunkach stresu osmotycznego i temperaturowego). Hamowanie stabilnej syntezy RNA (tj. rRNA i tRNA) oraz aktywacja transkrypcyjna genów, których produkty są wymagane do natychmiastowego przeżycia, takich jak geny związane ze szlakami biosyntezy aminokwasów, są cechami charakterystycznymi tej odpowiedzi. Wspomniana modulacja ekspresji genów jest uzyskiwana poprzez bezpośrednie wiązanie (p)ppGpp do polimerazą RNA *E. coli*.

Wykazaliśmy, że u bakterii może występować inny potencjalny mały efektor nukleotydowy, a mianowicie 5'trifosforan-3'difosforan adenozyiny (pppApp). Zaobserwowaliśmy jego syntezę przez enzym pochodzący z *Methylobacterium extorquens* (RSH<sub>Mex</sub>), *in vivo* i *in vitro*. Ponadto wykazaliśmy, że komórki *E. coli* również syntetyzują pppApp. Dane te uzupełniają nasze badania transkrypcji *in vitro* z zastosowaniem polimerazy RNA *E. coli*, które wykazały, że w przypadku rybosomalnego promotora *rrnBP1* pppApp wywiera działanie przeciwne do działania (p)ppGpp, tj. obserwuje się aktywację transkrypcji. Co ciekawe, nasze dane sugerują, że pppApp wiąże się w innym miejscu do polimerazy RNA niż (p)ppGpp, aczkolwiek istnieje konkurencja między tymi dwoma efektorami, ponieważ obserwowane wyniki różnią się w zależności od tego, który nukleotyd związał się jako pierwszy z polimerazą RNA.

Podsumowując, nasze dane sugerują, że pppApp może być wcześniej pomijanym małym alarmonem nukleotydowym, który w pewnych warunkach może przeciwdziałać regulacji wywieranej przez (p)ppGpp.

## ADENOSINE 5'TRIPHOSPHATE -3'DIPHOSPHATE AS A PUTATIVE BACTERIAL ALARMONE

KATARZYNA POTRYKUS

University of Gdansk, Faculty of Biology, Department of Bacterial Molecular Genetics, Gdansk, Poland

Due to constantly changing environmental conditions, bacteria have evolved many regulatory responses allowing them to cope with the drastic changes they may encounter. One of such responses, the stringent response, is a well-known bacterial response to nutrient deprivation which relies on synthesis of specific nucleotide effectors, (p)ppGpp (guanosine 5'triphosphate -3'diphosphate and guanosine 5'diphosphate -3'diphosphate). These compounds were called alarmones because they "alarm" the cell about changes in environmental conditions. In *Escherichia coli*, (p)ppGpp synthesis is carried out either by RelA (under amino acid starvation conditions) or by SpoT (under carbon, iron, nitrogen, and fatty acid starvation; as well as under osmotic and temperature stress). Inhibition of stable RNA synthesis (i.e. rRNA and tRNA) and transcriptional upregulation of genes whose products are required for immediate survival, such as genes associated with amino acid biosynthesis pathways, are hallmarks of this response. Such modulation of gene expression is achieved by direct (p)ppGpp binding to the *E. coli* RNA polymerase.

We have shown that another putative small nucleotide effector may exist in bacteria, namely adenosine 5'triphosphate -3'diphosphate (pppApp). We observed its synthesis with a *Methylobacterium extorquens* enzyme (RSH<sub>Mex</sub>) *in vivo* and *in vitro*. Moreover, we have shown that *E. coli* cells synthesize pppApp as well. This data is complemented by our *in vitro* transcription assays with *E. coli* RNA polymerase, which demonstrated that pppApp exerts effects opposite to those of (p)ppGpp at the ribosomal *rrnBP1* promoter, i.e. transcriptional activation is observed. Interestingly, our data suggests pppApp binds to a different site on RNA polymerase than (p)ppGpp, although there is competition between the two effectors as the observed effects differ depending on which nucleotide was allowed to bind to RNA polymerase first.

Taken together, our data suggest that pppApp might be a so far overlooked small nucleotide alarmone that under certain conditions may counteract regulation exerted by (p)ppGpp.

## POTENCJAŁ PRZECIWBAKTERYJNY NOWYCH 1-HEXYLOSULFONYLO-4- PODSTAWIONYCH POCHODNYCH TIOSEMICARBAZYDU

MONIKA PITUCHA<sup>1</sup>, ANNA BIERNASIUK<sup>2</sup>, WOJCIECH ZIEMICHÓD<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Samodzielna Pracownia Radiofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, 20-093 Lublin

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, 20-093 Lublin

<sup>3</sup> Studenckie Koło Naukowe Samodzielnej Pracowni Radiofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, 20-093 Lublin

Tiosemikarbazyd jest użytecznym ugrupowaniem strukturalnym o wysokim potencjale biologicznym. Optymalizacja tej struktury może zaowocować przełomowym odkryciem nowej klasy środków terapeutycznych.

W naszej pracy zsyntetyzowano nowe pochodne tiosemikarbazydu posiadające grupę sulfonową WZ1 – WZ4.

Związki te zostały przebadane *in vitro* pod kątem działania przeciwbakteryjnego i przeciwgrzybiczego przy użyciu metody mikrorozcieńczeń zgodnie z rekomendacjami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST) oraz Instytutu Norm Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI) wobec panelu mikroorganizmów referencyjnych. Badane związki wykazały potencjalne działanie przeciwdrobnoustrojowe, zwłaszcza wobec bakterii Gram-dodatnich. Ich minimalne stężenia, które hamowały wzrost *Staphylococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* i *Bacillus* spp. wahały się od 125 do 2000 µg/ml. Pałeczki Gram-ujemne z *Enterobacterales* i bakterii niefermentujących (*Pseudomonas aeruginosa*) były niewrażliwe na badane związki, z wyjątkiem substancji WZ3 (MIC = 500 – 1000 µg/mL). W przypadku grzybów należących do *Candida* spp. zaobserwowano zróżnicowaną aktywność. Związki te wykazywały działanie przeciwgrzybicze przy wartości MIC = 125 – 2000 µg/mL (WZ3 i WZ4) lub jej brak. Ponadto, test lizy erytrocytów potwierdził brak toksyczności pochodnych wobec komórek krwi. Dane te pokazały, że nowo zsyntetyzowane związki mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w profilaktyce lub leczeniu zakażeń wywołanych przez niektóre patogenne lub oportunistyczne drobnoustroje.

## ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF NEW 1-HEXYLSULFYL-4-SUBSTITUTED THIOSEMICARBAZIDE DERIVATIVES

MONIKA PITUCHA<sup>1</sup>, ANNA BIERNASIUK<sup>2</sup>, WOJCIECH ZIEMICHÓD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Independent Radiopharmacy Unit, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland;

<sup>3</sup>Student Research Group, Independent Radiopharmacy Unit, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin,

Thiosemicarbazide is a useful structural moiety that has the biological potential. Optimization of this structure can result in groundbreaking discovery of a new class of therapeutic agents. In this paper new thiosemicarbazide derivatives having a sulfo group WZ1 – WZ4 were synthesized.

These compounds were screened *in vitro* for antibacterial and antifungal activities using the broth microdilution method according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines against a panel of reference strains of microorganisms. The examined compounds showed potential antimicrobial effect, especially against Gram-positive bacteria. Their minimal concentrations, which inhibited growth of *Staphylococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus* and *Bacillus* spp. ranged from 125 to 2000 µg/mL. Gram-negative rods from *Enterobacteriales* and non-fermenting bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*) were insensitive to the studied compounds, except for substance WZ3 (MIC = 500 – 1000 µg/mL). In the case of fungi, belonging to *Candida* spp., different activity was indicated. These compounds showed antifungal effect with MIC = 125 – 2000 µg/mL (WZ3 and 4) or no anticandidal bioactivity. Moreover, the erythrocyte lysis assay confirmed no toxicity of these derivatives to blood cells. These data showed that newly synthesized compounds may be used, in the future, in the prevention or treatment of infections caused by some pathogenic or opportunistic microorganisms.

## KOMPLEKSY MIEDZI(II) 1-PIRYDINOACETYLO 4-PODSTAWIONYCH POCHODNYCH TIOSEMIKARBAZYDU O DZIAŁANIU PRZECIWNOWOTWOROWYM

MONIKA PITUCHA<sup>1</sup>, AGNIESZKA CZYŁKOWSKA<sup>2</sup>, AGNIESZKA KORG-PLEWKO<sup>3</sup>, EVELINA HUMENIUK<sup>3</sup>, BARTŁOMIEJ ROGALWICZ<sup>2</sup>, GRZEGORZ ADAMCZUK<sup>3</sup>, PAWEŁ KOZYRA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Samodzielna Pracownia Radiofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, 20-093 Lublin

<sup>2</sup> Instytut Chemii Ogólnej i Ekologicznej, Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej, 90-924 Łódź,

<sup>3</sup> Samodzielna Pracownia Biologii Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, 20-093 Lublin

Pochodne tiosemikarbazyny są intensywnie badane pod kątem ich aktywności biologicznej. Związki z układem tiosemikarbazynowym wykazują zróżnicowany profil biologiczny. W pracy zaprojektowaliśmy i zsyntetyzowaliśmy 2-, 3-, 4-pirydynoacetylo-4-podstawione pochodne tiosemikarbazyny jako organiczne ligandy o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. Związki te wykorzystano do utworzenia połączeń koordynacyjnych miedzi w jednoetapowej reakcji w mieszaninie metanol/etanol (v/v=1:1) stosowanej jako rozpuszczalnik. Otrzymane osady zostały następnie wysuszone, a ich właściwości fizykochemiczne scharakteryzowane za pomocą odpowiednich technik analitycznych, w tym analizy termogravimetrycznej (TG-DTG) i spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). W kolejnym kroku zbadano aktywność biologiczną otrzymanych związków. Zarówno ligandy, jak i kompleksy Cu(II) testowano na trzech ludzkich liniach czerniaka, trzech ludzkich liniach raka prostaty i prawidłowej linii ludzkich fibroblastów. Z grupy ligandów związki B3, B5 i B9 wykazywały słabe działanie cytotoksyczne na wszystkie trzy linie czerniaka. W grupie związków kompleksowych substancje oznaczone jako B1Cu, B10Cu i B11Cu wykazywały działanie toksyczne jedynie wobec linii komórek czerniaka ludzkiego G361. W testach na liniach raka prostaty tylko B1Cu wykazywał toksyczność wobec wszystkich linii, a związek B9 tylko wobec komórek LNCaP. Zarówno ligandy, jak i kompleksy nie wykazują działania cytotoksycznego na prawidłowe komórki. Daje to szansę na dalszą modyfikację pochodnych tiosemikarbazyny.

## COPPER(II) COMPLEX OF 1-PYRIDINEACETYL 4-SUBSTITUTED THIOSEMICARBAZIDE DERIVATVES WITH ANTICANCER ACTIVITY

MONIKA PITUCHA<sup>1</sup>, AGNIESZKA CZYLKOWSKA<sup>2</sup>, AGNIESZKA KORG-PLEWKO<sup>3</sup>, EVELINA HUMENIUK<sup>3</sup>, BARTŁOMIEJ ROGALEWICZ<sup>2</sup>, GRZEGORZ ADAMCZUK<sup>3</sup>, PAWEŁ KOZYRA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Independent Radiopharmacy Unit, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Institute of General and Ecological Chemistry, Faculty of Chemistry, Lodz University of Technology, 90-924 Łódź, Poland

<sup>3</sup> Independent Medical Biology Unit, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland

Thiosemicarbazide derivatives are extensively studied for their biological activity. Compounds with the thiosemicarbazide system show a diverse biological profile. In this study we designed and synthesized 2-, 3-, 4-pyridinacetyl-4-substituted thiosemicarbazide derivatives as organic ligands with potential anticancer activity. Next, these compounds were used to form metal complexes in a single-step reaction with copper (II) chloride in methanol/ethanol mixture (v/v=1:1) used as a solvent. Resulting precipitates were later dried and their physicochemical properties were characterized using appropriate analytical techniques, including thermogravimetric analysis (TG-DTG) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). In the next step, biological activity of the compounds was studied. Both the ligands and the Cu (II) complexes were tested on three human melanoma lines, three human prostate cancer lines and the normal human fibroblast line. From the group of ligands, compounds B3, B5 and B9 showed a weak cytotoxic effect on all three melanoma lines. In the group of complex compounds, substances marked as B1Cu, B10Cu and B11Cu showed toxic activity only against the human melanoma cell line G361. When tested on prostate cancer lines, only B1Cu showed toxicity to all lines, and compound B9 only to LNCaP cells. Both ligands and complexes show no cytotoxic effect on normal cells. This offers a chance for further modification of thiosemicarbazide derivatives.

## ANTYBAKTERYJNE DZIAŁANIE IZOTIOCYJANIANÓW PRZECIWKO *SHIGELLA DYSENTERIAE*

AGNIESZKA SZALEWSKA-PAŁASZ, KLAUDYNA KRAUSE, MONIKA KARCZEWSKA, KRYSZYNA BOGUĆKA, DARIUSZ NOWICKI

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii, Gdańsk

Izotiocyjaniany, wtórne metabolity roślin z rodziny Brassicaceae, są szeroko obecne w naszej codziennej diecie. Te związki siarkoorganiczne są znane ze swoich korzyści zdrowotnych, zwłaszcza działania chemoprewencyjnego i przeciwutleniającego. Ostatnio, zostały opisane właściwości przeciwbakteryjne izotiocyjanianów (ITC) wobec enterokrwotocznych *Escherichia coli* i innych bakterii chorobotwórczych. W tej pracy skupiliśmy się na działaniu przeciw szigelozom dwóch przedstawicieli ITC, sulforafanu (SFN) i fenetylu ITC (PEITC). Rodzaj *Shigella* stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego z powodu zapalenia żołądka i jelit wywołwanego u ludzi. *S. dysenteriae* typu 1 wytwarza silną toksynę Stx, która powoduje cięższe objawy i poważne powikłania, w tym zespół hemolityczno-mocznicowy. Przedstawiamy tutaj dowody na działanie przeciwbakteryjne dwóch alifatycznych i aromatycznych pochodnych ITC, SFN i PEITC, przeciwko *S. dysenteriae*. Co ważne, te ITC również negatywnie regulują ekspresję genu *stx*. Mechanizm molekularny leżący u podstaw tego efektu obejmuje indukcję odpowiedzi ścisłej i akumulację jego alarmonów, tetra- i pentafosforanu guanozyny. Zaobserwowaliśmy również hamowanie wirulencji bakterii przeciwko komórkom Vero i HeLa przez testowane ITC. Warto zauważyć, że ITC wykazuje działanie terapeutyczne przeciwko zakażeniu *S. dysenteriae* w modelu zwierzęcym, larw *Galleria mellonella*. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy wskazują, że izotiocyjaniany mogą być skutecznie wykorzystywane w terapii poważnych infekcji bakteryjnych

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DIETARY ISOTHIOCYANATES AGAINST *SHIGELLA DYSENTERIAE*

AGNIESZKA SZALEWSKA-PAŁASZ, KLAUDYNA KRAUSE, MONIKA KARCZEWSKA, KRYSZYNA BOGUĆKA, DARIUSZ NOWICKI

University of Gdańsk, Faculty of Biology, Department of Bacterial Molecular Genetics, Gdańsk

Isothiocyanates, the secondary metabolites from Brassicaceae family plants are widely present in our daily diet. These organosulfur compounds are known of their health benefits, especially chemopreventive or antioxidative effects. Recently, antibacterial properties of isothiocyanates (ITC) against enterohemorrhagic *Escherichia coli* and other pathogenic bacteria been reported. In this work we focused on the anti-shigellosis activity of two representatives of ITCs, sulforaphane (SFN) and phenethyl ITC (PEITC). The *Shigella* genus constitutes a serious threat to the public health because of the gastroenteritis caused in humans. *S. dysenteriae* type 1 produces a potent Stx toxin which results in more severe symptoms and serious complications, including the hemolytic uremic syndrome. We present here the evidence of the antibacterial potency of two aliphatic and aromatic ITCs derivatives, SFN and PEITC, against *S. dysenteriae*. Importantly, these ITC also negatively regulate the *stx* gene expression. The molecular mechanism underlying this effect involves induction of the global stress stringent response and accumulation of its alarmones, guanosine tetra- and pentaphosphate. We observed also the inhibition of bacterial virulence against the Vero and HeLa cells by tested ITCs. Notably, ITC exhibit the therapeutic effect against a *S. dysenteriae* infection in the *Galleria mellonella* larvae model. Therefore, the results presented in this work indicate that isothiocyanates can be effectively used in the therapy of serious bacterial infections.



## PROFILOWANIE INTERAKCJI LIGAZ UBIKWITYNY W OPARCIU O CZUŁĄ TECHNIKĘ KOMPLEMENTACJI FRAGMENTÓW BIAŁKA

NATALIA ŁAZAREWICZ<sup>1,2</sup>, EWA BŁASZCZAK<sup>1\*</sup>, GAËLLE LE DEZ<sup>2</sup>, ROBERT WYSOCKI<sup>1</sup>, GWENAËL RABUT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Genetyki i Fizjologii Komórki, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, 50-328 Wrocław

<sup>2</sup>Instytut Genetyki i Biologii Rozwoju w Rennes (IGDR), CNRS UMR 6290, Uniwersytet Rennes 1, 35000 Rennes, Francja

\*autor prezentujący

Ubikwitynacja jest post-translacyjną modyfikacją białek, która odgrywa istotną rolę w regulacji licznych procesów biologicznych. Zaburzenia w tym mechanizmie kontrolnym są związane z wieloma chorobami, w tym nowotworowymi, neurodegeneracyjnymi, metabolicznymi, genetycznymi oraz niektórymi infekcjami wirusowymi. Proces ubikwitynacji obejmuje kaskadę reakcji enzymatycznych katalizowanych przez szereg enzymów, a mianowicie enzymy aktywujące ubikwitynę (E1), enzymy koniugujące ubikwitynę (E2) i ligazy ubikwityny (E3), które wzajemnie ze sobą oddziałują. Wśród nich ligazy ubikwityny pośredniczą w przenoszeniu ubikwityny z określonego enzymu koniugującego E2 do białek substratowych, wyznaczając specyficzność procesu ubikwitynacji. Nadal niewiele wiadomo na temat mechanizmów molekularnych i dokładnych funkcji biologicznych wielu ligaz ubikwityny. E2, z którymi oddziałują poszczególne ligazy są wciąż nieznane, a ich substraty nie zostały jeszcze zidentyfikowane. Przy pomocy nowoczesnego testu komplementacji fragmentów białek, tzw. techniki NanoBiT® wykryto interakcje E2-E3 oraz E3-substrat, a także zbadano interakcje niektórych białek regulatorowych, m.in. białka Cdc53, strukturalnej podjednostki kompleksu Skp1/Cul1/F-box (SCF) biorącego udział w regulacji cyklu komórkowego. Zidentyfikowano nowe potencjalne interakcje białko-białko, jak również potwierdzono te wcześniej wykryte. Wiedza na temat funkcji i regulacji ligaz ubikwityny jest przesłanką do opracowania nowych celów terapeutycznych ukierunkowanych na określone E3. Przedstawione zostaną bieżące wyniki badań.

Badania sfinansowano z grantów Narodowego Centrum Nauki (NCN) nr 2016/21/D/NZ1/00285 (E.B.) oraz 2021/41/N/NZ2/00551 (N.L.).

## INTERACTION PROFILING OF UBIQUITIN LIGASES USING A SENSITIVE PROTEIN COMPLEMENTATION ASSAY

NATALIA ŁAZAREWICZ<sup>1,2</sup>, EWA BŁASZCZAK<sup>1\*</sup>, GAËLLE LE DEZ<sup>2</sup>, ROBERT WYSOCKI<sup>1</sup>, GWENAËL RABUT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Genetics and Cell Physiology, Faculty of Biological Sciences, University of Wrocław, 50-328, Wrocław, Poland

<sup>2</sup>Institute of Genetics and Development of Rennes, CNRS UMR 6290, University of Rennes 1, 35000, Rennes, France

\*presenting author

Ubiquitylation is a post-translational modification involved in a myriad of biological processes. Defects in this control mechanism are associated with various diseases, including cancer, neurodegenerative or metabolic disorders, genetic diseases and some viral infections. The ubiquitylation process involves a cascade of enzymatic reactions catalyzed by a variety of enzymes, namely ubiquitin-activating enzyme(s) (E1), ubiquitin-conjugating enzymes (E2) and ubiquitin ligases (E3), interacting with each other. Among them, E3s mediate the transfer of ubiquitin from a particular E2 ubiquitin-conjugating enzyme to specific substrate proteins, determining the specificity in the ubiquitylation process. However, very little is known about the exact mode of action and molecular functions of many of them. The E2s that particular ligases are interacting with are still unknown and their ubiquitylation substrates have not been yet identified. We are addressing these issues via a modern protein-fragment complementation assay, the so-called NanoBiT<sup>®</sup> technique. Using this assay, we were able to detect E2-E3 and E3-substrate interactions as well as to study the interactome of some of the regulatory proteins, e.g. interactome partners of Cdc53 protein, a structural subunit of Skp1/Cul1/F-box (SCF) complexes involved in the cell cycle regulation. We can specifically detect both the interacting partners as well as new potential interactors. Our increased understanding of ubiquitin ligase function and regulation is a rationale for developing E3-targeting therapeutics for the treatment of human diseases. Ongoing results will be presented.

This work is supported by the National Science Centre (Poland) grant no. 2016/21/D/NZ1/00285 (to E.B.) and the National Science Centre (Poland) grant no. 2021/41/N/NZ2/00551 (to N.L.).

## REGULACJA EKSPRESJI ICAM-1 PRZEZ HODOWLĘ 3D I INDUKCJĘ CSC W MODELU RAKA NERKI *IN VITRO*

KLAUDIA BRODACZEWSKA<sup>1</sup>, DAMIAN MATAK<sup>1</sup>, ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1,2</sup>, ALEKSANDRA FILIPIAK<sup>1,2</sup>, CEZARY SZCZYLIK<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Molecular Oncology, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland

<sup>2</sup> Postgraduate School of Molecular Medicine (SMM), Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

<sup>3</sup> Department of Oncology, Centre of Postgraduate Medical Education, European Health Centre, Otwock, Poland

**Wprowadzenie:** Wysoka ekspresja białka ICAM1 jest złym czynnikiem prognostycznym w raku nerkowokomórkowym (RCC). Jego rola w progresji RCC nie została jeszcze wyjaśniona, jednak wykazano, niektóre czynniki zwiększają jego ekspresję: cytokiny prozapalne, leczenie antyangiogenne, hipoksja. Celem pracy była ocena, czy hodowla sferoidalna wpływa na ekspresję ICAM1 i czy związane jest to z indukcją CSC, ważnych dla procesu przerzutowania.

**Metody:** Linie komórkowe RCC hodowano w monowarstwie lub wiszącej kropli (HD). Komórki analizowano za pomocą FACS, qPCR i Western blot. Aby zablokować ICAM1, do zawiesiny komórek przed utworzeniem sferoidu dodawano przeciwciała anti-ICAM1 lub izotypowe. Do testu adhezji sferoidy rozpuszczano, komórki adherowano do powierzchni TC, komórki śródbłónka (EC) dodawano na 2 godziny, a następnie analizowano.

**Wyniki:** Hodowla komórek w wiszącej kropli zwiększa ekspresję ICAM1 w komórkach RCC. Komórki w HD tworzyły ciasne sferoidy z martwymi komórkami w środku o wysokiej ekspresji genów związanych z hipoksją (hifla i vegf). Pomimo wysokiego ICAM1, ECs przylegały słabiej do komórek HD niż do komórek z monowarstwy. Komórki w HD również proliferowały wolniej i charakteryzowały się niższą ekspresją Ki67 oraz wyższym odsetkiem komórek w fazie G0/1. Może to oznaczać indukcję CSC; niektóre markery macierzystości były zwiększone: snail, nestin, ale nie oct4 i alpl. Blokada ICAM1 podczas tworzenia sferoid ograniczała indukcję ekspresji snail i hifl.

**Wnioski:** Komórki hodowane w modelu 3D wykazywały indukcję na markerach typu CSC i ekspresję ICAM1. Blokada tego białka ograniczała indukcję niektórych markerów CSC, co sugeruje interakcję tych szlaków. Pomimo wysokiego poziomu ICAM1, EC słabiej przylegały do komórek hodowanych w HD, co sugeruje ograniczoną infiltrację komórek zrębu.

Badania finansowano z projektów MEiN SPUB/9048 oraz NCN UMO-2014/15/N/NZ5/00056.

## REGULATION OF ICAM-1 EXPRESSION BY SPHEROID CULTURE AND CSC INDUCTION IN *IN VITRO* RCC MODEL

KLAUDIA BRODACZEWSKA<sup>1</sup>, DAMIAN MATAK<sup>1</sup>, ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1,2</sup>, ALEKSANDRA FILIPIAK<sup>1,2</sup>, CEZARY SZCZYLIK<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Molecular Oncology, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland

<sup>2</sup> Postgraduate School of Molecular Medicine (SMM), Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

<sup>3</sup> Department of Oncology, Centre of Postgraduate Medical Education, European Health Centre, Otwock, Poland

**Introduction:** High ICAM1 protein expression have been shown a poor prognostic factor in renal cell carcinoma (RCC). Its role in RCC progression has not been elucidated yet, however several stimuli have been shown to up-regulate its expression: proinflammatory cytokines, antiangiogenic treatment, hypoxia. Aim of the study was to evaluate if spheroid culture affects ICAM1 expression and if it corresponds with CSC-like phenotype, an important phenomenon for cancer metastasis.

**Methods:** RCC cell lines were cultured in monolayer or hanging drop (HD). Cells were harvested for FACS, qPCR and Western blot analyses. For blocking, anti-ICAM1 or isotype antibody was added to cell suspension before spheroid formation. For adhesion test, spheroids were dissolved, cells adhered to TC surface, endothelial cells (ECs) were added for 2 h and then analyzed.

**Results:** We observed that culture of cells in hanging drop spheres upregulates ICAM1 expression in RCC cells. HD cultured cells formed tight spheres with dead cells in the core and upregulation of hypoxia related genes (hif1a and vegf). Despite high ICAM1, ECs adhered weaker to HD cells than to monolayer cells. Cells in HD also proliferated slower and were characterized by lower expression of Ki67 and higher percentage of cells in G0/1 phase. This could signify that CSCs were induced; indeed some stemness markers were upregulated: snail, nestin but not oct4 and alpl. Blockade of ICAM1 during spheroid formation limited the snail and hif1 expression induction.

**Conclusion:** Cells cultured in 3D model are characterized by induction on CSC-like markers and ICAM1 expression. Blockade of this protein limited induction of some markers of CSC suggesting interaction of these pathways. Despite high level of ICAM1, ECs adhered weaker to HD-cultured cells suggesting limited infiltration of stromal cells.

Research was funded by Ministry of Education and Science SPUB/9048 and National Science Centre project UMO-2014/15/N/NZ5/00056.

## IMMUNOMODULUJĄCY WPŁYW CHOROBY INFEKCYJNEJ DZIECKA NA SKŁAD MLEKA KOBIECEGO – BADANIA WSTĘPNE

KATARZYNA KRÓLIKOWSKA<sup>1\*</sup>, KLAUDIA PORĘBSKA<sup>2\*</sup>, AGNIESZKA GOŚCIŃSKA<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>2</sup>, MONIKA LEŚNIAK<sup>2</sup>, AGATA TOMASZEWSKA<sup>1</sup>, JACEK Z. KUBIAK<sup>2</sup>, ROBERT ZDANOWSKI<sup>2</sup>, BOLESŁAW KALICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej

<sup>2</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych

**Wstęp:** Pokarm kobiecy w pełni zaspokaja zapotrzebowanie niemowlęcia na wszystkie niezbędne składniki odżywcze. Zawartość poszczególnych składników odżywczych, dynamika składu oraz właściwości bioaktywnych zależy od czasu trwania laktacji, fazy karmienia, a nawet pory dnia. W czasie infekcji u matki istotnie wzrasta liczebność niektórych komórek układu immunologicznego w jej pokarmie, co podnosi zdolność immunologiczną dziecka do ochrony przed zakażeniami

**Cel:** Określenie wpływu infekcji dróg oddechowych u dziecka na fenotyp wybranych populacji komórek układu immunologicznego w mleku kobiecym.

**Materiały i metody:** Wykorzystano próbki mleka kobiecego pochodzące od matek 12 pacjentów hospitalizowanych z powodu infekcji dróg oddechowych, oraz matek 25 pacjentów bez cech ostrej choroby infekcyjnej (grupa kontrolna). Do obydwu grup kwalifikowano dzieci w wieku od 0 do 6 miesiąca życia. W ramach badań oznaczono za pomocą cytometru przepływowego następujące populacje komórek: limfocyty wraz z subpopulacjami, monocyty, neutrofile i eozynofile oraz wytypowane markery macierzystości (CD105, CD34, CD73+, CD326 EpCAM+) na komórkach CD45<sup>+</sup>. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie Graph-Pad Prism 9 przy użyciu testu Mann Whitney.

**Wyniki:** Zaobserwowano, że skład mleka matki może ulegać zmianie w zależności od stanu zdrowia dziecka. W mleku matek dzieci chorych zauważono wzrost odsetka populacji komórek obojętnochłonnych (neutrofilów) oraz limfocytów T o fenotypie CD3+CD8<sup>+</sup>. Odwrotną tendencję zaobserwowano w przypadku komórek CD45<sup>+</sup>. W mleku matek dzieci chorych obserwowano niższy odsetek komórek z ekspresją białek CD105 i CD34.

**Wnioski:** Obserwowane zmiany odsetka badanych populacji komórek mogą potwierdzać teorię o immunomodulującym wpływie infekcji u dziecka na skład mleka matki i mogą świadczyć o wspieraniu układu immunologicznego dziecka przez mleko matki.

*Badania finansowane przez w ramach projektu Subwencja statutowa MNiSW 2020 (Decyzja wew. nr 32/W/2020); Subwencja MEiN 2022 (Decyzja wew. WIM nr 04/W/2022) oraz przez MEiN w ramach projektu 5/491340/SPUB/SN/2021. \* równy udział*

## IMMUNOMODULATORY EFFECT OF INFECTIOUS DISEASE ON BREAST MILK COMPOSITION – PRELIMINARY STUDIES

KATARZYNA KRÓLIKOWSKA<sup>1\*</sup>, KLAUDIA PORĘBSKA<sup>2\*</sup>, AGNIESZKA GOŚCIŃSKA<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>2</sup>, MONIKA LEŚNIAK<sup>2</sup>, AGATA TOMASZEWSKA<sup>1</sup>, JACEK Z. KUBIAK<sup>2</sup>, ROBERT ZDANOWSKI<sup>2</sup>, BOLESŁAW KALICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Military Institute of Medicine, Department of Pediatrics, Pediatric Nephrology and Allergology

<sup>2</sup>Military Medical Institute, Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies

**Introduction:** Breast milk provides all essentials nutrients required for the infant. The composition of individual nutrients, its dynamics and bioactive properties depend on the duration of lactation, the phase of feeding and even time of the day. During mother's infection, the abundance of certain immune cells in the breast milk increases significantly, which enhances the infant's immune ability to protect itself against infections. Research suggests that the content of immune components in milk is influenced by the infant's health status.

**Aim:** To determine the influence of infant respiratory tract infections on the phenotype of selected immune cell populations in breast milk.

**Materials and Methods:** Breast milk samples from mothers of 12 patients hospitalized for respiratory tract infection, and mothers of 25 patients without symptoms of acute infectious disease (control group) were used. Children aged 0 to 6 months were qualified for both groups. The following cell populations were determined by flow cytometry: lymphocytes with subpopulations (monocytes, neutrophils and eosinophils) and selected stemness markers (CD105, CD34, CD73+, CD326 EpCAM+) on CD45- cells. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism 9 software using Mann-Whitney U test.

**Results:** It was observed that the composition of breast milk may change according to the health status of the child. An increase in the percentage of neutrophils and CD3+CD8+ T lymphocytes was observed in sick children's mothers milk. The opposite tendency was observed in case of CD45- cells. Moreover, a lower percentage of cells expressing CD105 and CD34 was observed.

**Conclusions:** The observed changes in the percentage of the tested cell populations may confirm the theory of the immunomodulatory effect of the child's infection on the composition of breast milk and may indicate that breast milk supports the child's immune system.

*Research funded by the MNiSW under the project Statutory Subsidy of the MEiN 2020 (Internal Decision No. 32/W/2020); Statutory Subsidy of the MEiN 2022 (Internal Decision of WIM No. 04/W/2022) and by the MEiN under the project 5/491340/SPUB/SN/2021. \* equal contribution*

## WPŁYW POLIMORFIZMU BETA- I KAPPA- KAZEINY ORAZ BETA-LAKTOGLOBULINY NA ODPOWIEŹ IMMUNOLOGICZNĄ LIMFOCYTÓW W MYSIM MODELU ALERGII POKARMOWEJ – BADANIA EX VIVO

LIDIA MARKIEWICZ<sup>1</sup>, TADEUSZ ZABOLEWICZ<sup>2</sup>, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA<sup>1</sup>, ANNA OGRODOWCZYK<sup>1</sup>, KAMIL OLEŃSKI<sup>2</sup>, EWA WASILEWSKA<sup>1</sup>, JOANNA FOTSCHKI<sup>1</sup>, STANISŁAW KAMIŃSKI<sup>2</sup>, BARBARA WRÓBLEWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań żywności Polskiej Akademii Nauk, Zakład Immunologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn

<sup>2</sup> Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Genetyki Zwierząt, ul. Oczańskiego 5, 10-719 Olsztyn

Białka mleka są bioaktywnymi składnikami diety dzieci i dorosłych. Analiza różnych wariantów białek kazeinowych i serwatkowych *in silico* i *in vitro* wykazała, że obserwowane różnice w sekwencji aminokwasowej mogą zmieniać podatność mleka na trawienie żołądkowo-jelitowe. Skutkuje to zmianą w profilu uwalnianych peptydów i dostępności epitopów zdolnych do wiązania się z przeciwciałami klasy E. Celem badań była ocena immunogennych właściwości wariantów białek mleka w aspekcie alergii pokarmowej.

W badaniach wykorzystano mleko krów o ustalonym genotypie beta-kazeiny, kappa-kazeiny oraz beta-laktoglobuliny w układach: A1A1/AA/AA (mleko HM1), A2A2/BB/BB (mleko HM2), A1A1/AE/AB (mleko HT1) oraz A1A1/BE/AB (mleko HT2) oraz mleko kontrolne (A1A2/AB/AB, mleko CTRL). Mleka poddano symulowanemu trawieniu żołądkowo-jelitowemu, a uzyskanymi hydrolizatami stymulowano *ex vivo* limfocyty pobrane ze śledzion myszy Balb/C nieuczulanych (naive, limfocyty nieuważliwione, LN) lub uczulonych na białka mleka (limfocyty uwrażliwione, LU).

Uzyskane wyniki analiz cytometrycznych i molekularnych wykazały, że mleka HT1 i HT2 silnie zwiększały sekrecję TNF $\alpha$  i IL-6 przez LU ( $p < 0,001$ ), natomiast mleka HM1, HM2 i CTRL czyniły to w mniejszym, choć istotnym stopniu ( $p < 0,05$ ). Limfocyty LN odpowiadały zwiększonym wydzielaniem TNF $\alpha$  wobec wszystkich badanych hydrolizatów mleka ( $p < 0,01$ ). Spośród badanych wariantów mleka, jedynie HM1 nie zwiększało wydzielania IL-4 przez LU i LN, a żadne nie wpływało na poziom IL-2, IL-17A oraz IL-10. Bez względu na wariant badanego mleka, w populacji stymulowanych limfocytów dominowała subpopulacja CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, ale tylko limfocyty LU stymulowane HT1 indukowały zwiększony poziom limfocytów regulatorowych (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>). Podsumowując, stwierdzono, że mleko HM1 jest najkorzystniejsze spośród badanych, ponieważ nie inicjuje odpowiedzi zapalnej zależnej od IL-4, charakterystycznej dla reakcji alergicznej.



## EFFECT OF BETA- AND CAPPA-CASEIN AND BETA-LACTOGLOBULIN POLYMORPHISM ON THE IMMUNOLOGICAL RESPONSE OF LYMPHOCYTES IN THE MOUSE MODEL OF FOOD ALLERGY – EX VIVO STUDY

LIDIA MARKIEWICZ<sup>1</sup>, TADEUSZ ZABOLEWICZ<sup>2</sup>, DAGMARA ŻŁOTKOWSKA<sup>1</sup>, ANNA OGRODOW-CZYK<sup>1</sup>, KAMIL OLEŃSKI<sup>2</sup>, EWA WASILEWSKA<sup>1</sup>, JOANNA FOTSCHKI<sup>1</sup>, STANISŁAW KAMIŃSKI<sup>2</sup>, BARBARA WRÓBLEWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Animal Reproduction and Food Research Polish Academy of Sciences, Department of Immunology and Food Microbiology, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn

<sup>2</sup> Warmia and Mazury University, Faculty of Animal Bioengineering, Department of Animal Genetics, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Milk proteins are bioactive components in diets of children and adults. *In silico* and *in vitro* analysis of casein and whey protein variants showed that observed differences in the amino acid sequence may alter the susceptibility of milk to gastrointestinal digestion. This results in a change in the profile of released peptides and their availability of epitopes capable of binding to class E antibodies. The aim of the study was to assess the immunogenic properties of milk protein variants in the aspect of food allergy.

The studies used cows' milk with a predetermined genotype of beta-casein, kappa-casein, and beta-lactoglobulin in the following systems: A1A1/AA/AA (HM1 milk), A2A2/BB/BB (HM2 milk), A1A1/AE/AB (HT1 milk) and A1A1/BE/AB (HT2 milk), and control milk (A1A2/AB/AB, CTRL milk). The milk was subjected to simulated gastrointestinal digestion, and the obtained hydrolysates were used to stimulate *ex vivo* lymphocytes isolated from the spleens of non-sensitized Balb/C mice (naive, non-sensitized lymphocytes, LN) or mice sensitized to milk proteins (sensitized lymphocytes, LU).

Results obtained with cytometric and molecular methods showed that HT1 and HT2 milk strongly increased the secretion of TNF $\alpha$  and IL-6 by LU ( $p < 0.001$ ), while HM1, HM2 and CTRL milk did it to a lesser but significant extent ( $p < 0.05$ ). LN lymphocytes responded with increased TNF $\alpha$  secretion compared to all tested milk hydrolysates ( $p < 0.01$ ). Among the tested milk variants, only HM1 did not increase IL-4 secretion by LU and LN, and none influenced the level of IL-2, IL-17A, and IL-10. Regardless of the tested milk variant, the CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> subpopulation was dominant in populations of stimulated lymphocytes, but only HT1-stimulated LU induced the increased levels of regulatory lymphocytes (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>). In conclusion, it was found that HM1 milk is the most beneficial as it does not initiate an IL-4-dependent inflammatory response characteristic of an allergic reaction.



## INDUKCJA APOPTOZY W LUDZKICH ZDROWYCH I NOWOTWOROWYCH KOLONOCYTACH POD WPŁYWEM METABOLITÓW MIKROBIOTY JELITOWEJ

LIDIA MARKIEWICZ, ANNA OGRODOWCZYK, BARBARA WRÓBLEWSKA

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, Zakład Immunologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn

Złe nawyki żywieniowe i niska aktywność fizyczna stanowią istotny czynnik ryzyka rozwoju chorób dietozależnych, w których przebiegu obserwowana jest dysbioza jelitowa. Mikrobiota jelitowa oraz produkowane przez nią metabolity stanowią ważny czynnik regulujący funkcjonowanie nabłonka jelitowego oraz całego organizmu. Głównymi metabolitami bakterierynymi są produkty fermentacji węglowodanów – krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA): octowy (AC), propionowy (PA) oraz masłowy (BA). Ponadto bakterie mają zdolność modyfikacji (dekoniugacji) kwasów żółciowych zwiększając stężenie wtórnych kwasów żółciowych (SBA): deoksycholowego (DCA) oraz lithocholowego (LTA).

Celem badań było zbadanie *in vitro* wpływu wymienionych metabolitów bakterierynych na indukcję apoptozy w kolonocytach nowotworowych (linie HT-29 oraz HCT116; ATCC) oraz zdrowych (linia NCM460D na licencji INCELL Corp.). Zbadano wpływ niskiego oraz wysokiego stężenia pojedynczych SCFA i SBA na udział apoptotycznych komórek w populacji ludzkich kolonocytów po 24-godzinnej inkubacji z badanymi czynnikami. Apoptozę oceniano cytometrycznie na podstawie obecności aneksyny V na powierzchni komórek (Dead Cell Apoptosis Kits with Annexin V, ThermoFisher Scientific), a wyniki przedstawiono jako udział procentowy komórek apoptotycznych w populacji wszystkich komórek (%AP). SCFA w niskich stężeniach (0,5 mM BU, 0,5 mM AC, 1 mM PA) nie wpływały na %AP linii nowotworowych HT-29 oraz HCT116, natomiast w zdrowych kolonocytach 0,5 mM PA istotnie ( $p < 0,05$ ) zwiększyło %AP. Spośród SCFA w wysokich stężeniach (2,0 mM BU, 20 mM AC, 20 mM PA) tylko PA istotnie zwiększał udział komórek apoptotycznych w obu liniach nowotworowych ( $p < 0,05$ ), natomiast 2,0 mM BU – w linii NCM460D. SBA (50 i 100  $\mu$ M LTA, 50 i 100  $\mu$ M DCA) nie wpływały na %AP komórek linii HT-29 i HCT116, natomiast istotnie ( $p < 0,05$ ) zwiększały %AP w hodowli NCM460D. Uzyskane wyniki wskazują na zróżnicowaną wrażliwość zdrowych i nowotworowych kolonocytów na indukcję apoptozy przez metabolity mikrobioty jelitowej, co może mieć znaczenie w funkcjonowaniu nabłonka jelitowego u osób stosujących dietę bogatą w błonnik (substrat do produkcji SCFA) lub wysokotłuszczowej (zwiększającej wydzielanie soli żółciowych do światła jelita).

## INDUCTION OF APOPTOSIS IN HUMAN HEALTHY AND CANCER COLONOCYTES TREATED WITH GUT MICROBIOTA METABOLITES

LIDIA MARKIEWICZ, ANNA OGRODOWCZYK, BARBARA WRÓBLEWSKA

Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Tuwima 10, 10-748 Olsztyn, Poland

Improper eating habits and low physical activity are a significant risk factor for the development of diet-related diseases in which intestinal dysbiosis is observed. The intestinal microbiota and its metabolites are an important factor regulating the functioning of the intestinal epithelium and the entire organism. The main bacterial metabolites are carbohydrate fermentation products – short-chain fatty acids (SCFA): acetic (AC), propionic (PA) and butyric (BA). In addition, bacteria have the ability to modify (deconjugate) bile acids by increasing the concentration of secondary bile acids (SBA): deoxycholic (DCA) and lithocholic (LTA).

The aim of the study was to investigate in vitro the effect of the above-mentioned bacterial metabolites on the induction of apoptosis in neoplastic (HT-29 and HCT116; ATCC lines) and healthy (NCM460D line under INCELL Corp. license). The influence of low and high concentration of single SCFA and SBA on the share of apoptotic cells in the population of human colonocytes after 24-hour incubation with the tested agents was investigated. Apoptosis was assessed cytometrically by the presence of Annexin V on the cell surface (Dead Cell Apoptosis Kits with Annexin V, ThermoFisher Scientific) and results are presented as the percentage of apoptotic cells in the total cell population (%AP). SCFAs at low concentrations (0.5 mM BU, 0.5 mM AC, 1 mM PA) did not affect the %AP of HT-29 and HCT116 cancer cell lines, while in healthy colonocytes 0.5 mM PA significantly ( $p < 0.05$ ) increased the %AP. Among SCFA applied at high doses (2.0 mM BU, 20 mM AC, 20 mM PA) only PA significantly increased the proportion of apoptotic cells in both cancer lines ( $p < 0.05$ ), and 2.0 mM BU – in the NCM460D line. Secondary bile acids (50 and 100  $\mu$ M LTA, 50 and 100  $\mu$ M DCA) did not affect the %AP of HT-29 and HCT116 cells, while significantly ( $p < 0.05$ ) increased the %AP in NCM460D culture.

The obtained results indicate a different sensitivity of healthy and cancer colonocytes to the induction of apoptosis by metabolites of the intestinal microbiota, which may be important in the functioning of the intestinal epithelium in people on a diet rich in fiber (a substrate for SCFA production) or high-fat (increasing the secretion of bile salts into the intestinal lumen).

## PREBIOTYCZNY EFEKT $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-OLIGOSACHARYDÓW NA MIKROBIOTĘ JELITOWĄ MYSZY

EWA SAJNAGA<sup>1</sup>, KATARZYNA SOCAŁA<sup>2</sup>, AGNIESZKA KALWASIŃSKA<sup>3</sup>, PIOTR WŁAŻ<sup>2</sup>, ADRIAN WIATER<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biomedycyny i Badań Środowiskowych, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin;

<sup>2</sup>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Farmakologii, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin;

<sup>3</sup>Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej i Biotechnologii, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń;

<sup>4</sup>Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin.

W poprzednich badaniach dowiedziono, że  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-glukoooligosacharydy (GOS), będące produktem kwaśnej hydrolizy  $\alpha$ -glukanu pochodzącego z grzyba *Laetiporus sulphureus*, selektywnie stymulują wzrost szczepów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, w przeciwieństwie do *Escherichia coli* i *Enterococcus faecalis*. W celu weryfikacji potencjału prebiotycznego tych związków przeprowadzono doświadczenie, w którym zbadano wpływ GOS na mikrobiotę bakteryjną jelita muszy. Myszy były podzielone na 3 grupy eksperymentalne: suplementowane GOS, suplementowane glukozą i bez suplementacji. Dwie ostatnie grupy myszy stanowiły kontrole. Doświadczenie trwało 21 dni, przy czym próbki zbierano w czasie 0 oraz po 1 i 3 tygodniach suplementacji. Zmiany składu mikrobioty jelitowej określano na podstawie wyników sekwencjonowania w technologii Illumina genu kodującego 16S rRNA, pochodzącego z DNA wyizolowanego z próbek kału myszy. Najwięcej zmian w liczebności bakterii na poziomie rodzajów zaobserwowano po 1 tygodniu między grupami myszy suplementowanych GOS i myszy nie poddawanych suplementacji, aczkolwiek zmiany po 3 tygodniach były nadal znaczące. Dodatkowo, porównując mikrobiom bakteryjny jelita myszy suplementowanych GOS w czasie 0 i po 3 tygodniach, stwierdzono, m.in. znaczący wzrost liczebności *Prevotella* i spadek *Escherichia-Schigella*. Podsumowując, przeprowadzone doświadczenie potwierdziło, że podawanie GOS w krótkim czasie wywołuje selektywne zmiany w składzie mikrobioty jelitowej myszy w kierunku potencjalnie korzystnym dla zdrowia, przy czym jednak zaobserwowane zmiany są w dużym stopniu osobniczo specyficzne.

## PREBIOTIC EFFECT OF $\alpha$ -(1→3)-OLIGOSACCHARIDES ON MURINE GUT MICROBIOTA

EWA SAJNAGA<sup>1</sup>, KATARZYNA SOCAŁA<sup>2</sup>, AGNIESZKA KALWASIŃSKA<sup>3</sup>, PIOTR WLAŻ<sup>2</sup>, ADRIAN WIATER<sup>4</sup>

<sup>1</sup> John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Biomedicine and Environmental Research, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin;

<sup>2</sup> Maria Curie-Skłodowska University, Faculty Biology and Biotechnology, Department of Physiology and Pharmacology, Akademicka 19, 20-033 Lublin;

<sup>3</sup> Nicolaus Copernicus University in Torun, Faculty of Biological and Veterinary Sciences; Department of Environmental Biology and Biotechnology, Lwowska 1, 87-100 Toruń;

<sup>4</sup> Maria Curie-Skłodowska University, Faculty Biology and Biotechnology, Department of Industrial and Environmental Microbiology, Akademicka 19, 20-033 Lublin.

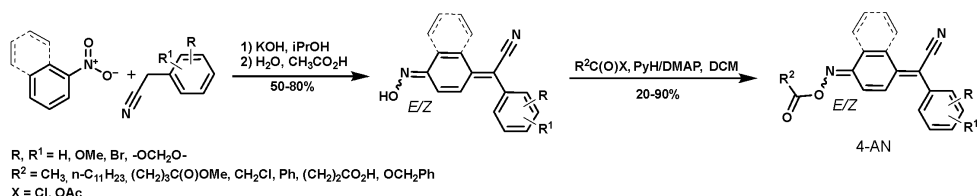
It was previously shown that  $\alpha$ -(1→3)-glucooligosaccharide (GOS), i.e. a product of fungal  $\alpha$ -glucan hydrolysis, is capable of selective stimulation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains, but not *Escherichia coli* or *Enterococcus faecalis*. To test its prebiotic functionality, we assessed the effect of GOS on the murine gut microbiota. Mice were fed with a GOS-supplemented diet and two control diets (with and without glucose addition) for 21 days, and fecal samples were collected at 0, 1, and 3-week time points. Changes in the bacterial community composition were measured by 16S rRNA gene Illumina sequencing. The biggest number of genus abundance shifts after 1 week of the treatment was noticed between the group of the GOS-fed mice and the non-treated control, however after the 3-week treatment, the differences in the OTU abundance between these groups were still relevant. The differences between the gut microbiota of the 3-week GOS-fed mice, compared to these prior to the intervention, were driven by the higher abundance of *Prevotella* spp., with a concomitant decrease in the abundance of *Escherichia-Shigella* among others. Overall, this study demonstrates that the candidate for new prebiotics, i.e. fungal  $\alpha$ -(1-3)-GOS, can significantly alter the gut microbiota in mice within a short time, however a high intra-individual pattern of response was apparent.

## AKTYWNOŚĆ NOWYCH POCHODNYCH 4-AN WOBEC *CANDIDA ALBICANS*

MONIKA JANECKO, ALEKSANDRA MARTYNA, ANTONINA KUROWSKA, MACIEJ MASŁYK, KONRAD KUBIŃSKI, OLEG M. DEMCHUK

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II w Lublinie, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych

Ostatnio nowe właściwości cząsteczki oksymu 4-AN, wykazującego silne działanie anty-Candida poprzez zmniejszenie względnej ekspresji genów determinujących zjadliwość grzybów, zostały zaprezentowane [1]. Aktualnie przedstawiamy serię nowych pochodnych 4-AN wykazujących silne działanie przeciwgrzybicze [2]. Synteza mieszaniny stereometrów E/Z pożądaných pochodnych przeprowadzona w klasycznym podejściu z następującą reakcją acylowania cechowała się dobrą wydajnością.



Przeprowadzone testy antybiogramowe wykazały, że pochodne 4-AN hamują wzrost wszystkich badanych bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych z umiarkowaną wartością MIC 125-250 µg/ml, a ich zastosowanie przeciwko szczepom *Candida* spowodowało zahamowanie wzrostu komórek w stężeniach powyżej 2 µg/ml oraz spowodowało zahamowanie tworzenia grzybni i powstawanie tudzież dojrzewanie błon biologicznych komórek *C.albicans*. W przygotowanej serii pochodnych wprowadzone grupy funkcyjne zostały dobrane tak, aby obejmowały one podstawowy zakres polarności: krótko- i długołańcuchowe jednostki alkilowe, aromatyczne, estrowe i węglanowe podstawniki. Stwierdziliśmy istotny wpływ naszych pochodnych na izolaty kandydozy sromu i pochwy *C.albicans* w stężeniach od 2 µg/ml do 256 µg/ml. Związki testowane na normalnych komórkach ludzkich, wykazały niską toksyczność. Uzyskane wyniki pozwalają na uznanie niektórych pochodnych za potencjalnych kandydatów na lek.

### Literatura:

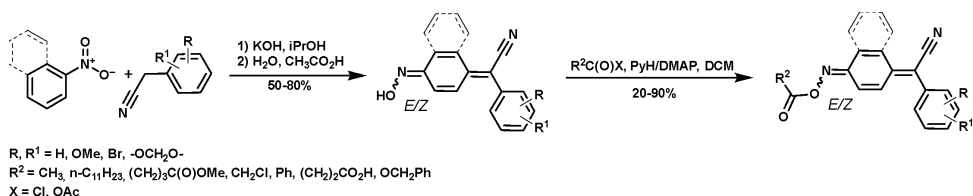
- [1] Martyna, A., Masłyk, M., Janeczko, M., Kochanowicz, E., Gielniewski, B., Świercz, A., Demchuk, O.M., Kubiński, K., 2020. *Molecules* 25, 2928.
- [2] Z wdzięcznością przyjmujemy wsparcie finansowe z grantu Narodowego Centrum Nauki UMO-2019/33/B/NZ7/01608.

## ACTIVITY OF NEW 4-AN DERIVATIVE AGAINST CANDIDA ALBICANS

MONIKA JANECKO, ALEKSANDRA MARTYNA, ANTONINA KUROWSKA, MACIEJ MASŁYK, KONRAD KUBIŃSKI, OLEG M. DEMCHUK

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Institute of Biological Sciences

Recently new properties of the oxime molecule 4-AN (4-(hydroxyimino)-cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene](phenyl)ethanenitrile), which has a strong anti-*Candida* activity by reducing the relative expression of genes that determine virulence of fungi, were presented [1]. Herein we present a series of new 4-AN derivatives showing strong antifungal activity [2]. Synthesis of compounds by the classical approach followed by an acylation reaction yielded a mixture of E/Z stereoisomers of the desired derivatives in good yield.



The performed antibiogram tests showed that derivatives of 4-AN inhibited the growth of all tested gram-positive and gram-negative bacteria with a moderate MIC value of 125-250  $\mu g / ml$ , and their usage against *Candida* strains resulted in inhibition of cell growth at concentrations up to 2  $\mu g / ml$ . Moreover, mycelium formation was inhibited at MIC / 16 and the formation and maturation of biological membranes of *C. albicans* cells was also inhibited. In the prepared series of derivatives, the introduced functional groups were selected to cover the basic polarity spectrum: short- and long-chain alkyl, aromatic, ester and carbonate units were incorporated into the 4-AN structure. We found a significant effect on vulvovaginal candidiasis 50 *C. albicans* isolates with a MIC ranging from 2  $\mu g / ml$  to 256  $\mu g / ml$ . Next, the compounds were tested on a normal human cell. Experiments show that the compounds have a low toxicity, what in combination with significant antifungal activity, allow to consider them as potential drug candidates.

### References:

- [1] Martyna, A., Masłyk, M., Janeczko, M., Kochanowicz, E., Gielniewski, B., Świercz, A., Demchuk, O.M., Kubiński, K., 2020. *Molecules* 25, 2928.
- [2] The financial support from the Polish National Science Centre grant UMO- 2019/33/B/NZ7/01608 is gratefully acknowledged.

## HYDROŻELE NA BAZIE ALANINY ZAWIERAJĄCE NANOCZĄSTECZKI ZŁOTA I SREBRA JAKO POTENCJALNE NOŚNIKI LEKÓW

OLEG M. DEMCHUK<sup>1</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>, KAMILA GÓRKA<sup>1</sup>, MONIKA JANECZKO<sup>1</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, MATEUSZ KWAŚNIK<sup>1</sup>, MARIUSZ BORKOWSKI<sup>2</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>3</sup>, JOANNA KOWALCZUK<sup>4</sup>, ELŻBIETA STOLARCZYK<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Lublin, Polska

<sup>2</sup> Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera, Polska Akademia Nauk, Kraków, Polska

<sup>3</sup> Katedra Chemii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

<sup>4</sup> Instytut Fizyki Molekularnej, Polska Akademia Nauk, Poznań, Polska

<sup>5</sup> Instytut Chemii Przemysłowej, Sieć Badawcza Łukasiewicz, Warszawa, Polska

W obecnych czasach nanocząsteczki (NPs) są popularnym i obiecującym tematem badań medycznych. Główną uwagę skupiają nanocząsteczki srebra (AgNPs) i złota (AuNPs). Interesującym kierunkiem wykorzystania NPs w medycynie jest ich użycie jako nanoleków bądź systemów ich dostarczania, które wspomagałyby leczenie chorób nowotworowych oraz infekcji powodowanych przez lekooporne mikroorganizmy.

W prezentowanych badaniach nanocząsteczki srebra i złota zsyntetyzowano metodą polegającą na redukcji soli metali roztworem cytrynianu sodu [1]. Nanocząsteczki scharakteryzowano za pomocą XPS, spektroskopii UV-VIS, mikroskopii DLS, potencjału Z, SEM i AFM. Otrzymane NPs stabilizowano w hydrożelu na bazie sfunkcjonalizowanej naturalnej alaniny C<sub>12</sub>ALA [2]. Stabilność hydrożeli NP-C<sub>12</sub>ALA została poddana ocenie metodami skaningowej kolorymetrii różnicowej oraz analizy termogravimetrycznej. Następnie NPs, C<sub>12</sub>ALA i ich kombinacje zostały poddane badaniom na aktywność przeciwdrobnoustrojową, przeciwnowotworową oraz hemolityczną. Wyniki wykazały, że nanocząsteczki nie powodują zmiany właściwości chemicznych żelu oraz że nie mają wpływu na temperaturę przejścia fazowego. Nanocząsteczki nie spowodowały również znaczącego zahamowania wzrostu żadnego z badanych drobnoustrojów ani też nie wykazały działania przeciwnowotworowego, oraz zaobserwowano jedynie niewielką aktywność hemolityczną w testowanych stężeniach. Uzyskanych wyników potwierdzą stabilność i brak toksyczności zastosowanych nośników (NP-C<sub>12</sub>ALA), co czyni je obiecującym kandydatem do zastosowania w przyszłości jako system dostarczania leków.

### Literatura:

[1] Kowalczuk, J., Łapiński, A., Stolarczyk, E., Demchuk, O.M., Kubiński, K., Janeczko, M., Martyna, A., Masłyk, M., Turczyniak-Surdacka, S., 2021. *Molecules* 26, 7462.

[2] Borkowski, M., Orvalho, S., Warszyński, P., Demchuk, O.M., Jarek, E., Zawala, J., 2022. *Physical Chemistry Chemical Physics* 24, 3854-3864.

[3] Wsparcie finansowe udzielił Narodowy Centrum Nauki: UMO-2019/33/B/NZ7/01608.



## ALANINE-BASED HYDROGELS CONTAINING GOLD AND SILVER NANOPARTICLES AS POTENTIAL DRUG CARRIERS

OLEG M. DEMCHUK<sup>1</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>, KAMILA GÓRKA<sup>1</sup>, MONIKA JANECZKO<sup>1</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, MATEUSZ KWAŚNIK<sup>1</sup>, MARIUSZ BORKOWSKI<sup>2</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>3</sup>, JOANNA KOWALCZUK<sup>4</sup>, ELŻBIETA STOLARCZYK<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biological Sciences, Faculty of Natural Sciences and Health, The John Paul II Catholic University of Lublin, Lublin, Poland

<sup>2</sup> Jerzy Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry, Polish Academy of Sciences, Kraków, Poland

<sup>3</sup> Department of Medical Chemistry, Medical University of Lublin, Lublin, Poland

<sup>4</sup> Institute of Molecular Physics, Polish Academy of Sciences, Poznań, Poland

<sup>5</sup> Institute of Industrial Chemistry, Łukasiewicz Research Network, Warsaw, Poland

Nowadays, nanoparticles (NPs), especially silver (AgNPs) and gold (AuNPs) ones, are popular and promising research topic of medical studies. An interesting direction of the use of NPs in medicine is the use as nanodrugs or drug delivery systems, which would support the treatment of cancers and infections caused by drug-resistant microorganisms. For our studies, silver and gold nanoparticles were synthesized using the sodium citrate reduction method [1]. Nanoparticles were characterized by XPS, UV-VIS spectroscopy, DLS microscopy, Z-potential, SEM and AFM. The obtained NPs were stabilized in an hydrogel based on functionalized natural alanine C<sub>12</sub>ALA [2]. The stability of NP-C<sub>12</sub>ALA hydrogels was assessed by scanning differential colorimetry and thermogravimetric analysis. Respectively, NPs, C<sub>12</sub>ALA and their combinations were tested for antimicrobial, anticancer and hemolytic activity. The results showed that the nanoparticles did not change the chemical properties of the gel and that they had no effect on the phase transition temperature. The nanoparticles did not significantly inhibit the growth any of the tested microorganisms and did not show any anticancer activity, moreover only a slight hemolytic activity was observed at the tested concentrations. The overall results, obtained in the studies, confirm the stability and non-toxicity of the used carriers, which makes them a promising candidate for future use as a drug delivery system.

### References:

- [1] Kowalczyk, J., Łapiński, A., Stolarczyk, E., Demchuk, O.M., Kubiński, K., Janeczko, M., Martyna, A., Masłyk, M., Turczyniak-Surdacka, S., 2021. *Molecules* 26, 7462.
- [2] Borkowski, M., Orvalho, S., Warszyński, P., Demchuk, O.M., Jarek, E., Zawala, J., 2022. *Physical Chemistry Chemical Physics* 24, 3854-3864.
- [3] The financial support from the Polish National Science Centre grant UMO- 2019/33/B/NZ7/01608 is gratefully acknowledged.



## MONITORING WYSTĘPOWANIA ANTYBIOTYKOOPORNYCH SZCZEPÓW BAKTERII W POPULACJACH DZIKICH PTAKÓW

RAFAŁ ŁOPUCKI<sup>1</sup>, MONIKA ELŻBIETA JACH<sup>2</sup>, ILONA SADOK<sup>3,4</sup>, KATARZYNA MICHALAK<sup>4</sup>, MARTA KŁOS<sup>2</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>2</sup>, IGNACY KITOWSKI<sup>5</sup>, ŁUKASZ BEDNARZ<sup>6</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biomedycyny i Badań Środowiskowych, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>3</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>4</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

<sup>5</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Zoologii i Ekologii Zwierząt, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

<sup>6</sup> Fundacja Ptasie Horyzonty, ul. Spółdzielcza 34, 24-220 Niedzwica Duża

Powszechne stosowanie substancji przeciwdrobnoustrojowych w medycynie, weterynarii i rolnictwie przyczyniło się do gwałtownego zwiększenia przypadków antybiotykooporności bakterii i zainicjowało nowe wyzwania dla ochrony zdrowia publicznego. Jednym z istotnych rezerwuarów szczepów bakterii opornych na antybiotyki są dzikie zwierzęta, a w szczególności ptaki. Te wysoce mobilne zwierzęta mogą przenosić lekooporne szczepy w skali regionalnej (np. z wysypisk śmieci do miast), jak również w skali kontynentalnej podczas regularnych migracji sezonowych.

W niniejszej pracy badano różne populacje ptaków wędrownych żyjących w pobliżu osiedli ludzkich w celu oszacowania ich potencjału w transmisji lekoopornych szczepów patogennych bakterii. Bakterie z odchodów ptaków izolowano za pomocą standardowych metod mikrobiologicznych i identyfikowano techniką MALDI-TOF MS (*matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry*). Zidentyfikowane szczepy poddawano testom wrażliwości na antybiotyki oraz identyfikowano geny odpowiedzialne za lekooporność. Stwierdzono, że dzikie ptaki mogą być ważnym rezerwuarem i wektorem transmisji lekoopornych bakterii.

## MONITORING OF PREVALENCE OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA IN WILD BIRD POPULATIONS

*RAFAŁ ŁOPUCKI<sup>1</sup>, MONIKA ELŻBIETA JACH<sup>2</sup>, ILONA SADOK<sup>3,4</sup>, KATARZYNA MICHALAK<sup>4</sup>, MARTA KŁOS<sup>2</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>2</sup>, IGNACY KITOWSKI<sup>5</sup>, ŁUKASZ BEDNARZ<sup>6</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Institute of Biological Sciences, Department of Biomedicine and Environmental Research, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>2</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Institute of Biological Sciences, Department of Molecular Biology, Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, Poland

<sup>3</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Institute of Biological Sciences, Department of Chemistry, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>4</sup>University of Life Sciences in Lublin, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Głęboka 30, 20-612 Lublin, Poland

<sup>5</sup>University of Life Sciences in Lublin, Faculty of Environmental Biology, Department of Zoology and Animal Ecology, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland

<sup>6</sup>Bird Horizons Foundation, Spółdzielcza 34, 24-220 Niedzwica Duża, Poland

The widespread use of antimicrobial agents in medicine, veterinary and agriculture contributed to the emergence of antimicrobial-resistant bacteria and initiated new challenges for the protection of public health. One of the important reservoirs of antibiotic-resistant bacteria strains is wild animals, especially birds. These highly mobile animals can transmit antibiotic-resistant strains on a regional scale (e.g. from landfills to urban areas) as well as on a continental scale during regular seasonal migrations.

In this study, various populations of migratory birds living in the vicinity of human settlements were studied to estimate their potential for transmission of antibiotic-resistant pathogenic bacteria strains. Bacteria from bird feces were isolated using standard microbiological methods and identified by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) technique. Identified strains were subjected to antibiotic susceptibility tests and genes responsible for antibiotic resistance were identified. It was found that wild birds can be an important reservoir and vector for transmission of antimicrobial-resistant bacteria.

## ANALIZA POTENCJALNYCH ZAGROŻEŃ WYBRANYCH BAKTERII PATOGENNYCH IZOLOWANYCH Z MYSZY ŻYJĄCYCH W POBLIŻU LUDZKICH SIEDZIB

EWA LENARCZYK, MONIKA ELŻBIETA JACH, RAFAŁ ŁOPUCKI, MACIEJ MASŁYK, KONRAD KUBIŃSKI

Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów, 20-628 Lublin, Polska

Dzikie gryzonie są wszechobecne, a te żyjące w pobliżu siedzib ludzkich, w tym gospodarstw rolnych mogą stanowić zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności, jeśli wydają mikroorganizmy patogenne w odchodach w pobliżu lub na produktach rolnych. Próbkę kału od myszy z wybranych obszarów Polski, zostały przebadane w celu określenia częstości występowania i czynników ryzyka wydalania i przeniesienia patogenów. Gryzonie na badanym obszarze stanowiły potencjalne ryzyko jako rezerwuary środowiskowe *E. coli*, ale mogły także odgrywać rolę w rozprzestrzenianiu się obligatoryjnych pałeczek *Salmonella* w środowisku. Działania na rzecz zwalczania gryzoni, które potencjalnie zmniejszają bioróżnorodność, mogą powodować zwiększone wydalanie patogenów.

## ANALYSIS OF POTENTIAL THREATS OF SELECTED PATHOGENIC BACTERIA ISOLATED FROM MICE LIVING NEAR HUMAN SETTLEMENTS

*EWA LENARCZYK, MONIKA ELŻBIETA JACH, RAFAŁ ŁOPUCKI, MACIEJ MASŁYK, KONRAD KUBIŃSKI*

Faculty of Natural Sciences and Health, John Paul II Catholic University of Lublin, Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, Poland

Wild rodents are ubiquitous and those living near human settlements, including farms, can pose a food safety risk if they shed pathogenic microorganisms in the faeces near or on agricultural produce. Stool samples from mice from selected areas of Poland were tested to determine the frequency and risk factors for the excretion and transmission of pathogens. Rodents in the study area posed a potential risk as environmental reservoirs for *E. coli*, but may also play a role in the spread of obligatory *Salmonella* in the environment. Rodent control efforts that potentially reduce biodiversity may result in increased shedding of pathogens.

## ROLA DIAGNOSTYKI KOMPONENTOWEJ W ALERGII NA BIAŁKO MLEKA KROWIEGO U DZIECI

AGNIESZKA RUSTECKA, MARIA WĘGRZYNEK, AGATA BĘDZICHOWSKA, AGNIESZKA LIPIŃSKA-OPAŁKA, BOLESŁAW KALICKI

Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa

**Wstęp:** W skład mleka wchodzi 30-40 białek zdolnych wywołać reakcję alergiczną. Są one zbudowane z komponentów alergenowych, które zawierają w swojej strukturze fragmenty łańcucha aminokwasowego, łączącego się z wolnym IgE, receptorem limfocytów T lub receptorem limfocytów B (determinanty alergenowe lub epitopy). Jedna komponenta może zawierać wiele epitopów. Układ immunologiczny wytwarza p/ciała IgE przeciwko epitopom. Testy molekularne służą do potwierdzenia uczulenia na określone molekuly danego alergenu.

**Cel badania:** Ocena przydatności diagnostyki komponentowej w alergii na białko mleka krowiego z określeniem udziału komponentów w odpowiedzi IgE-swoistej, częstości występowania danych alergenów w zależności do wieku dziecka oraz ich wpływ na manifestację kliniczną.

**Materiał i metoda badania:** Analizie poddano komponenty białka mleka krowiego u 50 dzieci z alergią pokarmową. W surowicy krwi oznaczono stężenie IgE swoistych dla komponentów alergenowych za pomocą testu ALEX.

### **Wyniki:**

– U 72% pacjentów wykazano objawy alergii pokarmowej. U 25% dzieci stwierdzono podwyższone stężenie swoistych IgE na alergeny białka mleka.

– Najwięcej molekuł białka mleka wyodrębniono u dzieci do 3r.ż. Z wiekiem odsetek ten systematycznie spada.

– W 50% reakcji anafilaktycznej czynnikiem inicjującym były alergeny białka mleka.

### **Wnioski:**

– Alergia na białko mleka krowiego stanowi istotną przyczynę alergii pokarmowych. Diagnostyka molekularna pozwala m.in. na opracowanie profilu uczuleniowego oraz określa stopień ciężkości reakcji alergicznej, korelujący ze stopniem ryzyka potencjalnej reakcji anafilaktycznej. Nie wszystkie molekuly mleka mogące wywołać alergię zostały poznane.

## THE ROLE OF COMPONENT DIAGNOSTICS IN THE ALLERGY TO COW MILK PROTEIN IN CHILDREN

AGNIESZKA RUSTECKA, MARIA WĘGRZYNEK, AGATA BĘDZICHOWSKA, AGNIESZKA LIPIŃSKA-OPAŁKA, BOLESŁAW KALICKI

Department of Pediatrics, Nephrology and Pediatric Allergology, Military Medical Institute

**Introduction:** Milk contains 30-40 proteins capable of triggering an allergic reaction. They are composed of components that contain fragments of the amino acid chain that connects with free IgE, the T-lymphocyte receptor or the B-lymphocyte receptor (allergenic determinants or epitopes).

The immune system produces IgE antibodies only against individual epitopes that are part of a specific allergen component. Molecular tests are used to confirm sensitization to specific molecules of a given allergen.

**Aim of the study:** Usefulness of component diagnostics in cow's milk protein allergy in children. Determination of the contribution of components to the IgE-specific response. Estimation of the incidence of these allergens depending on the age of the children and their effect on clinical manifestation.

### **Material and methods:**

The components of cow's milk protein in 50 children with food allergies. The concentration of IgE specific for allergen components in the blood serum was determined using the ALEX test. **Results:**

- 72% of patients showed symptoms of food allergy. Among them, 25% had an elevated concentration of specific IgE on milk protein allergens.

- In children with symptoms of an allergic reaction to milk, the group among which the most molecules of milk protein were distinguished are children up to 3 years of age.

- 33% of children with symptoms of food allergy have been diagnosed with an acute systemic reaction. In 50% of cases, the initiating factor was milk protein allergen.

### **Conclusion:**

- Cow's milk protein allergy is a significant cause of food allergies.
- The determination of individual milk allergens allows for accurate development of the allergic profile.
- Molecular diagnostics allows to determine the degree of severity of the allergic reaction, correlating with the degree of risk of a potential anaphylactic reaction.

## OCENA BEZPIECZEŃSTWA NANONOŚNIKÓW KRZEMIONKOWYCH Z WYKORZYSTANIEM 2D I 3D MODELI KOMÓRKOWYCH

ANNA SIEROŚLAWSKA, ANNA BORÓWKA, ANNA RYMUSZKA

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii

Mezoporowate nanomateriały krzemionkowe (MSN) to nanostruktury o wyjątkowych możliwościach aplikacyjnych. Regulowany rozmiar cząstek, zmienny wymiar porów, a co za tym idzie, duża pojemność oraz szerokie możliwości modyfikacji powierzchni sprawiają, że MSN znalazły się w grupie nośników tworzących tzw. Smart Drug Delivery System. System ten jest obiecującym narzędziem we współczesnej terapii onkologicznej, służącym do skutecznego i bezpiecznego dostarczania leku do miejsca przeznaczenia. Wśród najistotniejszych cech, które czynią nanonośnik przydatnym w medycynie, oprócz zdolności uwalniania leku w miejscu docelowym, czy zapewniania stabilności w trakcie transportu, równie kluczową sprawą jest jego niska toksyczność dla organizmu.

Celem prezentowanych badań było określenie potencjalnego działania cytotoksycznego oraz działania drażniącego pięciu nowo wytworzonych form nanonośników krzemionkowych, z wykorzystaniem linii komórkowej V79 (fibroblasty płucne chomika) oraz ludzkich keratynocytów epidermalnych. Ocenę działania cytotoksycznego wykonano za pomocą testów XTT (tetrazolium salt reduction) oraz NR (neutral red uptake) z wykorzystaniem klasycznej hodowli 2D fibroblastów, natomiast działanie drażniące oceniano z wykorzystaniem modelu 3D zrekonstruowanej skóry ludzkiej – EpiDerm™ Skin (MatTek).

W badaniach wyznaczono wartości  $IC_{50}$  badanych cząsteczek, wyznaczono średnią względną żywotność komórek (mean relative viability RV), umożliwiającą wnioskowanie o działaniu drażniącym, oznaczono poziom prozapalnej cytokiny IL-1. Przeprowadzona ocena toksykologiczna badanych nanonośników krzemionkowych umożliwiła wyselekcjonowanie jednego z rodzajów nowo zsyntetyzowanych nanocząstek o najlepszym profilu, do ewentualnych dalszych kroków w kierunku ich zastosowań w medycynie czy kosmetologii.

## SAFETY ASSESSMENT OF SILICA CARRIERS WITH THE USE OF 2D AND 3D CELL MODELS

ANNA SIEROŚŁAWSKA, ANNA BORÓWKA, ANNA RYMUSZKA

John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health Sciences, Department of Animal Physiology and Toxicology

Mesoporous silica nanomaterials (MSN) are nanostructures with unique application possibilities. Adjustable particle size, variable pore size, and hence high capacity and wide possibilities of surface modification make MSN one of the carriers forming the so-called Smart Drug Delivery System. This system is a promising tool in modern cancer therapy, used for effective and safe delivery of drugs to the destination. Among the most important features that make the nanocarrier useful in medicine, in addition to the ability to release the drug at the target site or ensuring stability during transport, its low toxicity to the body is also of key importance.

The aim of the presented research was to determine the potential cytotoxic activity and irritation of five newly produced forms of silica nanocarriers, using the V79 cell line (hamster lung fibroblasts) and human epidermal keratinocytes. The cytotoxic activity was assessed using XTT (tetrazolium salt reduction) and NR (neutral red uptake) tests with the use of classic 2D fibroblast culture, while the irritating effect was assessed using a 3D model of reconstructed human skin – EpiDerm™ Skin (MatTek).

In the studies, the  $IC_{50}$  values of the tested molecules were determined, the mean relative viability of the cells (RV) was assessed, allowing for conclusions about the irritating effect, and the level of the pro-inflammatory cytokine IL-1 was determined. The carried out toxicological assessment of the tested silica nanocarriers made it possible to select one of the types of newly synthesized nanoparticles with the best profile for possible further steps towards their application in medicine or cosmetology.



## CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ADSORPCJĘ BIAŁEK NA MODYFIKOWANYCH MATERIAŁACH KRZEMIONKOWYCH

*ANNA BORÓWKĄ, ANDREA BAIER*

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk i Zdrowiu,  
Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii

Uporządkowane mezoporowate materiały krzemionkowe przyciągają znaczną uwagę badaczy od czasu, gdy w latach 90-tych ubiegłego stulecia sposób ich syntezy został po raz pierwszy zgłoszony przez Mobil Oil Corporation [1]. Wysoka wartość ich powierzchni właściwej i jednolite rozmiary porów sprawiają, że idealnie nadają się one do adsorpcji, a także separacji białek i innych cząsteczek biologicznych. Właściwości adsorpcyjne tych materiałów można dostosowywać poprzez chemiczną modyfikację ich powierzchni, wprowadzenie dodatkowych substancji lub zmianę warunków prowadzenia procesu adsorpcji. W badaniach zastosowano modyfikowane mezoporowate materiały krzemionkowe typu MCM-41 i SBA-15. Adsorbowanymi białkami modelowymi były lizozym i P2B. Zbadano wpływ wielkości cząstek białka, temperatury i pH na ilość adsorbowanej substancji.

Literatura:

[1] Kresge, C.T., Leonowicz, M.E., Roth, W.J., Vartuli J.C., Beck, J.S., 1992. *Nature* 359, 710.

## FACTORS AFFECTING ADSORPTION OF PROTEINS ON MODIFIED SILICA MATERIALS

*ANNA BORÓWKA, ANDREA BAIER*

The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health,  
Department of Animal Physiology and Toxicology

Ordered mesoporous silica materials have attracted substantial research attention since they were first reported by Mobil Oil Corporation in the 1990's [1]. Their high surface areas and adjustable uniform pore sizes make them ideal for adsorption, as well as separation of proteins and other biological molecules. The adsorption properties of these materials can be tailored by chemical modification of their surface, the introduction of additional substances or by changing the conditions for conducting the adsorption process. In this work, modified mesoporous silica materials of the MCM-41 and SBA-15 types were used. The adsorbed model proteins were lysozyme and P2B. In the study, the effects of protein particle size, temperature and pH on the amount of protein adsorbed were investigated.

### References:

[1] Kresge, C.T., Leonowicz, M.E., Roth, W.J., Vartuli J.C., Beck, J.S., 1992. *Nature* 359, 710.

## WPŁYW CYANOBAKTERII NA STAN EKOLOGICZNY ŚRODOWISKA I ZDROWIE CZŁOWIEKA

MAŁGORZATA PONIEWOZIK<sup>1</sup>, TOMASZ LENARD<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin,

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii, ul. Konstantynów 11, 20-708 Lublin

Zgodnie z Ramową Dyrektywą Wodną ustanowioną w 2000 roku fitoplankton jest jednym z pięciu elementów biologicznych wykorzystywanych do oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych. W niniejszej pracy zbadano stan ekologiczny trzech małych i płytkich jezior (Gumienek, Glinki, Czarne) zlokalizowanych na Równinie Poleskiej. Oceny dokonano wykorzystując wskaźniki fitoplanktonowe. We wszystkich trzech jeziorach dominowały sinice nitkowate, które były reprezentowane zarówno przez gatunki wytwarzające heterocyty, jak i te, które ich nie tworzą (*Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Limnothrix* i *Planktolyngbya*). Zagrożenie, jakie stwarzają sinice rozwijające się masowo w zbiornikach wodnych, wynika z ich potencjału do wytwarzania toksyn o działaniu hepatotoksycznym, neurotoksycznym lub dermatotoksycznym na organizmy żyjące w zbiorniku wodnym w kolejnych ogniwach łańcucha troficznego. Na końcu tego łańcucha zawsze znajduje się człowiek. Do określenia stanu ekologicznego badanych jezior zastosowano trzy indeksy: węgierski Q, niemiecki PSI (Phyto-See-Index) oraz polski PMPL (Phytoplankton Metrics for Polish Lakes). Na podstawie wskaźnika stanu troficznego Carlsona (TSI), jeziora Gumienek i Glinki są jeziorami zaawansowanymi eutroficznie, natomiast jezioro Czarne uzyskało lepszy wynik i zostało sklasyfikowane jako lekko eutroficzne. Stan troficzny generalnie potwierdzał stan ekologiczny oparty na indeksach fitoplanktonowych. Najlepszy stan ekologiczny uzyskano przy zastosowaniu indeksu Q: jezioro Gumienek, o wskaźniku EQR = 0,42, miało stan umiarkowany, a jezioro Czarne, o EQR = 0,62, osiągnęło stan dobry. Natomiast jezioro Glinki, z EQR = 0,40, zostało sklasyfikowane na granicy stanu słabego i umiarkowanego. Na podstawie indeksu PMPL jezioro Gumienek zostało zaklasyfikowane do stanu złego (EQR = 0,05), natomiast jeziora Glinki i Czarne zostały sklasyfikowane w obrębie stanu słabego (EQR = odpowiednio 0,25 i 0,35). Natomiast na podstawie niemieckiego wskaźnika PSI jeziora zostały sklasyfikowane inaczej: stan jezior Gumienek i Czarne był nieco lepszy, ale wciąż niezadowalający, gdyż nadal znajdowały się one poniżej granicy dla kategorii stanu dobrego zalecanego do osiągnięcia przez Unię Europejską.

## IMPACT OF CYANOBACTERIA ON THE ECOLOGICAL STATUS OF FRESHWATERS AND HUMAN HEALTH

MAŁGORZATA PONIEWOZIK<sup>1</sup>, TOMASZ LENARD<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Plant Physiology and Biotechnology, Konstantynów 1I, PL-20-708 Lublin, Poland,

<sup>2</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Animal Physiology and Toxicology, Konstantynów 1I, PL-20-708 Lublin, Poland

According to the Water Framework Directive established in 2000 phytoplankton is one of the five biological quality elements used to assess the ecological status of surface waters. In the present study, the ecological status of three small and shallow lakes (Gumienek, Glinki, Czarne lakes) in the Polesie Plain, Eastern Poland, was determined using indicators based on phytoplankton communities. The dominant phytoplankton in all three lakes were filamentous cyanobacteria. They were represented by both heterocystous and non-heterocystous species from the genera *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Limnithrix*, and *Planktolyngbya*. The threat posed by cyanobacteria growing in masses in water bodies is due to their potential to produce toxins. These toxins can have hepatotoxic, neurotoxic, or dermatotoxic effects on the organisms living in the water body in the following cells of the trophic chain. At the end of this chain is always a human, who additionally uses water bodies for recreational purposes. We used three indices to determine the ecological status of the studied lakes: the Hungarian Q index, the German PSI (Phyto-See-Index) and the PMPL (Phytoplankton Metrics for Polish Lakes). On the basis of the Carlson's Trophic State Index (TSI), Gumienek and Glinki lakes were classified as advanced eutrophic, while Lake Czarne scored better and was classified as slightly eutrophic. The trophic status was generally confirmed by the ecological status based on phytoplankton indices, and was indicative of the varying ecological situation in the studied lakes. The best ecological status for the studied lakes was obtained using the Q-index: Gumienek lake, with EQR (ecological quality ratio) = 0.42, had moderate status, and Czarne lake, with EQR = 0.62, achieved good status. In contrast, Glinki lake, with an EQR = 0.40, was classified on the borderline for poor and moderate condition. Based on the Polish PMPL, Gumienek lake was classified in bad status (EQR = 0.05), while Glinki and Czarne lakes were classified within poor status (EQR = 0.25 and 0.35, respectively). In contrast, on the basis of the German PSI, the lakes were classified differently: the status of Gumienek and Czarne lakes was better but unsatisfactory, as they were still below the limit for the good status category recommended by the European Union.

## RYBIE „AWATARY” LUDZKICH NOWOTWORÓW JAKO NOWE PODEJŚCIE SPERSONALIZOWANEJ MEDYCYNY W ONKOLOGII

ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA, AGATA MAŁEK, SYLWIA WNOROWSKA, RENATA ŻELAZOWSKA  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Chemii Medycznej

Nowotwory są jedną z głównych przyczyn zgonów na całym świecie, a wysokie wskaźniki zachorowań na raka są w krajach o najwyższej średniej długości życia, poziomie wykształcenia i standardu życia. Głównymi przyczynami nowotworów są czynniki środowiskowe i wynikające ze stylu życia, jak otyłość, infekcje, promieniowanie UV i spożywanie alkoholu. Dlatego poszukiwanie nowych terapii przeciwnowotworowych jest bardzo ważne w medycynie. W tym celu powstają modele zwierzęce przeszczepów ksenograficznych zapewniające wydajniejsze i skuteczniejsze wyniki badań przedklinicznych.

Pierwsze doniesienie o zastosowaniu heteroprzeszczepu ludzkich komórek u danio pręgowanego (*Danio rerio*, Zebrafish) pochodzi z 2005 r. i opisuje wszczep ludzkich komórek znakowanych zielonym białkiem fluorescencyjnym (GFP) do zarodków w stadium blastuli. Od tego czasu ten model jest ulepszany, dostosowywany do nowych potrzeb i wzbogacany o innowacyjne metody obrazowania i wizualizacji. Oferuje on szereg zalet, w tym niskie wymagania w zakresie utrzymania i pielęgnacji zwierząt, szybki rozwój i wysoką płodność, niskie koszty, słabo rozwinięty układ odpornościowy gwarantujący dobre przyjęcie przeszczepu i wreszcie możliwość obserwacji komórek rakowych w organizmie gospodarza w czasie rzeczywistym dzięki przezroczystej naturze danio pręgowanego. Wszystko to sprawia, że model ten jest coraz szerzej stosowanym narzędziem do badania proliferacji komórek nowotworowych, wzrostu guza i jego zachowań przerzutowych.

Ksenografty pochodzące od pacjenta (PDX), zwane również „awatarami”, powstają przez implantację ludzkich komórek lub tkanek pierwotnego nowotworu zwierzęciu – gospodarzowi, gdzie nowotwory od pacjentów rosną w fizjologicznym mikrośrodowisku guza, o zbliżonym poziomie tlenu, składników odżywczych i hormonów. W rezultacie modele PDX wykazują podobne reakcje na leczenie przeciwnowotworowe, jak u rzeczywistego pacjenta, od którego pochodzi guz. Ze względu na złożoność i unikalne cechy każdego guza, PDX są modelami z wyboru w badaniach nad rakiem i medycynie precyzyjnej, a zastosowanie modelu danio pręgowanego jako „awatarów” ludzkich nowotworów może służyć do szybkiej oceny potencjalnych spersonalizowanych terapii trudnych lub opornych guzów.

Badanie finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, OPUS 2019/33/B/NZ7/01608

## FISH “AVATARS” OF TUMORS AS A NEW ATTEMPT IN PERSONALIZED MEDICINE IN ONCOLOGY

ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA, AGATA MAŁEK, SYLWIA WNOROWSKA, RENATA ŻELAZOWSKA  
Medical University of Lublin, Faculty of Medical Sciences, Department of Medical Chemistry

Cancer is nowadays among the leading causes of death worldwide. Interestingly cancer rates are highest in countries whose populations have the highest life expectancy, education level, and standard of living. It is due to cancer causes attributable to key lifestyle and environmental risk factors like obesity, infections, UV radiation and alcohol consumption. Therefore there is a great need to search for new anti-tumor drugs or innovative therapeutic approaches. For that purpose xenograft animal models are developed to provide more accurate, efficient and effective results of preclinical studies.

The first use of human cell xenograft in zebrafish was reported in 2005, when green fluorescent protein (GFP)-labeled human cell lines were transplanted into blastula stage embryos, and since then, this model has been improved, adapted to new needs and developed for innovative imaging and visualization methods. As zebrafish xenograft model offers a number of advantages over other xenograft models including low maintenance and care requirements, quick development and high fecundity, at low costs, a complement of orthotopic organs, immune system enhancing xenografts of human cancer cells without immune rejection and finally the ability to observe cancer cells within the host body easily in real time due to transparent nature of embryo-larva zebrafish. All these makes the zebrafish xenograft model an exciting tool to provide new and important data concerning tumor growth, proliferation, metastatic behaviours.

Patient-derived xenografts (PDXs), also called “avatars,” are generated by the implantation of human primary tumor cells or tissues into a host animal. In such models, samples of patients’ tumors grow in physiologically-relevant tumor microenvironments that mimic the oxygen, nutrient, and hormone levels that are found in the patient’s primary tumor site. As a result, numerous studies have found that PDX models exhibit similar responses to anti-cancer agents as seen in the actual patient who provided the tumor sample. Therefore due to the complexity and unique characteristics of each tumor, PDXs are models of choice in cancer research and precision medicine. In that field zebrafish can provide a more authentic view to investigate human cancers as “avatars” for rapidly evaluating potential patient-personalized therapies.

Research funded by the National Science Center, OPUS 2019/33/B/NZ7/01608

## ZASTOSOWANIE SIECI METALO-ORGANICZNYCH JAKO NOŚNIKÓW PRZECIWDZIAŁAJĄCYCH KARDIOTOKSYCZNYM SKUTKOM UBOCZNYM STOSOWANIA CHLOROCHINY – BADANIA *IN VIVO* I *IN VITRO*

PRZEMYSŁAW J. JODŁOWSKI<sup>1</sup>, GRZEGORZ KUROWSKI<sup>1</sup>, ŁUKASZ KUTERASIŃSKI<sup>2</sup>, MACIEJ SITARZ<sup>3</sup>,  
PIOTR JELEŃ<sup>3</sup>, JOLANTA JAŚKOWSKA<sup>1</sup>, ANDRZEJ KOŁODZIEJ<sup>4</sup>, ANNA PAJDAK<sup>5</sup>, ZBIGNIEW  
MAJKA<sup>6</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Politechnika Krakowska, Wydział Inżynierii Chemicznej i Technologii,

<sup>2</sup> Polska Akademia Nauk, Instytut Katalizy i Chemii Powierzchni Jerzego Habera,

<sup>3</sup> Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki,

<sup>4</sup> Polska Akademia Nauk, Instytut Inżynierii Chemicznej,

<sup>5</sup> Polska Akademia Nauk, Instytut Mechaniki Górotworu, Pracownia Mikromimetyki

<sup>6</sup> TM LABS Sp. z o. o.

<sup>7</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Chemii Medycznej

Światowa Organizacja Zdrowia ogłosiła globalną pandemię COVID-19 wywołaną wirusem SARS-CoV-2. Pomimo braku leków hamujących rozwój wirusa SARS-CoV-2, powstają listy leków o potencjalnych właściwościach przeciwwirusowych, takich jak chlorochina i hydroksychlorochina, remdesivir. Spośród tych leków chlorochina i hydroksychlorochina są interesujące z medycznego i chemicznego punktu widzenia. Chociaż duże dawki chlorochiny i jej pochodnych mogą wywoływać skutki uboczne, takie jak zaburzenia pracy serca, neuromiotoksyczność, nadciśnienie i arytmia serca, nadal rozważa się ich potencjalne zastosowanie i testy.

W tym badaniu przedstawiamy syntezę nanokrystalicznego metaloorganicznego szkieletu UiO-66 jako potencjalnego systemu uwalniania difosforanu chlorochiny (CQ). Zwiększenie stężenia kwasu solnego podczas syntezy spowodowało znaczny wzrost objętości porów, co zwiększyło ilość CQ w kompozytach CQ@UiO-66. Testy uwalniania leków dla CQ@UiO-66 potwierdziły przedłużone uwalnianie CQ w porównaniu z czystym CQ. Testy *in vivo* na organizmach modelowych *Danio rerio* wykazały, że CQ uwolnione z CQ@UiO-66 25% wykazywało niższą toksyczność i mniej efektów kardiotoxycznych objawiających się wadami rozwojowymi serca i arytmią w porównaniu z analogicznymi dawkami CQ. Testy cytotoxyczności wykazały, że CQ z UiO-66 zwiększał żywotność komórek serca (H9C2) w porównaniu z inkubacją z czystym CQ. Przedstawione tutaj wyniki eksperymentalne mogą być krokiem naprzód w kontekście możliwości ograniczenia kardiotoxyczności chlorochiny.

## THE APPLICATION OF METAL-ORGANIC FRAMEWORK MATERIALS AS CARRIERS TO PREVENT CARDIOTOXIC SIDE EFFECTS OF CHLOROCHINE – IN VIVO AND IN VITRO STUDY

PRZEMYSŁAW J. JODŁOWSKI<sup>1</sup>, GRZEGORZ KUROWSKI<sup>1</sup>, ŁUKASZ KUTERASIŃSKI<sup>2</sup>, MACIEJ SITARZ<sup>3</sup>, PIOTR JELEŃ<sup>3</sup>, JOLANTA JAŚKOWSKA<sup>1</sup>, ANDRZEJ KOŁODZIEJ<sup>4</sup>, ANNA PAJDAK<sup>5</sup>, ZBIGNIEW MAJKA<sup>6</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Cracow University of Technology Faculty of Chemical Engineering and Technology,

<sup>2</sup> Polish Academy of Sciences, Jerzy Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry,

<sup>3</sup> AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics,

<sup>4</sup> Polish Academy of Sciences, Institute of Chemical Engineering

<sup>5</sup> Polish Academy of Sciences, Strata Mechanics Research Institute

<sup>6</sup> TM LABS Sp. z o. o.

<sup>7</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medical Sciences, Department of Medical Chemistry

The World Health Organization announced the global pandemic COVID-19 caused by the SARS-CoV-2 virus. Despite the lack of drugs to inhibit the development of the SARS-CoV-2 virus, lists of drugs with potential antiviral properties are created and simultaneously modified, including chloroquine and hydroxychloroquine, remdesivir. Of those drugs chloroquine and hydroxychloroquine may be interesting from the medical and chemical point of view. Although high dosages of chloroquine and its derivatives could have side effects such as cardiac disturbances, neuromyotoxicity, hypertension, and cardiac arrhythmia, they are still under consideration for potential use and testing.

In this study, we present a modulated synthesis nanocrystalline defective UiO-66 metal-organic framework as a potential chloroquine diphosphate (CQ) delivery system. Increasing the concentration of hydrochloric acid during the modulated synthesis resulted in a considerable increase of pore volume, which enhanced the CQ loading in CQ@UiO-66 composites. Drug release tests for CQ@UiO-66 composites have confirmed prolonged CQ release in comparison with pure CQ. In vivo tests on a Danio reiro model organism have revealed that CQ released from CQ@UiO-66 25% showed lower toxicity and fewer cardiotoxic effects manifested by cardiac malformations and arrhythmia in comparison to analogous doses of CQ. Cytotoxicity tests proved that the CQ loaded on the defective UiO-66 cargo resulted in increased viability of cardiac cells (H9C2) as compared to incubation with pure CQ. The experimental results presented here may be a step forward in the context of reducing the cardiotoxicity CQ.



## ANOMALIE W RAPORTACH COVID-19

ADAM KIERSZTYN<sup>1</sup>, KRYSTYNA KIERSZTYN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Politechnika Lubelska, Wydział Elektrotechniki i Informatyki, Katedra Informatyki;

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Modelowania Matematycznego.

Pandemia COVID-19 wpłynęła na prawie każdy aspekt życia. Zmieniły się wzorce kontaktów międzyludzkich, sposoby prowadzenia biznesu oraz metody edukacji szkolnej. Znaczna część światowego biznesu przeniosła się do świata wirtualnego, a globalne łańcuchy dostaw zostały zakłócone. Z drugiej strony ta nowa sytuacja stworzyła szanse na znacznie szybszy rozwój niektórych obszarów biznesu i nauki. Na przykład obserwacja i analiza danych pandemicznych przyczyniły się do rozwoju nowych technik skutecznego prognozowania matematycznego. Warto zauważyć, że podczas pandemii większość decyzji politycznych i gospodarczych opiera się na oficjalnych danych o liczbie nowych infekcji na poziomie kraju. Dlatego jakość tych danych jest bardzo istotna przy podejmowaniu trudnych decyzji, takich jak wprowadzanie nowych ograniczeń. W niniejszym opracowaniu skupimy się na problemie jakości danych pandemicznych i przedstawimy nowatorską metodę wykrywania anomalii opartą na granulkach informacji. W eksperymentach numerycznych porównano dane z kilku krajów europejskich. Dobór danych do analizy oparto na następujących informacjach: przepływ osób między krajami, zbliżona jakość opieki medycznej oraz standardy sanitarne. Odpowiednia adaptacja autorskiej metody wykrywania anomalii opartej na granulkach informacji pozwoliła na identyfikację potencjalnych anomalii w codziennych raportach COVID.

## ANOMALIES IN COVID-19 REPORTS

*ADAM KIERSZTYN<sup>1</sup>, KRYSTYNA KIERSZTYN<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Lublin University of Technology, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, Department of Computer Science;

<sup>2</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Mathematical Modelling.

The COVID-19 pandemic has affected almost every aspect of life. The patterns of interpersonal contacts, the ways of doing business and the methods of school education have changed. A significant part of worldwide business has migrated to the virtual world, and the global supply chains have been disrupted. On the other hand, this new situation created opportunities for a much faster development of some areas of business and science. For example, the observation and analysis of pandemic data has contributed to the development of new techniques for effective mathematical forecasting. It is worth noting that during a pandemic most political and economic decisions are based on official data on the number of new infections at the country level. Therefore, the quality of this data is very important for making difficult decisions, such as implementing new restrictions. In this study, we will focus on the problem of pandemic data quality and present a novel anomaly detection method based on information granules. In numerical experiments, data from several European countries were compared. The selection of data for analysis was based on the following information: the movement of people between countries, similar quality of medical care and the sanitary standards. An appropriate adaptation of the author's anomaly detection method based on information granules allowed to identify potential anomalies in daily COVID reports.

## ZMIANY POZIOMU MARKERÓW STRESU WE WŁOSACH U OSÓB Z ŁAGODNYM PRZEBIEGIEM COVID-19

ILONA SADOK<sup>1</sup>, RAFAŁ ŁOPUCKI<sup>2</sup>, KINGA OŹGA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Chemii, Instytut Nauk Biologicznych, Katolicki Uniwersytet Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Katedra Biomedycyny i Badań Środowiskowych, Instytut Nauk Biologicznych, Katolicki Uniwersytet Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

Pandemia COVID-19 została uznana za jeden z najważniejszych globalnych czynników stresogennych w ostatnich latach. Podwyższony stres psychologiczny notowano głównie w grupach zawodowych bezpośrednio zaangażowanych w walkę z pandemią, m.in. wśród pracowników służby zdrowia. Mniejszą uwagę poświęcono zagadnieniu jak zmienia się poziom stresu u osób zakażonych koronawirusem w przypadku łagodnego przebiegu tej choroby. Można założyć, że w związku ze stale nagłaśnianymi informacjami dotyczącymi niebezpieczeństw związanych z COVID-19 (ryzyko śmierci, ryzyko ciężkiego przebiegu choroby, ryzyko zarażenia bliskich osób, potrzeba przebywania w izolacji) u osób, u których potwierdzono obecność koronawirusa, pojawiał się silny, kilkutygodniowy stres psychologiczny związany z niepewnością i obawami o własne zdrowie (i życie) oraz stres fizjologiczny związany z chorobą. Biologicznym markerem stresu może być kortyzol lub kortyzon deponowany we włosach.

Do badań wykorzystano próbki włosów od wolontariuszy, u których potwierdzono zakażenie koronawirusem oficjalnym testem i które przez co najmniej 2 tygodnie leczyły się w warunkach domowych (nie wymagały hospitalizacji i deklarały łagodny przebieg choroby). Próbkę pobierano zgodnie zaleceniami SoHT (z ang. Society of Hair Testing) [1]. Stężenie kortyzolu i kortyzonu badano w odcinkach włosów sprzed i z okresu trwania choroby. Oznaczenia poziomu markerów stresu wykonano za pomocą tandemowego spektrometru masowego sprzężonego z ultrasprawnym chromatografem cieczowym.

Literatura:

[1] Cooper, G., Kronstrand, R., Kintz, P., 2012. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair, *Forensic Science International* 218, 20-24.

## CHANGES IN LEVEL OF STRESS MARKERS IN HAIR FROM PEOPLE WITH MILD SYMPTOMS OF COVID-19

*ILONA SADOK<sup>1</sup>, RAFAŁ ŁOPUCKI<sup>2</sup>, KINGA OŹGA<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Institute of Biological Sciences, The John Paul II Catholic University of Lublin, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Department of Biomedicine and Environmental Research, Institute of Biological Sciences, The John Paul II Catholic University of Lublin, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

In recent years, the COVID-19 pandemic has been recognized as one of the most important global stressors. Increased psychological stress was mainly noted in occupational groups directly involved in the fight against the pandemic, among others in healthcare workers. Less attention was paid to how the stress level changes in people with mild symptoms of the illness. It can be assumed that due to the constantly published information on the dangers of COVID-19 (risks of death, risk of severe course of disease and complications or the need to stay in isolation), people who tested positive for coronavirus had a strong, several-week-long psychological stress related to uncertainty and fears for one's health (and life) and physiological stress related to the disease. Cortisol or cortisone, which is deposited in the hair, may be a biological marker of this stress.

For the study, the hair samples from volunteers who tested positive for coronavirus SARS-CoV-2 and were treated at home for at least 2 weeks (they did not require hospitalization and declared mild symptoms of the COVID-19) were used. The samples were collected following recommendations of the Society of Hair Testing (SoHT) [1]. The concentration of stress markers was measured in hair segments related to the period before and after disease. Cortisol and cortisone determinations were carried out using a tandem mass spectrometry coupled with ultra-high performance liquid chromatography.

### References:

[1] Cooper, G., Kronstrand, R., Kintz, P., 2012. Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair, *Forensic Science International* 218, 20-24.

## TERAPIA SZTUKĄ JAKO FORMA PROFILAKTYKI I WALKI ZE STRESEM

MAŁGORZATA GORZEL<sup>1,2</sup>, EWELINA RAMOTOWSKA<sup>2,3</sup>, RADOSŁAW MENCZEL<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Akademia Nauk Stosowanych Wincentego Pola w Lublinie, Wydział Nauk o Zdrowiu

<sup>2</sup> Centrum Innowacji Badań i Nauki w Lublinie

<sup>3</sup> VI Liceum Ogólnokształcące im. Króla Zygmunta Augusta w Białymstoku

<sup>4</sup> Instytut Nauk Biologicznych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

Stres jest nieodłącznym elementem życia każdego z nas a nieumiejętność radzenia sobie z nim stanowi jeden z najpoważniejszych problemów współczesnego świata. Terapia sztuką (arteterapia) jest jedną z form zapobiegania i walki ze stresem.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie autorskiego programu arteterapeutycznego wchodzącego w skład cyklu zajęć „Stresoodporny” poświęconemu dostarczeniu umiejętności konstruktywnego radzenia sobie w sytuacjach stresogen-nych oraz umiejętności rozpoznawania symptomów i skutków stresu.

Program zajęć pt. „Adekwatek”

Cel zajęć: rozpoznanie własnych potrzeb, analiza źródeł stresu i rozpoznanie sposobu radzenia sobie z nim. Zajęcia skierowane są do osób dorosłych czynnych zawodowo. Czas przewidziany na zajęcia to 3 h.

Przebieg warsztatu obejmuje: 1. Powitanie (integracja grupy) oraz podpisanie wspólnie tworzonego kontraktu. 2. Koło osobistej satysfakcji (tworzenie grafu reprezentującego równowagę pomiędzy różnymi obszarami życia), 3. Określenie tzw. punktów stresu (test Mikea Claytona), 4. „Wieczerza” (plastyczna wizualizacja stresu), 5. Rzeźba (elementy dramy jako narzędzia terapeutycznego), 6. „Adekwatek” (tworzenie rzeźby przestrzennej reprezentującej sposób radzenia sobie z sytuacją stresową.). 7. Relaksacja (poznanie technik relaksacyjnych i nauka treningu autogennego), 8. Pożegnanie uczestników.

Przewidywane efekty terapeutyczne: przepracowanie sytuacji stresogennych, budowanie poczucia własnej wartości i adekwatnej samooceny, uświadomienie sobie własnych możliwości i predyspozycji.

Przewidywane efekty edukacyjne: nauka działań pomocowych w odreagowaniu napięć emocjonalnych, nauka technik relaksacyjnych, nauka sposobów radzenia sobie w sytuacjach stresogennych, nauka rozpoznawania symptomów i skutków stresu.

Przewidywane efekty rozwojowe: konstruktywne radzenie sobie ze stresem, adekwatne reakcje na sytuacje stresogenne, wykorzystywanie własnych możliwości i predyspozycji, wyrażanie swoich uczuć, emocji i potrzeb.

## ART THERAPY AS A FORM OF PREVENTION AND STRESS MANAGEMENT

*MAŁGORZATA GORZEL<sup>1,2</sup>, EWELINA RAMOTOWSKA<sup>2,3</sup>, RADOSŁAW MENCHEL<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Wincenty Pol Academy of Applied Sciences in Lublin, Faculty of Health Sciences

<sup>2</sup>Research and Science Innovation Centre in Lublin

<sup>3</sup>6th King Zygmunt August Secondary School in Białystok

<sup>4</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin

Stress is an inseparable element of everyone's life and the inability to cope with it is one of the most serious problems of the modern world. Art therapy is one way of preventing and combating stress.

The aim of this article is to present the author's art therapy programme, which is a part of the 'Stress Resistant' series of classes dedicated to providing skills for dealing constructively with stressful situations and the ability to recognise the symptoms and effects of stress.

A workshop entitled. "Adekwatek". The purpose of the class: to recognise one's own needs, to analyse the sources of stress and recognise how to cope with it. The class is aimed at working adults. Class time is 3 h.

The course of the workshop includes: 1. Welcome (group integration) and signing of a mutually created contract. 2. Personal satisfaction circle (creation of a graph representing the balance between different areas of life), 3. Identification of so-called stress points (Mike Clayton test), 4. "A supper" (visualisation of stress), 5. Sculpture (elements of drama as a therapeutic tool), 6. "Adekwatek" (creation of a spatial sculpture representing a way of dealing with a stressful situation). 7. Relaxation (learning relaxation techniques and autogenic training), 8. Farewell to participants.

Anticipated therapeutic effects: working through stressful situations, building self-esteem and adequate self-assessment, becoming aware of one's own abilities and predispositions.

Anticipated educational outcomes: learning activities for relieving emotional tensions, learning relaxation techniques, learning how to cope with stressful situations, learning to recognise the symptoms and effects of stress.

Anticipated developmental effects: coping constructively with stress, responding appropriately to stressful situations, using one's own abilities and predispositions, expressing one's feelings, emotions and needs.

## WPŁYW STRESU NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY – WYBRANE ZAGADNIENIA

RADOSŁAW MENCFEL<sup>1</sup>, MAŁGORZATA GORZEL<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Instytut Nauk Biologicznych, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

<sup>2</sup> Akademia Nauk Stosowanych Wincentego Pola w Lublinie, Wydział Nauk o Zdrowiu

<sup>3</sup> Centrum Innowacji Badań i Nauki w Lublinie

Już w starożytności wnioskowano, że stan psychiczny wpływa na zdrowie fizyczne i może być przyczyną występowania i wpływać na przebieg chorób. Stres to proces, za pomocą którego czynniki środowiskowe (stresory) zagrażają równowadze organizmu lub ją naruszają i za pomocą którego organizm reaguje na zagrożenie. W pierwszej połowie XX wieku zdefiniowany został stres fizjologiczny jako stan w którym aktywuje się współczulny układ nerwowy i oś podwzgórze-przysadka-nadnercza. Dochodzi do zmiany w wydzielaniu hormonów i aktywności układu nerwowego. Zmiana działania mechanizmów regulacji zmienia funkcjonowanie organizmu. Znamy wiele stresorów np. głód, uraz mechaniczny, zimno lub gorąco i w końcu stany emocjonalne takie jak strach, poczucie zagrożenia itp.. W potocznym rozumieniu często stres kojarzymy dzisiaj z tą ostatnią grupą czynników, jest to związane z tempem życia, sytuacją rodzinną czy zawodową. Wynika to też z faktu, że stres krótkotrwały (np. po urazie mechanicznym czy w czasie zawodów sportowych lub np. egzaminu) pozwala nam osiągać lepsze rezultaty lub chronić się przed zagrożeniem (wpisany w toku ewolucji mechanizm „walcz lub uciekaj”) – efekt pozytywny. Stany frustracji, bycie pod ciągłą presją czy depresja, powodują długotrwały stres – efekt negatywny. Wśród jego negatywnych oddziaływań bardzo istotny jest wpływ na układ odpornościowy. Obejmuje on zmiany w produkcji cytokin i mediatorów jak i liczebności i funkcjonalności WBC. Osobne, ważne zagadnienie to wpływ stresu na pacjenta i jego rodzinę w sytuacji choroby przewlekłej (np. nowotworowej). Interesującym zagadnieniem jest też związek pomiędzy występowaniem stanu zapalnego i zwiększonym wydzielaniem cytokin jako mechanizmu, za pomocą którego stres może wywoływać depresję.

## THE IMPACT OF STRESS ON IMMUNITY – SELECTED ISSUES

*RADOSŁAW MENCHEL<sup>1</sup>, MAŁGORZATA GORZEL<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup> Institute of Biological Sciences, Faculty of Natural Sciences and Health, The John Paul II Catholic University of Lublin;

<sup>2</sup> Wincenty Pol Academy of Applied Sciences in Lublin, Faculty of Health Sciences

<sup>3</sup> Research and Science Innovation Centre in Lublin

As far back as antiquity it was concluded that the mental state influences physical health and may cause the occurrence and influence the course of diseases. Stress is the process by which environmental factors (stressors) threaten or upset the body's balance, and through which the body responds to the threat. In the first half of the 20th century, physiological stress was defined as the state in which the sympathetic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis were activated. There is a change in the secretion of hormones and the activity of the nervous system. Changing the way the regulatory mechanisms work changes how the body functions. We know many stressors, e.g. hunger, mechanical trauma, cold or heat, and finally emotional states such as fear, sense of danger, etc. In common understanding, stress is often associated today with the last group of factors, it is related to the pace of life, family or professional situation. This is also due to the fact that short-term stress (e.g. after a mechanical injury or during a sports competition or, for example, an exam) allows us to achieve better results or protect ourselves from threats (the “fight or flight” mechanism introduced in the course of evolution) – a positive effect. The states of frustration, being under constant pressure or depression cause long-term stress – a negative effect. Among its negative effects, it is very important that it affects the immune system. It includes changes in the production of cytokines and mediators as well as the abundance and functionality of the WBC. Another important issue is the impact of stress on the patient and his family in the event of a chronic disease (e.g. cancer). Another interesting issue is the relationship between inflammation and the increased secretion of cytokines as the mechanism by which stress can induce depression.



## BIOAKUMULACJA PIERWIASTKÓW PROZDROWOTNYCH W MODELU KULTUR *IN VITRO* *SALVIA HISPANICA* (CHIA)

SARA MOTYKA<sup>1</sup>, KAROLINA JAFERNIK<sup>1</sup>, ELIZA Blicharska<sup>2</sup>, KATARZYNA CZARNEK<sup>3</sup>, HALINA EKIERT<sup>1</sup>, AGNIESZKA SZOPA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska,

<sup>2</sup> Zakład Chemii Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Polska,

<sup>3</sup> Instytut Nauk o Zdrowiu, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, ul. Konstantynów 1 H, 20-708 Lublin, Polska

Szałwia hiszpańska (*Salvia hispanica* L.) dostarcza nasion chia (*Salviae hispanicae semen*) – surowca wyróżniającego się bogatym składem chemicznym, zaliczanym do współczesnych „healthy foods”.

Bogaty skład chemiczny, szczególnie wysoka zawartość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), aminokwasów egzogennych, polifenoli oraz witamin i biopierwiastków, warunkuje cenne właściwości nasion chia. Surowiec ten posiada udowodnione właściwości prozdrowotne jak działanie kardio-protেকcyjne, hipotensyjne, przeciwcukrzycowe i przeciwmiażdżycowe.

Kultury *in vitro* *S. hispanica* mogą stanowić potencjalne, alternatywne źródło surowca. Celem pracy było zbadanie możliwości bioakumulacji jonów metali prozdrowotnych, takich jak: magnez (Mg), wapń (Ca), cynk (Zn) i żelazo (Fe) w wytrząsanych kulturach mikropędowych *S. hispanica*. Kultury prowadzono na podłożu wg. Murashige-Skoog bez regulatorów wzrostu i rozwoju roślin. Do pożywek dodawano sole makroelementów – wapnia ( $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) i magnezu ( $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) oraz mikroelementów – żelaza ( $\text{FeNaEDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) i cynku ( $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) w stężeniach: 1, 5, 10, 25, 50 (mg/L pożywki) w przeliczeniu na pierwiastek. Wyniki porównywano z próbą kontrolą – hodowlą prowadzoną bez dodatku soli pierwiastków. Czas trwania cyklu hodowlanego trwał 14 dni, hodowle prowadzono w ciągłym oświetleniu (3 serie). Analizę zawartości biopierwiastków wykonano przy pomocy atomowej spektrometrii absorpcyjnej (HR-CS AAS).

Eksperymenty potwierdziły wysoką zdolność akumulacji biopierwiastków w biomasie kultur *in vitro* *S. hispanica*. Kultury *in vitro* chia posłużą jako model do dalszych badań dotyczących wzbogacania żywności biopierwiastkami.

## PRO-HEALTH ELEMENTS BIOACCUMULATION IN THE MODEL OF *SALVIA HISPANICA* (CHIA) *IN VITRO* CULTURES

SARA MOTYKA<sup>1</sup>, KAROLINA JAFERNIK<sup>1</sup>, ELIZA Blicharska<sup>2</sup>, KATARZYNA CZARNEK<sup>3</sup>, HALINA EKIERT<sup>1</sup>, AGNIESZKA SZOPA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Chair and Department of Pharmaceutical Botany, Medical College, Jagiellonian University, Medyczna 9, 30-688 Kraków, Poland,

<sup>2</sup> Department of Analytical Chemistry, Medical University of Lublin, Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin, Poland,

<sup>3</sup> Institute of Health Sciences, The John Paul II Catholic University of Lublin, Konstantynów 1 H, 20-708 Lublin, Poland

*Salvia hispanica* L. provides chia seeds (*Salviae hispanicae semen*) – a raw material distinguished by a rich chemical composition, classified as modern “healthy food”.

The rich chemical composition, especially the high content of essential unsaturated fatty acids (EFAs), essential amino acids, polyphenols, as well as vitamins and bioelements, determine the valuable properties of chia seeds. This raw material has proven health-promoting properties, such as cardioprotective, hypotensive, anti-diabetic and anti-atherosclerotic effects. *In vitro* cultures of *S. hispanica* may be a potential alternative source of raw material.

The aim of the study was to investigate the possibility of bioaccumulation of pro-health metal ions, such as: magnesium (Mg), calcium (Ca), zinc (Zn) and iron (Fe) in agitated *S. hispanica* microshoot cultures. Cultures were carried out on the Murashige-Skoog medium without plant growth regulators, with additions of salts of: macronutrients – calcium ( $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) and magnesium ( $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ), and micronutrients – iron ( $\text{FeNaEDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) and zinc ( $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ) in concentrations of 1, 5, 10, 25, 50 (mg/L of medium) per element. The results were compared with the control – cultures conducted without the addition of elements. The duration of the growth cycle was 14 days. The cultures were carried out under continuous light (3 series). The content of bioelements was analyzed by atomic absorption spectrometry (HR-CS AAS).

Experiments confirmed the high capacity of bioelements accumulation in the biomass of *S. hispanica in vitro* cultures. The *in vitro* cultures of chia could serve as a model for further studies on the enrichment of food with bioelements.

## ROLA MIKROBIOTY JELITOWEJ W ZABURZENIACH LĘKOWYCH

SANDRA ROMANIS, MAŁGORZATA DOSTATNI, JAN RUCIŃSKI, EVELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka

Mikrobiota jelitowa, czyli zbiór mikroorganizmów bytujących głównie w jelicie grubym, wpływa na wiele funkcji organizmu poprzez oddziaływanie na liczne szlaki metaboliczne i neuronalne. Jest to możliwe przede wszystkim za pośrednictwem metabolitów mikrobioty: krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA), witamin oraz neuroprzekaźników. Mikrobiom moduluje metabolizm niektórych neuroprzekaźników, szczególnie serotoniny, a także wpływa na poziom SCFA i czynnika troficznego pochodzenia mózgowego (BDNF), przez co przyczynia się do regulacji procesów poznawczych, emocjonalnych i zachowania. Prebiotyki są niestrawialnymi składnikami pokarmowymi pobudzającymi wzrost i aktywność bakterii o pożytecznym wpływie na organizm człowieka (probiotyków). Prebiotyki wpływają na regulację aktywności osi podwzgórze-przysadka-nadnercza powiązanej z uwalnianiem hormonów stresu. Wykazano także, że konkretne szczepy bakterii mogą wykazywać działanie przeciwlękowe, co oznacza, że suplementacja probiotykami lub prebiotykami może znacząco obniżać poziom lęku. Efekty te są związane z osią jelitowo-mózgową, czyli dwukierunkowym szlakiem sygnalizacyjnym pomiędzy przewodem pokarmowym a układem nerwowym, obejmującym złożoną sieć komponentów metabolicznych, endokrynnych, immunologicznych i neuronalnych. Wykorzystując anksjolityczny potencjał modyfikacji składu mikrobioty jelitowej, można ograniczyć stosowanie leków o działaniu przeciwlękowym, których przyjmowanie często wiąże się z wieloma skutkami ubocznymi. Ponadto badania dotyczące związku pomiędzy lękiem a mikrobiomem i osią jelitowo-mózgową oraz weryfikacja terapeutycznych właściwości pre- i probiotyków pozwalają na lepsze zrozumienie problematyki zaburzeń lękowych, dając nadzieję na opracowanie nowych metod ich prewencji i leczenia.

## THE ROLE OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN ANXIETY DISORDERS

*SANDRA ROMANIS, MAŁGORZATA DOSTATNI, JAN RUCIŃSKI, EWELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA*

University of Gdansk, Faculty of Biology, Department of Animal and Human Physiology

The intestinal microbiota is a set of microorganisms that live mainly in the large intestine and influences many organism functions by affecting numerous metabolic and neuronal pathways. It is possible mainly through microbiota metabolites: short-chain fatty acids (SCFA), vitamins and neurotransmitters. The microbiome modulates the metabolism of certain neurotransmitters, especially serotonin, and also affects the SCFA and the brain-derived trophic factor (BDNF) levels, thereby contributing to cognitive, emotional and behavioral processes regulation. Prebiotics are indigestible nutrients that stimulate the growth and activity of bacteria with a beneficial effect on the human body (probiotics). Prebiotics affect the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity which is associated with the release of stress hormones. It also has been shown that specific bacterial strains can exhibit anxiolytic effects, which means that supplementation with probiotics or prebiotics can significantly reduce anxiety level. These effects are related to the gut-brain axis, the two-way signaling pathway between the gastrointestinal tract and the nervous system, involving a complex network of metabolic, endocrine, immune and neuronal components. The use of anti-anxiety drugs, which are often associated with many side effects, can be limited by taking advantage of the anxiolytic potential of modifying the gut microbiota composition. In addition, research on the relationship between anxiety, microbiome and gut-brain axis as well as verification of the therapeutic properties of pre- and probiotics allow a better understanding of the anxiety disorders problem, giving hope for the new methods development which can prevent and/or treat these disorders.

## DIETA DLA MÓZGU – CO LUBIĄ NASZE NEURONY?

SANDRA ROMANIS, MAŁGORZATA DOSTATNI, JAN RUCIŃSKI, EWELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka

Pokarm, który spożywamy ma bardzo istotne znaczenie dla naszego zdrowia i funkcjonowania układu nerwowego. Dietą można wpływać na wydajność intelektualną i stan emocjonalny. Dzieje się to przede wszystkim za sprawą dostarczanych witamin i minerałów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania, ale także dzięki znajdującym się w pożywieniu związkom aktywnym regulującym wiele szlaków metabolicznych i wykazującym pozytywny wpływ na organizm, m.in. poprzez działanie antyoksydacyjne. Dieta prowadzi także do zmian epigenetycznych, które mają ogromne znaczenie nie tylko dla naszego zdrowia, ale także dla naszych potomków. Wykazano, że zbilansowana dieta bogata w prozdrowotne związki spowalnia starzenie się mózgu, zmniejsza stan zapalny i neurodegenerację, dzięki czemu obniża ryzyko rozwoju chorób neurologicznych. Niezbędnymi składnikami dla prawidłowego funkcjonowania neuronów są m.in. witaminy z grupy B, magnez, kwasy tłuszczowe omega-3 (głównie kwas dokozaheksaenowy, DHA), aminokwasy egzogenne i antyoksydanty. Istotny wpływ mają także dodatki do diety, takie jak herbaty i zioła zawierające wiele dobroczynnych związków bioaktywnych oraz minerałów. Ponadto znaczenie ma także ilość spożywanego jedzenia, potwierdzono, że restrykcje kaloryczne mają działanie przeciwstarzeniowe i przeciwzapalne. Ważne jest również dbanie o prawidłowy stan jelit i mikrobioty jelitowej, która za pośrednictwem osi jelitowo-mózgowej oddziałuje na ośrodkowy układ nerwowy, modulując zachowanie, nastrój oraz wyższe funkcje poznawcze. Warto podkreślić, że aż 90% serotoniny, zwanej powszechnie „hormonem szczęścia” powstaje właśnie w jelitach. W wielu badaniach wykazano, że stosowanie probiotyków istotnie wpływa na stan psychiczny oraz funkcje kognitywne.

## DIET FOR THE BRAIN – WHAT FOOD IS GOOD FOR OUR NEURONS?

*SANDRA ROMANIS, MAŁGORZATA DOSTATNI, JAN RUCIŃSKI, EWELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA*

University of Gdansk, Faculty of Biology, Department of Animal and Human Physiology

The food we eat is very important for our health and the nervous system functions. Diet can influence intellectual productivity and emotional state. This is mainly due to the supplied vitamins and minerals necessary for proper functioning, but also due to the active compounds found in food which regulate many metabolic pathways and demonstrate a positive effect on the organism, e.g. through antioxidant activity. Diet also leads to epigenetic changes which have a great importance not only to our health, but also to our descendants. It has been shown that balanced diet rich in health-promoting compounds slows down the aging of the brain, reduces inflammation and neurodegeneration, and thus lowers the risk of neurological diseases development. Necessary ingredients for the proper functioning of neurons including B vitamins, magnesium, omega-3 fatty acids (mainly docosahexaenoic acid, DHA), exogenous amino acids and antioxidants. Dietary supplements, such as teas and herbs containing many beneficial bioactive compounds and minerals, also have a significant impact. Furthermore the amount of consumed food is also important – it has been confirmed that caloric restriction demonstrates anti-aging and anti-inflammatory effects. Taking care of the intestines and intestinal microbiota proper condition it is also important because microbiome can affect the central nervous system modulating behavior, mood and higher cognitive functions through the gut-brain axis. It is worth emphasizing that up to 90% of serotonin, commonly known as the ‘happiness hormone’, is produced in the intestines. Many studies have shown that the use of pro and prebiotics has a significant impact on the mental state and cognitive functions.

## WPŁYW ZWIĄZKÓW EPIGENETYCZNYCH NA RÓŻNICOWANIE KOMÓREK W OSTREJ BIAŁACZCE SZPIKOWEJ (AML)

MAŁGORZATA PALUSIŃSKA, RAFAŁ SKOPEK, ŁUKASZ SZYMAŃSKI, ARTUR ZEŁENT

Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN, Postępu 36A, 05-552 Magdalena, Polska

Ostre białaczki szpikowe (AML, *acute myeloid leukemia*) to klonalne nowotwory układu krwiotwórczego, które w większości przypadków pozostają nieuleczalne. Terapia AML nie zmieniła się w ciągu ostatnich czterech dekad, a choroba jest dalej bardzo śmiertelna. Badania pokazują, że sygnalizacja kwasu all-trans-retinowego (ATRA) odgrywa ważną rolę w różnicowaniu mielomonocytów i jest dobrym celem terapii ostrej białaczki promielocytowej (APL, *acute promyelocytic leukemia*, jeden z podtypów AML). Niestety, dla pacjentów z innymi podtypami, ATRA ma niewielkie znaczenie w terapii. Niewiele wiadomo o mechanizmach oporności na ATRA w AML innych niż APL. Ta luka w wiedzy ogranicza stosowanie ATRA w chorobie, która desperacko potrzebuje nowych terapii.

Głównym celem naszych badań jest opracowanie nowatorskich i skuteczniejszych metod leczenia AML poprzez wyjaśnienie podstawowych mechanizmów molekularnych leżących u podstaw jej patogenezy. W tym celu zidentyfikowaliśmy małe cząsteczki, które wzmacniają lub hamują sygnalizację ATRA, przeszukując bibliotekę małych cząsteczek ukierunkowanych na regulatory epigenetyczne. Nasze badania umożliwią skuteczne zastosowanie terapii opartych na retinoidach w ostrej białaczce szpikowej innej niż APL.

Finansowanie: projekt OPUS17 nr. 2019/33/B/NZ5/02399 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki.

## EFFECT OF EPIGENETIC COMPOUNDS ON CELL DIFFERENTIATION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA (AML)

MAŁGORZATA PALUSIŃSKA, RAFAŁ SKOPEK, ŁUKASZ SZYMAŃSKI, ARTUR ZELEN

Department of Molecular Biology, Institute of Genetics and Animal Biotechnology, Polish Academy of Science, Postępu 36A, 05-552 Magdalenka, Poland

Acute myeloid leukemias (AML) are clonal hematopoietic malignancies that in most cases remain incurable. AML therapy has not changed in the last four decades and the disease remains unacceptably fatal. Research shows that all-*trans*-retinoic acid (ATRA) signaling plays an important role in myelomonocytic differentiation and is a good target for acute promyelocytic leukemia (APL, one of the AML subtypes) therapy. However, unfortunately for patients with other subtypes, ATRA has little effect in non-APL AML. Little has been known about mechanisms of resistance to ATRA in non-APL AML. This knowledge gap limits the use of ATRA in a disease that desperately needs new therapies.

The main aim of our research is to develop novel and more effective therapeutic approaches to AML through elucidation of the basic molecular mechanisms underlying its pathogenesis. For this, we identified small molecules that potentiate or inhibit ATRA signaling by screening a library of small molecules targeting epigenetic regulators. Our research will enable the effective use of retinoid-based therapies in non-acute promyelocytic leukemia (non-APL) AML.

Funding: project OPUS17 no. 2019/33/B/NZ5/02399 supported by National Science Centre.



## SORPCJA LEKÓW PRZECIWWIRUSOWYCH NA BIEWĘGLACH

AGNIESZKA KRZYSZCZAK<sup>1,2</sup>, BOŻENA CZECH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II w Lublinie, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, plac Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, Polska

Lopinawir (LPV) i rytonawir (RNV) należą do grupy leków przeciwwirusowych testowanych w terapii infekcji ludzkimi wirusami niedoboru odporności (HIV) [1] i w zapobieganiu przenoszenia HIV na linii matka-dziecko podczas karmienia piersią [2]. Ponadto, wpływają one na proteolizę w cyklu replikacyjnym koronawirusa, dlatego ich połączenie było rekomendowane w Chinach do leczenia zapalenia płuc wywołanego przez SARS-CoV-2 [3]. Z powodu wszechobecności leków przeciwwirusowych spowodowanej ich zwiększonym zastosowaniem, problematyka dotycząca ich utylizacji jest aktualna i bardzo istotna. Celem eksperymentu była ocena efektywności sorpcji w procesie usuwania LPV i RNV z wody i ścieków. Przeprowadzono optymalizację procesu sorpcji leków przeciwwirusowych na biewęglu otrzymanym w wyniku termicznego rozkładu biomasy (liściasto-iglastych odpadów drzewnych) w temperaturze 600°C. Dokonano oceny szeregu parametrów sorpcyjnych, tj. czas, pH, wpływ jonów takich jak chlorki, azotany(V), węglany i siarczany(VI), jak również wpływ rozpuszczonej materii organicznej (kwas taninowy). W badaniach określono kinetykę procesu i dopasowanie do modeli pseudo-pierwszo- oraz pseudo-drugorzędowego. Sprawdzono również przebieg izotermi adsorpcji, a otrzymane dane zostały dopasowane do modeli Langmuira, Freundlicha, Dubinin-Radishkevicha i Temkina. Dodatkowo, przeprowadzono proces adsorpcji analitów na biewęglu z próbek rzeczywistych (woda kranowa, oczyszczone ścieki). Analiza ilościowa została wykonana za pomocą chromatografii cieczowej z detektorem DAD (z ang. diode array detector). Wyniki wskazują, że mechanizmy sorpcji LPV i RNV na biewęglu uzyskały najlepsze dopasowanie do modeli Temkina i Freundlicha. Natomiast, pojemności sorpcyjne wynosiły: 130.9 mg g<sup>-1</sup> dla LPV i 116.7 mg g<sup>-1</sup> dla RNV.

### Literatura:

- [1] Ellinger, B., Bojkova, D., Zaliani, A. i in., 2021. A SARS-CoV-2 cytopathicity dataset generated by high-content screening of a large drug repurposing collection. *Sci Data* 8, 70. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-00848-4>.
- [2] Nagot, N., Singata-Madliki, M., Cournil, A. i in., 2021. Growth, clinical and neurodevelopmental outcomes at school age are similar for children who received 1-year lamivudine or lopinavir/ritonavir HIV prophylaxis in early life. *Sci Rep* 11, 3173. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82762-8>.
- [3] Choudhary, J., Dheeman, S., Sharma, V. i in., 2021. Insights of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV-2) pandemic: a current review. *Biol Proced Online* 23, 5. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00141-5>

## THE SORPTION OF ANTIVIRAL DRUGS ON BIOCHAR

AGNIESZKA KRZYSZCZAK<sup>1,2</sup>, BOŻENA CZECH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Institute of Biological Sciences, Department of Chemistry, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>2</sup>Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, Faculty of Chemistry, Institute of Chemical Sciences, Department of Radiochemistry and Environmental Chemistry, 3 Maria Curie-Skłodowska Sq., 20-031 Lublin, Poland

Lopinavir (LPV) and ritonavir (RNV) are antiviral drugs intensively tested in the therapy of human immunodeficiency viruses (HIV) infections [1] and prevention of postnatal mother-to-child HIV transmission through breastfeeding [2]. Moreover, they affect the proteolysis in the coronavirus replication cycle. Thus, their combination was recommended for the treatment of pneumonia caused by SARS-CoV-2 in China [3]. Due to the omnipresence of antiviral drugs which is connected with increased usage, the problem of their disposal is actual and substantial. Our experiment aimed to evaluate the sorption effectiveness in the decontamination of water and wastewater contaminated with LPV and RNV. The optimization of the sorption of antiviral drugs onto biochar obtained via thermal decomposition of biomass (mixed deciduous and coniferous tree wastes) at 600°C was conducted. Adsorption affinity of the pyrolyzed material towards LPV and RNV was tested in a batch (static) system. Several adsorption parameters were estimated: time, pH, the effect of influencing ions such as chlorides, nitrates, carbonates, and sulfates as well as the influence of dissolved organic matter (tannic acid). The kinetics of adsorption was evaluated by both pseudo-1st and pseudo-2nd order reaction equations. The course of the sorption isotherms was also assessed. The experimental data were matched with Langmuir, Freundlich, Dubinin-Radishkevich, and Temkin models. Moreover, optimized parameters were applied during the adsorption of the analytes onto biochar in the real samples (tap water, treated wastewater). The antiviral drugs were quantified using liquid chromatography with DAD (diode array detector). Briefly, the results indicated that the sorption mechanisms of LPV and RNV onto biochar were characterized by Temkin and Freundlich models, respectively. The adsorption capacities amounted to 130.9 mg g<sup>-1</sup> for LPV and 116.7 mg g<sup>-1</sup> for RNV.

### References:

- [1] Ellinger, B., Bojkova, D., Zaliani, A. et al., 2021. A SARS-CoV-2 cytopathicity dataset generated by high-content screening of a large drug repurposing collection. *Sci Data* 8, 70. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-00848-4>.
- [2] Nagot, N., Singata-Madliki, M., Cournil, A. et al., 2021. Growth, clinical and neurodevelopmental outcomes at school age are similar for children who received 1-year lamivudine or lopinavir/ritonavir HIV prophylaxis in early life. *Sci Rep* 11, 3173. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82762-8>.
- [3] Choudhary, J., Dheeman, S., Sharma, V. et al., 2021. Insights of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV-2) pandemic: a current review. *Biol Proced Online* 23, 5. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00141-5>

## TOKSYCZNOŚĆ POZOSTAŁOŚCI LEKÓW PRZECIWWIRUSOWYCH W PRÓBKACH ŚCIEKÓW OCZYSZCZONYCH RÓŻNYMI METODAMI

AGNIESZKA KRZYSZCZAK<sup>1,2</sup>, BOŻENA CZECH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II w Lublinie, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Radiochemii i Chemii Środowiskowej, plac Marii Skłodowskiej-Curie 2, 20-031 Lublin, Polska

Lopinawir (LPV) i rytonawir (RNV) są lekami przeciwwirusowymi. Są one również inhibitorami proteazy HIV-1, a ich działanie kombinowane było testowane w leczeniu SARS-CoV-2 [1]. Pozostałości LPV i RNV w wodzie i ściekach mogą wpływać na środowisko. Celem eksperymentu była ocena ich toksyczności względem: roślin (*Lepidium sativum* L.), bakterii morskich (*Allivibrio fischeri*) i ryb (*Danio rerio*). Zastosowano standardowe testy ekotoksykologiczne: fitotest, Microtox<sup>®</sup> i test oceniający kondycję *Danio rerio*. Pierwszy z nich charakteryzuje się przystępnością, niską ceną, prostotą, powtarzalnością i rzetelnością otrzymanych wyników. Do badań toksyn *in vitro* w różnych matrycach zastosowano Microtox<sup>®</sup>, który wykorzystuje bakterie bioluminescencyjne [2]. *Danio rerio* jest modelowym organizmem służącym do badania *in vivo* wpływu różnych czynników na kręgowce. Test jest czuły, prosty, przystępny i niezasochłonny (dzięki szybko rozwijającej się strukturze biologicznej) [3]. Podczas eksperymentu przetestowano wpływ obecności leku w wodzie destylowanej, w oczyszczonych ściekach po procesie fotolizy, fotokatalitycznego utleniania i ozonowania wód. Wyniki z fitotestu wskazują, że rozpuszczone w wodzie destylowanej leki są najbardziej toksyczne dla rośliny. Dzięki otrzymanym danym z Microtox<sup>®</sup> zaobserwowano, że usuwanie pozostałości LPV i RNV za pomocą ozonowania powoduje największe zahamowanie bioluminescencji bakterii. LPV, po procesach fotolizy, fotokatalizy i ozonowania, indukował śmierć lub karłowatość ryb *Danio rerio*, a pozostałości RNV nie wpływały na badane organizmy. Część otrzymanych danych jest przeciwna, dlatego w celu otrzymania rzetelnych wyników należy przeprowadzić kilka biotestów.

### Literatura:

[1] Nutho, B., Mahalapbutr, P., Hengphasatporn, K., Pattarangoon, N.C., Simanon, N., Shigeta, Y., Hannongbua, S., Rungrotmongkol, T., 2020. Why Are Lopinavir and Ritonavir Effective against the Newly Emerged Coronavirus 2019? Atomistic Insights into the Inhibitory Mechanisms. *Biochemistry* 12;59(18):1769-1779. doi: 10.1021/acs.biochem.0c00160.

- 
- [2] Czech, B., Krzyszczak, A., Boguszewska – Czubara, A., Opielak, G., Joško, I., Hojamberdiev, M., 2022, Revealing the toxicity of lopinavir- and ritonavir-containing water and wastewater treated by photo-induced processes to *Danio rerio* and *Allivibrio fischeri*, *Sci Total Environ.* 10, 824:153967. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153967
- [3] US EPA, 2019. Ecological Structure Activity Relationships (ECOSAR) Predictive Model. US EPA. <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/ecological-structure-activity-relationships-ecosar-predictive-model> (dostęp 6.25.21).

## THE TOXICITY OF ANTIVIRAL DRUGS RESIDUES IN WASTEWATER SAMPLES TREATED BY DIFFERENT METHODS

AGNIESZKA KRZYSZCZAK<sup>1,2</sup>, BOŻENA CZECH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Institute of Biological Sciences, Department of Chemistry, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>2</sup>Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, Faculty of Chemistry, Institute of Chemical Sciences, Department of Radiochemistry and Environmental Chemistry, 3 Maria Curie-Skłodowska Sq., 20-031 Lublin, Poland

Lopinavir (LPV) and ritonavir (RNV) belong to antiviral drugs. They are also HIV-1 protease inhibitors. Their combination was tested in the treatment of SARS-CoV [1]. The residues of LPV and RNV in water and wastewater may affect the environment. The study aimed to evaluate the toxicity of LPV and RNV residues on the three types of organisms: plant (*Lepidium sativum* L.), marine bacteria (*Allivibrio fischeri*), and freshwater zebrafish (*Danio rerio*). To achieve these objectives, the standardized ecotoxicological tests were applied, i.e. phytotest, Microtox<sup>®</sup>, and the test evaluating the condition of *Danio rerio*. The first one is characterized by accessibility, simplicity of experiments, profitability, reproducibility, and reliability of the results. Microtox<sup>®</sup> is a system using sensitive bioluminescent bacteria for *in vitro* studies of toxins in various matrices [2]. Whereas, zebrafish is a model organism for investigating *in vivo* effects of different treatments on vertebrates owing to its sensitivity, affordability, simplicity, and fully developed biological structures growing in a short time [3]. In our experiment, several samples were prepared, i.e. drug dissolved in distilled water, wastewater treated for 1 hour with photolysis, photocatalysis, and ozonation. The results considering phytotest indicate that the most toxic were dissolved drugs in distilled water. Experimental data obtained from Microtox<sup>®</sup> revealed that ozonation caused the highest suppression of bioluminescence considering both antiviral drugs. The residues of LPV after photolysis, photocatalysis, and ozonation caused death or dwarfism of zebrafish, whereas the residues of RNV did not affect *Danio rerio*. Some of the data are divergent. Thus, several bioassays should be carried out to obtain reliable results.

### References:

[1] Nutho, B., Mahalapbutr, P., Hengphasatporn, K., Pattarangoon, N.C., Simanon, N., Shigeta, Y., Hannongbua, S., Rungrotmongkol, T., 2020. Why Are Lopinavir and Ritonavir Effective against the Newly Emerged Coronavirus 2019? Atomistic Insights into the Inhibitory Mechanisms. *Biochemistry* 12;59(18):1769-1779. doi: 10.1021/acs.biochem.0c00160.

- 
- [2] Czech, B., Krzyszczak, A., Boguszewska-Czubara, A., Opielak, G., Joško, I., Hojamberdiev, M., 2022, Revealing the toxicity of lopinavir- and ritonavir-containing water and wastewater treated by photo-induced processes to *Danio rerio* and *Allivibrio fischeri*, *Sci Total Environ.* 10, 824:153967. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.153967
- [3] US EPA, 2019. Ecological Structure Activity Relationships (ECOSAR) Predictive Model. US EPA. <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/ecological-structure-activity-relationships-ecosar-predictive-model> (dostęp 6.25.21).

## WPŁYW WYBRANYCH SUBSTANCJI PODAWANYCH DROGĄ PARENTERALNĄ NA SZCZELNOŚĆ I PARAMETRY MORFOLOGICZNE CHIRURGICZNEGO ZESPOLENIA JELITA GRUBEGO U SZCZURÓW

ALEKSANDRA GÓRSKA<sup>1</sup>, PAULINA WDOWIAK<sup>1</sup>, AGNIESZKA MARKIEWICZ-GOSPODAREK<sup>1</sup>,  
JERZY BEDNARSKI<sup>1</sup>, ZUZANNA CHILIMONIUK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra Anatomii Człowieka, Zakład Anatomii Prawidłowej,

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Medycyny Rodzinnej

Od kilku lat prowadzone są na całym świecie badania nad stanem zespożeń jelitowych po zabiegach resekcyjnych. Wykonywane są one głównie z powodu chorób nowotworowych oraz w części przypadków w zaawansowanych stadiach nieswoistych zapaleń jelit. Resekcje częściowe wykonywane są także w przypadkach zmian martwiczych spowodowanych skrętem jelita, czy zatorom gałęzi tętnicy krezkowej. Po większości zabiegów konieczne jest wdrożenie dodatkowego leczenia, które przy minimalnym obciążeniu dla chorego gwarantowałoby największy odsetek wyleczeń. W przypadku chorób rozrostowych najczęstszą metodą jest następcza chemio- lub radioterapia, a w przypadku chorób zapalnych sterydoterapia miejscowa i ogólna. Dodatkowo w użyciu są leki immunomodulujące, które łączy się z konwencjonalną terapią, dla zwiększenia jej efektu. W niewielu jednak pracach poruszany jest wpływ leków na stan miejscowy zespolenia i gojenie się rany po zabiegu operacyjnym. Na podstawie badań morfometrycznych i testów fizycznych oceniono wpływ wybranych leków na stan eksperymentalnej anastomozy w jelicie grubym u szczurów. Badania przeprowadzono na 60-ciu dwumiesięcznych szczurach rasy Wistar. Polegało ono na wykonaniu u tych osobników doświadczalnego zespolenia na okrężnicy wstępującej, a następnie na systemowym podawaniu wybranych leków i badaniu ich wpływu na zespolenie. Wybrane parametry oceniano po 4-, 7- i 14-tu dniach od zabiegu operacyjnego na jelicie grubym. Zwierzęta do planowanego cyklu doświadczalnego podzielono na 4 grupy po 15 osobników każda. W poszczególnych grupach podawano sól fizjologiczną, interferon, steryd lub lek cytostatyczny. Kolejnym etapem była ocena szczelności anastomozy i jej analiza morfometryczna. W preparatach mierzono ilość aktywnych krypt jelitowych/mm, ilość nieaktywnych krypt jelitowych/mm, całkowitą ilość krypt jelitowych/mm, grubość błony śluzowej, grubość błony podśluzowej, grubość mięśniówki, wymiar fraktalny błony śluzowej i wymiar fraktalny tkanki łącznej. Badane substancje najwyraźniej oddziaływały na grubość błony



podśluzowej, powodując jej ścieńczenie. Sterydoterapia i immunoterapia zmieniły przebudowę tkanki łącznej, co również miało istotny wpływ na stan i wytrzymałość anastomozy. Użyte środki zaburzały procesy regeneracyjne działając na każdy aspekt gojenia się zespolenia, a najbardziej wyraźne zmiany wywołało leczenie Dexavenem i Intronem A.



## INFLUENCE OF SELECTED PARENTERAL DRUGS ON TIGHTNESS AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF ENTEROANASTOMOSIS IN RATS

ALEKSANDRA GÓRSKA<sup>1</sup>, PAULINA WDOWIAK<sup>1</sup>, AGNIESZKA MARKIEWICZ-GOSPODAREK<sup>1</sup>, JERZY BEDNARSKI<sup>1</sup>, ZUZANNA CHILIMONIUK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair and Department of Human Anatomy,

<sup>2</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Student Scientific Group at the Department of Family Medicine

General surgery wards perform intestinal resections on patients with neoplastic processes or with advanced nonspecific intestinal inflammation. Partial resections of the intestines are also performed on patients with necrotic changes caused by intestinal torsion or embolism of the branches of the mesenteric artery. These types of surgeries often require additional treatment which should cause minimal load for the patient in the postoperative period in order to obtain the highest percentage of recoveries. In proliferative diseases chemo- and radiotherapy are the most commonly used methods of treatment whereas general and local steroid therapy are used in inflammatory diseases. Additionally, immunomodulating agents are used with conventional therapy to improve the therapeutic effect. The influence of selected agents on the status of experimental enteroanastomoses performed on the large intestine of rats was evaluated based on physical and morphometric tests. The study was performed on 60 Wistar rats. The rats were operated on to create an experimental anastomosis of the ascending colon. The animals were divided into 4 groups with 15 individuals in each group. Then we administered interferon, steroid, cytostatic agents to evaluate their effect on the status of the newly created intestinal anastomosis in each group of animals individually. The rats were dissected after the 4th, 7th and 14th days of the experimental cycle to evaluate the status of the enteroanastomosis. The tightness of the anastomosis was evaluated by examining the appearance of air in the area of the anastomosis. The most important and last part of the experiment was a morphometric analysis of the large intestine with the anastomosis. In preparations stained with hematoxylin and eosin the following parameters were evaluated: amount of active intestinal crypts/mm, amount of non-active intestinal crypts/mm, total amount of intestinal crypts/mm, thickness of the mucous membrane, thickness of the submucous membrane, thickness of the muscular layer, fractal dimension of the mucosal membrane, fractal dimension of conjunctive tissue. Under the influence of steroid agents tightness disorders of the anastomosis were observed. Steroid and immunotherapy changed the reconstruction of conjunctive tissue which significantly affected the status and



the resistance of the anastomosis. Intraperitoneal administration of selected therapeutical substances, especially Dexaven and Intron A have influenced the complete healing process of the anastomosis by disturbing the regenerative processes.

## ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY POLIMORFIZMEM GENU KLF-14 A POWIKŁANIAM I CHOROBYMI WSPÓLISTNIEJĄCYMI U CHORYCH NA CUKRZYCĘ TYPU 1

JULIA GŁADYSZ<sup>1</sup>, BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, AGATA MACIEJEWSKA<sup>1</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>,  
MAŁGORZATA MYŚLIWIEC<sup>2</sup>, PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra i Zakład Immunologii Medycznej; Dębinki 1; 80-211 Gdańsk; Poland

<sup>2</sup>Gdański Uniwersytet Medyczny; Wydział Lekarski; Katedra i Klinika Pediatrii, Diabetologii i Endokrynologii; Dębinki 7; 80-211 Gdańsk; Poland

### *Tło i cele*

Czynnik Krüppel-like 14 (KLF14) odgrywa ważną rolę w regulacji szlaków sygnalizacji komórkowej, proliferacji i różnicowaniu komórek, metabolizmie glukozy i lipidów, nowotworzenia i regulacji układu odpornościowego. Założyliśmy, iż polimorfizm genu KLF14 może mieć wpływ na ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 1 i/lub jej powikłań.

### *Metodyka*

Zbadaliśmy związek polimorfizmu genu rs4731702 KLF14 z powikłaniami T1D i chorobami współistniejącymi (nadwaga, otyłość, nadciśnienie, dyslipidemia, retinopatia, nefropatia) u 350 pacjentów.

### *Wyniki*

Kluczowe wyniki badań wskazują na:

- 1) Genotyp CC oraz allel C wiążą się ze zwiększonym ryzykiem nadwagi i otyłości, nadciśnienia i dyslipidemii;
- 2) Genotyp TT wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem nadwagi i otyłości, nadciśnienia i dyslipidemii;
- 3) polimorfizm genu rs4731702 *KLF14* modyfikuje stan zapalny oraz profil lipidowy u pacjentów z DM1.

### *Wnioski*

Chociaż wymagane są dalsze badania, nasze wyniki po raz pierwszy wskazują, że polimorfizm KLF14 można uznać za marker genetyczny do przewidywania zwiększonej podatności na niektóre powikłania i choroby współistniejące T1D.

Praca ta była wspierana przez Komitet Badań Naukowych ST49 (Gdański Uniwersytet Medyczny).

## ASSOCIATIONS OF *KLF14* POLYMORPHISM WITH COMPLICATIONS AND COMORBIDITIES IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES

JULIA GŁADYSZ<sup>1</sup>, BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, AGATA MACIEJEWSKA<sup>1</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, MAŁGORZATA MYŚLIWIEC<sup>2</sup>, PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Department of Medical Immunology; Dębinki 1; 80-211 Gdańsk; Poland

<sup>2</sup> Medical University of Gdańsk; Faculty of Medicine; Chair & Clinics of Paediatrics, Diabetology and Endocrinology; Dębinki 7; 80-211 Gdańsk; Poland

### **Background and Aims**

Krüppel-like factor 14 (*KLF14*) plays an important role in the regulation of cell signaling pathways, cell proliferation and differentiation, glucose and lipid metabolism, tumorigenesis and regulation of immune system. We hypothesize that *KLF14* gene polymorphism may have impact on the risk of type 1 diabetes (T1) and/or its complications.

### **Methods**

We have investigated the associations of the rs4731702 *KLF14* gene polymorphism with the T1D complications and comorbidities (overweight and obesity, hypertension, dyslipidemia, retinopathy, nephropathy) in 350 patients.

### **Results**

The key results of research indicate as follows:

- 1) CC genotype and C allele are associated with increased risk of overweight and obesity, hypertension and dyslipidemia;
- 2) TT genotype is associated with decreased risk of overweight and obesity, hypertension and dyslipidemia;
- 3) the rs4731702 *KLF14* gene polymorphism modifies the inflammatory status as well as lipid profile in DM1 patients.

### **Conclusions**

Although further studies are required, our results for the first time indicate that the *KLF14* polymorphism could be considered a genetic marker to predict the increased susceptibility to some T1D complications and comorbidities.

This work was supported by The State Committee for Scientific Research ST49 (Medical University of Gdańsk).

## ROLA WYBRANYCH NEUROPRZEKAŹNIKÓW W ETIOLOGII CHOROÓB NEUROPSYCHIATRYCZNYCH ORAZ NEURODEGENERACYJNYCH

MAŁGORZATA DOSTATNI, DOMINIKA PŁOTKA, SANDRA ROMANIS, JAN RUCIŃSKI, EWELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka

Neuroprzeekaźniki to grupa związków chemicznych, których głównym zadaniem jest przenoszenie sygnałów pomiędzy poszczególnymi neuronami bądź neuronem a komórkami gruczołowymi czy mięśniowymi. W wyniku powstałego w neuronie potencjału – sygnału elektrycznego – dochodzi do wytwarzania i uwalniania neurotransmiterów z pęcherzyków synaptycznych do przestrzeni synaptycznej, gdzie mogą one oddziaływać na specyficzne receptory znajdujące się na elemencie postsynaptycznym. W wielu przypadkach neuroprzeekaźnik znajdujący się w szczeliny synaptycznej ulega także późniejszemu wychwytowi zwrotnemu. Mechanizm wychwyty zwrotnego opiera się z kolei na reabsorpcji neuroprzeekaźnika ze szczeliny synaptycznej przez specyficzne transportery w celu jego ponownego wykorzystania bądź rozłożenia. Od tego mechanizmu zależy stężenie neurotransmitera w przestrzeni synaptycznej, a tym samym regulacja siły, z jaką pobudzane są receptory postsynaptyczne. Występuje wiele jednostek chorobowych, które powiązane są bezpośrednio lub pośrednio z nieprawidłowościami stężeń neurotransmiterów. Niedobór serotoniny i noradrenaliny ma ścisły związek z etiologią depresji oraz zaburzeń lękowych, a w ich leczeniu wykorzystuje się farmaceutyki, których działanie oparte jest na mechanizmie wychwyty zwrotnego. Wybrane substancje psychoaktywne hamują aktywność transporterów dopaminy, co przyczynia się do powstania stanu odurzenia oraz prowadzi do rozwoju uzależnienia. Zbyt wysokie stężenie glutaminianu jest obserwowane w stwardnieniu zanikowym bocznym, chorobie Alzheimera oraz chorobie Parkinsona, z kolei zaburzenia w ekspresji transporterów kwasu gamma-aminomasłowego odgrywają znaczącą rolę w genezie zaburzeń ze spektrum autyzmu, ale również schizofrenii. Zbyt niskie stężenie acetylocholino związane z niedoborem transporterów zostało stwierdzone w wielu chorobach neurodegeneracyjnych, m.in. w chorobie Huntingtona. Neuroprzeekaźniki, mechanizm wychwyty zwrotnego oraz transportery w nim uczestniczące odgrywają więc istotną rolę w patogenezie wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego, z drugiej jednak strony, są niezwykle ważnym celem terapii farmakologicznych niektórych z wymienionych zaburzeń.

## THE ROLE OF SELECTED NEUROTRANSMITTERS IN THE ETIOLOGY OF NEUROPSYCHIATRIC AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

MAŁGORZATA DOSTATNI, DOMINIKA PŁOTKA, SANDRA ROMANIS, JAN RUCIŃSKI, EWELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA

University of Gdansk, Faculty of Biology, Department of Animal and Human Physiology

Neurotransmitters are a group of chemical compounds which main task is to transfer signals between neurons or between neuron and glandular or muscle cells. Neurotransmitters are produced and released from synaptic vesicles to the synaptic gap as a result of the created potential in the neuron (an electrical signal). In the synaptic gap they can act on specific receptors on the postsynaptic element. In many cases, a neurotransmitter located in the synaptic gap also undergoes subsequent reuptake. The reuptake mechanism is based on the reabsorption of the neurotransmitter from the synaptic gap by specific transporters to reuse or degrade it. This mechanism determines the neurotransmitter concentration in the synaptic gap, and thus the regulation of the force with which postsynaptic receptors are stimulated. There are many diseases that are directly or indirectly related to neurotransmitters abnormal level. Serotonin and norepinephrine deficiency is closely related to the depression and anxiety disorders etiology, and their treatment engages pharmaceuticals which action is based on the reuptake mechanism. Selected psychoactive substances inhibit the dopamine transporters activity, which contributes to the intoxication and the addiction development. Too high glutamate concentration is observed in amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease and Parkinson's disease, while disturbances in the gamma-aminobutyric acid transporters expression play a significant role in the development of autism spectrum disorders, as well as schizophrenia. Too low acetylcholine concentration associated with the deficiency of its transporters has been found in many neurodegenerative diseases, including Huntington's disease. Thus, neurotransmitters, the reuptake mechanism and involved in it neurotransmitters transporters play an important role in the pathogenesis of many central nervous system diseases, and on the other hand, they are an extremely important target of pharmacological therapies for some of the mentioned disorders.

## WPŁYW TERAPII CITALOPRAMEM ORAZ INDYWIDUALNEJ CHARAKTERYSTYKI BEHAVIORALNEJ NA WYBRANE WSKAŹNIKI HEMATOLOGICZNE WE KRWI OBWODOWEJ SZCZURÓW W WARUNKACH HIPERAKTYWACJI CIAŁA MIGDAŁOWATEGO

MAŁGORZATA DOSTANI, JAN RUCIŃSKI, EWELINA KUROWSKA-RUCIŃSKA, SANDRA ROMANIS, FELIKS OLSZAŃSKI, MARTYNA BERNARD, DOROTA MYŚLIŃSKA, IRENA MAJKUTEWICZ  
Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka

Nadaktywność ciała migdałowatego (CA) jest jedną z kluczowych cech wielu zaburzeń związanych z lękiem i stresem, np. zaburzeń lękowych i depresji. 14-dniowa elektryczna stymulacja (ES) CA u szczurów prowadzi do powstania objawów charakterystycznych dla wymienionych zaburzeń. Określenie charakterystyki behawioralnej szczurów związanej z podatnością na stres jest możliwe dzięki testowi nowości, który mierzy aktywność ruchową w nowym otoczeniu i pozwala na określenie zwierząt jako wysokoaktywne (*high responders*, HR) oraz niskoaktywne ruchowo (*low responders*, LR), co koresponduje ze zróżnicowaniem w wielu aspektach, np. hormonalnym, immunologicznym czy behawioralnym. Citalopram (CIT) należy do selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny i stanowi jeden z najczęściej stosowanych leków przeciwłękowych i przeciwdepresyjnych. Oddziaływanie tego typu leków na parametry hematologiczne wciąż jest słabo poznane. Niniejsza praca ma na celu zbadanie czy CIT wpływa na poziom wybranych parametrów hematologicznych u szczurów poddanych długotrwałej ES CA oraz czy indywidualna charakterystyka behawioralna zwierząt również przyczynia się do tych zmian.

46 samcom szczurów Wistar podzielonych na osobniki HR i LR zaimplantowano elektrody do CA, a po okresie rekonwalescencji zwierzęta przydzielono losowo do 4 grup doświadczalnych: Stim (HR n=7, LR n=5) – poddanych 14-dniowej ES CA, Stim+CIT (HR n=6, LR n=6) – poddanych ES i 21-dniowej terapii CIT, Sham (HR n=7, LR n=4) – poddanych stymulacji pozornej oraz Sham+CIT (HR n=6, LR n=5) – poddanych stymulacji pozornej i terapii CIT.

Otrzymane wyniki sugerują, że terapia CIT wydaje się dodatkowo przyczyniać do obniżenia ogólnej liczby białych krwinek, w tym liczby limfocytów. Przyjmowanie CIT wywołuje również obniżenie liczby czerwonych krwinek. Szczury LR charakteryzuje wyższy poziom badanych parametrów w porównaniu do zwierząt HR, co może świadczyć o tym, że są mniej podatne na rozwój zaburzeń związanych ze stresem i lękiem.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2019/35/N/NZ4/00908 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## INFLUENCE OF CITALOPRAM THERAPY AND INDIVIDUAL BEHAVIORAL CHARACTERISTICS ON SELECTED PERIPHERAL BLOOD HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS WITH AMYGDALA HYPERACTIVATION

MAŁGORZATA DOSTANI, JAN RUCIŃSKI, EWELENA KUROWSKA-RUCIŃSKA, SANDRA ROMANIS, FELIKS OLSZAŃSKI, MARTYNA BERNARD, DOROTA MYŚLIŃSKA, IRENA MAJKUTEWICZ  
University of Gdansk, Faculty of Biology, Department of Animal and Human Physiology

Amygdala (Amg) hyperactivity is one of the key features of many anxiety and stress related disorders, such as anxiety disorders and depression. 14-day electrical stimulation (ES) of the Amg in rats leads to symptoms characteristic of the above-mentioned disorders. Determining the rats behavioural characteristics related to stress susceptibility is possible due to the novelty test, which measures motor activity in a new environment and allows to define animals as high responders (HRs) and low responders (LRs), which corresponds to differentiation in many aspects, e.g. hormonal, immunological and behavioural. Citalopram (CIT) is one of the selective serotonin reuptake inhibitors and is also one of the most commonly used anti-anxiety and antidepressant drugs. The influence of this type of drugs on hematological parameters is still poorly understood. The aim of this work is to investigate whether CIT influences the selected hematological parameters level in rats subjected to long-term ES of the Amg and whether the individual behavioural characteristics of animals also contribute to these changes.

46 male Wistar rats divided into HRs and LR were implanted electrodes into the Amg, and after the recovery, animals were randomly assigned to 4 experimental groups: Stim (HR n = 7, LR n = 5) – subjected to 14-day ES of the Amg, Stim + CIT (HR n = 6, LR n = 6) – subjected to ES and 21-day CIT therapy, Sham (HR n = 7, LR n = 4) – subjected to sham stimulation and Sham + CIT (HR n = 6, LR n = 5) – subjected to sham stimulation and CIT therapy.

The obtained results suggest that CIT therapy seems to additionally contribute to reducing the total number of white blood cells, including the number of lymphocytes. Receiving CIT also causes the number of red blood cells reduction. LR rats are characterized by a higher level of the tested parameters compared to HR animals, which may indicate that they are less susceptible to the development of stress and anxiety disorders.

The work is the result of the research project 2019/35/N/NZ4/00908 funded by the National Science Center.



## WALIDACJA METODY OZNACZANIA WYBRANYCH BISFENOLI ZA POMOCĄ UHPLC-MS/MS

WOJCIECH FLIEGER<sup>1</sup>, TOMASZ ŚNIEGOCKI<sup>2</sup>, ALICJA FORMA<sup>3</sup>, JACEK BAJ<sup>1</sup>, RYSZARD MACIEJEWSKI<sup>1</sup>, ELŻBIETA RADZIKOWSKA<sup>4</sup>, JOLANTA FLIEGER<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra Anatomii Człowieka, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 4

<sup>2</sup> Państwowy Instytut Weterynaryjny, Zakład Farmakologii i Toksykologii, 24-100 Puławy, ul. Aleja Partyzantów 57

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 8b

<sup>4</sup> Centralny Szpital Kliniczny MSWiA w Warszawie, 02-507 Warszawa, ul. Wołoska 137

<sup>5</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii, 20-093 Lublin ul. Chodźki 4A

Bisfenol A (BPA) jest związkiem aktywnym endokrynnie (EDC). Wykazano, że narażenie człowieka na BPA ma wpływ na reprodukcję, czynność tarczycy, nadciśnienie, cukrzycę, otyłość [1]. Według Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (US EPA) dopuszczalna dawka BPA to 50 µg/kg masy ciała/dobę [2]. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) oszacowała średnie spożycie bisfenolu A, obecnego w produktach spożywczych, na 0,04 – 0,40 µg/kg/dzień. BPF to analog PBA, który jest także stosowany w produkcji m.in. opakowania do żywności, uszczelniaczy i kompozytów dentystycznych. BPA jest wykrywany w moczu i surowicy krwi, co wskazuje na fakt, że ekspozycja na ten związek jest powszechna. W pracy przedstawiono walidację metody ultrawysokosprawnej chromatografii cieczowej-MS/MS (UHPLC-MS/MS) do identyfikacji i ilościowego oznaczenia dwóch podstawowych bisfenoli tj. BPA i BPF. Rozdział chromatograficzny osiągnięto na kolumnie C18 przy użyciu elucji gradientowej: A- 0,5% izopropanol w 0,1% kwasie mrówkowym, i B-metanol, który monitorowano w trybie MRM. Metoda była liniowa w zakresie 0,25 µg g<sup>-1</sup> do 20,0 µg g<sup>-1</sup>, przy zadowalających współczynnikach korelacji (R<sup>2</sup>) powyżej 0,98. Odzysk analitów mieścił się w zakresie od 99,9% do 104,3%, a precyzja i precyzja pośrednia wyrażona we względnych odchyleniach standardowych (RSD%) była mniejsza niż 5%. Do oznaczeń ilościowych zastosowano metodę wzorca wewnętrznego (IS), którym był BPA-d16.

### Literatura:

[1] Teppala, S., Madhavan, S., Shankar, A., 2012. Int J Endocrinol. 2012:598180.

[2] USEPA-IRIS, Bisphenol A. Quickview [http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm?Fuseaction=Liris.showQuickview&substance\\_nmbr=L0356](http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm?Fuseaction=Liris.showQuickview&substance_nmbr=L0356). Accessed Nov 2014.

## VALIDATION OF THE METHOD OF DETERMINING SELECTED BISPHENOLS USING UHPLC-MS/MS

WOJCIECH FLIEGER<sup>1</sup>, TOMASZ ŚNIEGOCKI<sup>2</sup>, ALICJA FORMA<sup>3</sup>, JACEK BAJ<sup>1</sup>, RYSZARD MACIEJEWSKI<sup>1</sup>, ELŻBIETA RADZIKOWSKA<sup>4</sup>, JOLANTA FLIEGER<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair and Department of Anatomy, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 4

<sup>2</sup> National Veterinary Research Institute, Department of Pharmacology and Toxicology, 24-100 Puławy, ul. Aleja Partyzantów 57

<sup>3</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair and Department of Forensic Medicine, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 8b

<sup>4</sup> Central Clinical Hospital of the MSWiA in Warsaw, Department of Plastic Surgery, 02-507 Warsaw, ul. Wołoska 137

<sup>5</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, Chair of Chemistry, 20-093 Lublin ul. Chodźki 4A

Bisphenol A (BPA) is an endocrine active compound (EDC). It has been shown that human exposure to BPA has an impact on reproduction, thyroid function, hypertension, diabetes and obesity [1]. According to the US Environmental Protection Agency (US EPA), the permissible dose of BPA is 50 µg/kg body weight / day [2]. The World Health Organization (WHO) estimated the average consumption of bisphenol A, present in food products, at 0.04-0.40 µg/kg/day. BPF is an analog of PBA, which is also used in the production of, among others packaging for food, sealants and dental composites. BPA is detected in urine and blood serum, indicating that exposure to this compound is common. The paper presents the validation of the ultra-high performance liquid chromatography-MS / MS (UHPLC-MS / MS) method for the identification and quantification of two basic bisphenols, ie BPA and BPF. Chromatographic separation was achieved on a C18 column using a gradient elution: A- 0.5% isopropanol in 0.1% formic acid, and B-methanol which was monitored under MRM mode. The method was linear in the range of 0.25 µg g<sup>-1</sup> to 20.0 µg g<sup>-1</sup>, with satisfactory correlation coefficients (R<sup>2</sup>) above 0.98. The recovery of the analytes ranged from 99.9% to 104.3%, and the precision and intermediate precision expressed in relative standard deviations (RSD%) was less than 5%. The internal standard (IS) method, which was BPA-d16, was used for quantification.

### References:

- [1] Teppala, S., Madhavan, S., Shankar, A., 2012. Int J Endocrinol. 2012:598180.
- [2] USEPA-IRIS, Bisphenol A. Quickview [http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm?Fuseaction=Liris.showQuickview&substance\\_nmbr=0356](http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm?Fuseaction=Liris.showQuickview&substance_nmbr=0356). Accessed Nov 2014.

## WYKORZYSTANIE NANOCZĄSTEK SREBRA (AgNPs) W BADANIU AKTYWNOŚCI ANTYOKSYDACYJNEJ EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH

WOJCIECH FLIEGER<sup>1</sup>, ALICJA FORMA<sup>2</sup>, JACEK BAJ<sup>1</sup>, RYSZARD MACIEJEWSKI<sup>1</sup>, ELŻBIETA RADZIKOWSKA<sup>3</sup>, JOLANTA FLIEGER<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra Anatomii Człowieka, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 4

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 8b

<sup>3</sup> Centralny Szpital Kliniczny MSWiA w Warszawie, 02-507 Warszawa, ul. Wołoska 137

<sup>4</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii, 20-093 Lublin ul. Chodźki 4A

Nanotechnologia rozwija się intensywnie zyskując coraz szersze zastosowania w medycynie m.in. diagnostyce obrazowej, ale również procedurach terapeutycznych, jak celowany transport leków lub fototermalna terapia plazmonowa (PPTT). Cechą NPs jest m.in. zdolność rozpraszania i absorpcji światła, związanego z oscylacją elektronów na ich powierzchni, znaną, jako zjawisko zlokalizowanego powierzchniowego rezonansu plazmonowego (LSPR). Ponieważ molowe współczynniki absorpcji nanocząstek są bardzo wysokie, to testy z ich udziałem mają wysoką czułość. Zastosowanie Ag NPs do oceny aktywności antyoksydacyjnej opracowali M.Özyürek i wsp. [1]. Metoda, zwana silver nanoparticle-based assay (SNPAC) zakładała syntezę zarodków NPs przez redukcję  $\text{Ag}^+$  cytrynianem trisodu. Pod wpływem przeciwutleniaczy zawiesina wykazuje wzrost absorpcji (SPR) przy 423 nm, co pozwala na ocenę aktywności antyoksydantów. Powiększanie AgNPs wiąże się także ze zmianą barwy z żółtego na żółtawo-brązowy. W pracy przygotowano ekstrakty wodne z ziół i kwiatów roślin (*Lamium purpureum*, *Urtica dioica*, *Taraxacum officinale*, *Chelidonium majus*, *Papaver rhoeas*, *Tanacetum vulgare*, *Hypericum perforatum*, *Achillea millefolium*, *Myosotis arvensis*). Pomiar aktywności antyoksydacyjnej wykonano metodą SNPAC. Total Antioxidant Capacity (TAC) wyrażono w postaci równoważników substancji referencyjnych (witamina C, Trolox, kwas galusowy) w mg/g surowca. Wyniki uzyskane metodą SNPAC porównano z wynikami metody potencjometrycznej polegającej na wyznaczeniu przesunięcia potencjału elektrody Pt umieszczonej w układzie mediatorowym (mieszanina  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) z elektroda kalomelową jako elektrodą odniesienia.

### Literatura:

[1] Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., Apak, R., 2012. Anal. Chem. 84(18):8052-9.

## THE USE OF SILVER NANOPARTICLES (AgNPs) IN TESTING THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS

WOJCIECH FLIEGER<sup>1</sup>, ALICJA FORMA<sup>2</sup>, JACEK BAJ<sup>1</sup>, RYSZARD MACIEJEWSKI<sup>1</sup>, ELŻBIETA RADZIKOWSKA<sup>3</sup>, JOLANTA FLIEGER<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair and Department of Anatomy, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 4

<sup>2</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair and Department of Forensic Medicine, 20-090 Lublin, ul. Jaczewskiego 8b

<sup>3</sup> Department of Plastic Surgery, Central Clinical Hospital of the MSWiA in Warsaw, 02-507 Warsaw, ul. Wołoska 137

<sup>4</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, Chair of Chemistry, 20-093 Lublin ul. Chodźki 4A

Nanotechnology is developing intensively gaining wider and wider applications in medicine, including imaging diagnostics, but also therapeutic procedures, such as targeted drug transport or photothermal plasmon therapy (PPTT). A feature of NPs is, inter alia, the ability to scatter and absorb light related to the oscillation of electrons on their surface, known as the phenomenon of localized surface plasmon resonance (LSPR). Since the molar absorption coefficients of nanoparticles are very high, the tests with their participation are highly sensitive. The use of Ag NPs for the assessment of antioxidant activity was developed by M. Özyürek et al. [1]. The method called silver nanoparticle-based assay (SNPAC) assumed the synthesis of nucleation centers by reduction of  $\text{Ag}^+$  by trisodium citrate. Under the influence of antioxidants, the suspension shows an increase in absorption (SPR) at 423 nm, which allows the assessment of antioxidant activity. Enlargement of AgNPs is also associated with a color change from yellow to yellowish-brown. Water extracts of plants and flowers (*Lamium purpureum*, *Urtica dioica*, *Taraxacum officinale*, *Chelidonium majus*, *Papaver rhoeas*, *Tanacetum vulgare*, *Hypericum perforatum*, *Achillea millefolium*, *Myosotis arvensis*) were prepared in the study. Measurements of the antioxidant activity were performed using the SNPAC method. Total Antioxidant Capacity (TAC) was expressed as reference substances equivalents (vitamin C, Trolox, gallic acid) in mg / g of raw material. The results obtained by the SNPAC method were compared with the results of the potentiometric method consisting in determining the potential shift of the Pt electrode placed in the mediator system ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  mixture) with the calomel electrode as the reference electrode.

### References:

[1] Özyürek, M., Güngör, N., Baki, S., Güçlü, K., Apak, R., 2012. Anal Chem. 84(18):8052-9.

## WPŁYW CHOROBY ALZHEIMERA I OTĘPIENIA CZOŁOWO-SKRONIOWEGO NA ZACHOWANIA ANTYSPOŁECZNE

DOMINIKA PŁOTKA, MAŁGORZATA DOSTATNI, DOROTA MYŚLIŃSKA, WOJCIECH GLAC

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka

Wiedza na temat chorób neurodegeneracyjnych stale się rozwija i pomaga zrozumieć, że niektóre zachowania, które są uznawane w społeczeństwie za niepoprawne lub szkodliwe mogą mieć swoje podłoże nie w chorobach psychicznych, ale mogą być skutkiem zmian neurologicznych spowodowanych chorobami takimi jak: otępienie czołowo-skroniowe lub choroba Alzheimera. Wymienione postacie demencji, oprócz oczywistych objawów jak pogorszenie funkcji poznawczych czy pamięci, mogą skutkować również agresją lub brakiem zahamowań popędów seksualnych, które w społeczeństwie są uznawane za zachowania skrajnie niepoprawne. Celem pracy jest przegląd badań opisujących zjawisko występowania zachowań antyspołecznych u osób z chorobą Alzheimera i otępieniem czołowo-skroniowym. Zmiany osobowości, brak kontroli nad emocjami, problemy z mową czy problemy z rozpoznawaniem swoich bliskich są elementami choroby, które utrudniają życie codzienne, a czasami nawet uniemożliwiają samodzielne podejmowanie decyzji lub wykonywanie podstawowych czynności. Objawy te napędzają zachowania, które w mogą być uznawane za antyspołeczne. Odpowiedź, jaka może być geneza tego aspołecznego sposobu życia, można znaleźć, zagłębiając się w wiedzę na temat płatów czołowych i skroniowych mózgu i ich funkcji, a są one odpowiedzialne za mowę, odczuwanie emocji, przewidywanie konsekwencji działań, pamięć i wolę działania. Zaburzenia funkcji tych struktur mogą skutkować zmianami behawioralnymi. Ważną różnicą w zachowaniu osób z wyżej wymienionymi chorobami jest taka, iż osoby, u których zdiagnozowano chorobę Alzheimera często nie zdają sobie sprawy ze szkodliwości swoich działań, a u osób z otępieniem czołowo-skroniowym jest świadomość swoich czynów, lecz osoby te nie mogą zahamować szkodliwych czynności. Badania opisujące zachowania antyspołeczne jako skutek występowania choroby, ukazują pewne zachowania, które mogą być spowodowane zmianami w strukturach mózgu. Można w ten sposób stwierdzić, że istnieją predyspozycje do zachowań antyspołecznych u osób z chorobami neurodegeneracyjnymi.

## THE INFLUENCE OF ALZHEIMER'S DISEASE AND FRONTOTEMPORAL DEMENTIA ON ANTISOCIAL BEHAVIOR

*DOMINIKA PŁOTKA, MAŁGORZATA DOSTATNI, DOROTA MYŚLIŃSKA, WOJCIECH GLAC*

University of Gdańsk, Faculty of Biology, Department of Animal and Human Physiology

Knowledge of neurodegenerative diseases is constantly evolving and helps to understand that

some behaviors that are considered incorrect or harmful in society may not be due to mental illness, but may be due to neurological changes caused by diseases such as frontotemporal dementia or Alzheimer's disease. The above-mentioned forms of dementia, in addition to the obvious symptoms such as deterioration of cognitive functions or memory, may also result in aggression or lack of inhibition of sexual drives, which in society are considered to be extremely incorrect behavior. The aim of the study is to review the research describing the phenomenon of antisocial behavior in people with Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. Personality changes, lack of control over emotions, speech problems or problems with recognizing one's relatives are elements of the disease that make everyday life difficult and sometimes even make it impossible to make decisions or perform basic activities independently. These symptoms drive what may be considered anti-social behavior. The answer to the Genesis of this antisocial way of life can be found by delving into the knowledge of the frontal and temporal lobes of the brain and their functions, which are responsible for speech, feeling emotions, anticipating the consequences of actions, memory and will to act. Disturbances in the function of these structures can result in behavioral changes. An important difference in the behavior of people with the diseases mentioned above is that people diagnosed with Alzheimer's disease often do not realize the harmfulness of their actions, and people with frontotemporal dementia are aware of their actions, but they cannot stop the harmful activities. Research describing antisocial behavior as a result of disease shows certain behaviors that can be caused by changes in brain structures. Thus, it can be concluded that there are a predisposition to antisocial behavior in people with neurodegenerative diseases.

## ZWIĄZANE Z BIAŁKAMI ORAZ WOLNE METABOLITY TRP JAKO NOWE MARKERY RAKA ŻOŁĄDKA

KINGA OŹGA<sup>1</sup>, ILONA SADOK<sup>1</sup>, KATARZYNA GĘCA<sup>2</sup>, KAROL RAWICZ-PRUSZYŃSKI<sup>2</sup>, RADO-SŁAW MŁAK<sup>3</sup>, WOJCIECH POLKOWSKI<sup>2</sup>, MAGDALENA STANISZEWSKA<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II w Lublinie, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Chemii, Pracownia Zastosowań Metod Separacji i Spektroskopii,

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Klinika Chirurgii Onkologicznej, Radziwiłłowska 13, 20-080 Lublin, Poland;

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra Fizjologii Człowieka, Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin, Poland; email\*: magdalena.staniszevska@kul.pl

Rak żołądka jest jednym z najczęstszych nowotworów złośliwych. Aktywacja szlaku kinureninowego (kynurenine pathway, KP) oraz powstające z tryptofanu (Trp) metabolity wpływają na progres choroby przez co są ciekawym celem w diagnostyce i terapii. Celem obecnych badań była identyfikacja potencjału metabolitów Trp jako biomarkerów raka żołądka. Wybrane metabolity KP i Trp oznaczano w próbkach krwi i płynu otrzewnowego pobranych od pacjentów z nowotworem żołądka za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Zbadano korelacje stężenia metabolitów KP ze stopniem zaawansowania choroby (klasyfikacja TNM) oraz typem raka żołądka (klasyfikacja wg Laurena, typ jelitowy i rozlany). Związane z białkami metabolity jak kinurenina (Kyn) i 3-hydroksykinurenina (3HKyn) oznaczano metodą Western Blotting (WB) za pomocą swoistych przeciwciał monoklonalnych. Zaobserwowano korelacje pomiędzy stężeniem kwasu antranilinowego (AA) i Kyn w otrzewnowej a stopniem zaawansowania raka żołądka (TNM), natomiast we krwi wykazano zależność Kyn, 3HKyn i kwasu ksanturenowego (XA) czynnikami zaawansowania choroby. Zaobserwowano także potencjał poszczególnych metabolitów w określeniu typu raka żołądka. Przeciwciała anti-3HKyn reagowały w WB z białkami surowicy (30, 40 i 65 kDa) oraz płynu z otrzewnowego (40 – 50 kDa), a przeciwciała anti-Kyn reagowały z białkami o masie ~65 kDa. Wykazano korelację wolnych metabolitów KP ze stopniem zaawansowania i rodzajem raka żołądka, wskazując na ich potencjał jako biomarkery. We krwi i płynie z otrzewnej pacjentów z rakiem żołądka występują metabolity KP związane z białkami, co może powodować ich akumulację. Finansowanie: grant Interdyscyplinarny KUL (nr 15/2019, kierownik M. Staniszevska), Narodowe Centrum Nauki, OPUS13 (2017/25/B/NZ4/01198, kierownik M. Staniszevska); infrastruktura z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Rozwój Polski Wschodniej 2007-2013 (POPW.01.03.00-06-003/09-00).



## PROTEIN-BOUND AND PROTEIN-FREE TRP METABOLITES AS THE NEW MARKERS OF GASTRIC CANCER

KINGA OŹGA<sup>1</sup>, ILONA SADOK<sup>1</sup>, KATARZYNA GĘCA<sup>2</sup>, KAROL RAWICZ-PRUSZYŃSKI<sup>2</sup>, RADOSŁAW MŁAK<sup>3</sup>, WOJCIECH POLKOWSKI<sup>2</sup>, MAGDALENA STANISZEWSKA<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Institute of Biological Sciences, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland;

<sup>2</sup>Medical University of Lublin, Department of Surgical Oncology, Radziwiłłowska 13, 20-080 Lublin, Poland;

<sup>3</sup>Medical University of Lublin, Department of Human Physiology, Radziwiłłowska 11, 20-080 Lublin, Poland; \*email: magdalena.staniszevska@kul.pl

Gastric cancer (GC) is one of the most frequently occurring malignant tumors. Activation of the kynurenine pathway (KP) and generated metabolites of tryptophan (Trp) impact tumor progression and became attractive diagnostic and therapeutic targets. The goal of this work was to identify a potential of protein free and bound KP metabolites as GC biomarkers. The selected KP metabolites and Trp were evaluated in peritoneal fluids (ascitic) and in blood collected from GC patients using liquid chromatography-mass spectrometry. The level of metabolites was correlated with GC stage (TNM) and type according to Lauren (intestinal, diffuse). The protein-bound kynurenine (Kyn) and 3-hydroxykynurenine (3HKyn) were analyzed by Western Blotting with the specific monoclonal antibodies. Anthranilic acid (AA) and Kyn level in peritoneum correlated with the TNM factors, while in blood we found the correlation with Kyn, 3-hydroxykynurenine (3HKyn), and Xanthurenic acid (XA). There was also a potential of individual metabolites to distinguish between GC types. Immunochemical analysis with the anti-3HKyn antibody revealed reactivity with proteins of different size in serum (30, 40, 65 kDa) and peritoneum (40 – 50 kDa). Proteins with the molecular mass of ~65 kDa in serum and peritoneal fluid revealed reactivity with the anti-KYN antibody. The identified correlation of the protein-free KP metabolites with disease progression and GC type indicates a potential to become disease biomarkers. Protein modifications by Trp metabolites occur in the blood and peritoneal fluids of GC patients and can lead into the accumulation of these adducts. The study were supported by The John Paul II Catholic University of Lublin (CUL): Interdisciplinary grant (15/2019) for Magdalena Staniszevska (PI) and Internal grant for Ilona Sadok (PI); the Polish National Science Centre grant OPUS13 (2017/25/B/NZ4/01198) for Magdalena Staniszevska (PI); the equipment of CUL supported by the European Union from European Regional Development Fund under the Operational Programme Development of Eastern Poland 2007–2013 (POPW.01.03.00-06-003/09-00).



## WPŁYW DYSPERSJI CHITOZAN/KWAS HIALURONOWY/TiO<sub>2</sub> NA STRUKTURĘ BŁON DOPC

AGATA ŁADNIAK<sup>1,2</sup>, MAŁGORZATA JURAK<sup>2</sup>, KLAUDIA SZAFRAN<sup>2</sup>, KACPER PRZYKAZA<sup>2</sup>,  
AGNIESZKA EWA WIĄCEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, Laboratorium Optyki Rentgenowskiej, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii, Instytut Nauk Chemicznych, Katedra Zjawisk Międzyfazowych, pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin

Materiały wykorzystywane w przemyśle medycznym, kosmetycznym i farmaceutycznym, takie jak chitozan (Ch) i kwas hialuronowy (HA) i/lub tlenek tytanu (IV) (TiO<sub>2</sub>), muszą wykazywać odpowiednie właściwości fizykochemiczne. Przede wszystkim powinny być biokompatybilne, nietoksyczne i nie wywoływać reakcji alergicznych. Znanych jest wiele metod, które umożliwiają określenie biogodności w sposób bezpośredni. Jednakże, błony biologiczne tworzą bardzo złożone układy, więc ich wykorzystanie w badaniach sprawia wiele trudności. Rozwiązaniem tego problemu jest zastosowanie błon biomimetycznych, których właściwości fizykochemiczne są ściśle skorelowane z żywymi błonami.

Celem badań było określenie wpływu Ch, HA, i/lub TiO<sub>2</sub> na zachowanie błony zbudowanej z 1,2-dioleilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny (DOPC) przy użyciu techniki filmów Langmuira. Zastosowanie metody monowarstw Langmuira daje możliwość uzyskania informacji o oddziaływaniach występujących pomiędzy składnikami wodnego roztworu/dyspersji a cząsteczkami fosfolipidów tworzących modelową błonę biologiczną.

Badania polegały na rejestracji izoterm ciśnienia powierzchniowego w funkcji powierzchni przypadającej na cząsteczkę ( $\pi$ -A) dla monowarstw fosfolipidowych. Przeanalizowano kształt izoterm  $\pi$ -A oraz wartości modułu ściśliwości pod kątem biokompatybilności. Otrzymane wyniki wskazują, że zarówno polisacharydy Ch, HA, jak i nieorganiczny TiO<sub>2</sub> nieznacznie wpływają na strukturę monowarstw DOPC, ale jej nie zaburzają. Ich obecność wpływa na ułożenie głów i ogonów polarnych cząsteczek DOPC na granicy faz.

## INFLUENCE OF CHITOSAN/HYALURONIC ACID/TiO<sub>2</sub> DISPERSION ON THE STRUCTURE OF DOPC MEMBRANES

AGATA ŁADNIAK<sup>1,2</sup>, MAŁGORZATA JURAK<sup>2</sup>, KLAUDIA SZAFRAN<sup>2</sup>, KACPER PRZYKAZA<sup>2</sup>, AGNIESZKA EWA WIĄCEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Institute of Biology Sciences, Department of Chemistry, Laboratory of X-ray Optics, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Maria Curie-Skłodowska University, Faculty of Chemistry, Institute of Chemical Sciences, Department of Interfacial Phenomena, M. Curie-Skłodowska Sq. 3, 20-031 Lublin, Poland

Materials used in the medical, cosmetic, and pharmaceutical industries, such as chitosan (Ch) and hyaluronic acid (HA), and/or titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>), must possess appropriate physicochemical properties. First of all, they should be biocompatible, non-toxic, and do not cause allergic reactions. There are many known kinds of tests that directly enable the determination of biocompatibility. However, the biological membranes create very complex systems so their use in research leads to many difficulties. The resolution of this problem is to apply biomimetic membranes, which physicochemical properties are strictly correlated with living membranes.

The aim of the study was to determine the effect of Ch, HA, and/or TiO<sub>2</sub> on the behaviour of the 1,2-dioleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DOPC) membrane by using the Langmuir film technique. Application of the Langmuir monolayers method gives the possibility to obtain information on the interactions that occurred between the components of the aqueous solution/dispersion and the phospholipid molecules of the model biological membrane.

The research relied on the registration of surface pressure as a function of the area per molecule ( $\pi$ -A) isotherms for the phospholipid monolayers. The shape of the  $\pi$ -A isotherms, as well as the compression modulus values, were analysed in terms of biocompatibility. The obtained results show that both polysaccharides Ch, HA, as well as inorganic TiO<sub>2</sub> affect slightly the structure of the DOPC monolayers but do not disrupt it. Their presence impacts the arrangements of both the polar heads and tails of DOPC molecules at the interface.

## CHARAKTERYSTYKA POWIERZCHNIOWA WARSTW HYDROKSYAPATYTU OSADZONYCH NA NITINOLU JAKO POTENCJALNE PODŁOŻE DLA POLIMEROWYCH NOŚNIKÓW LEKÓW

AGNIESZKA SŁODKOWSKA<sup>1</sup>, ROBERT MROCZKA<sup>1</sup>, PAULINA MARZEC<sup>2</sup>, AGATON SZAPOWICZ<sup>2</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>3</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Chemii, Laboratorium Optyki Rentgenowskiej, ul. Konstantynów 1J, 20-708 Lublin

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin

<sup>3</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Konstantynów 1I, 20-708 Lublin, Polska

W obecnych czasach coraz częściej wykorzystuje się hydroksyapatyt do pokrywania powierzchni endoprotez metalicznych. Jest on biokompatybilny, charakteryzuje się dużym podobieństwem do nieorganicznych składników chemicznych tkanki kostnej. Dodatkowo nie wywołuje efektów toksycznych i wykazuje właściwości osteokondukcyjne przyspieszając proces regeneracji kości. Może służyć jako podłoże do osadzania nanocząsteczek metali lub polimerowych nośników leków (ang. *Drug Delivery System*, DDS). Do efektywnego osadzania polimerów jako DDS wymagana jest specyficzna struktura warstw hydroksyapatytu, co jest dużym wyzwaniem badawczym.

Celem badań było określenie wpływu warunków prowadzenia procesu elektrolizy na strukturę warstwy hydroksyapatytu osadzonej na nośnik nitinolowy. Charakterystykę topografii powierzchni otrzymanych warstw wykonano za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM), natomiast analizę molekularną uzyskano przy użyciu spektrometru Ramana oraz spektrometru mas jonów wtórnych z analizatorem czasu przelotu (SIMS-ToF). Uzyskane wyniki sugerują, że zarówno gęstość prądu jak i czas trwania pulsu mają wpływ na morfologię powierzchni otrzymanych warstw.

## CHARACTERISTICS OF HYDROXYAPATITE'S SURFACE LAYERS DEPOSITED ON NITINOL AS POTENTIAL BASE FOR POLYMERIC DRUG CARRIERS

AGNIESZKA SŁODKOWSKA<sup>1</sup>, ROBERT MROCZKA<sup>1</sup>, PAULINA MARZEC<sup>2</sup>, AGATON SZAPOWICZ<sup>2</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>3</sup>, MACIEJ MASŁYK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Science and Health, Institute of Biology Sciences, Department of Chemistry, Laboratory of X-ray Optics, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>2</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Science and Health, Institute of Biology Sciences, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

<sup>3</sup> The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Science and Health, Institute of Biology Sciences, Department of Molecular Biology, Konstantynów 1J, 20-708 Lublin, Poland

During the current times hydroxyapatite layers are often used to cover the surfaces of a metallic endoprosthesis. Hydroxyapatite is biocompatible and shows a high similarity to inorganic chemical components of bone tissue. In addition, it does not cause toxic effects and shows osteoconductive properties, accelerating the bone regeneration process. It can be used as a substrate for the deposition of metal nanoparticles or polymeric drug carriers (Drug Delivery System, DDS). For effective deposition of polymers as DDS, a specific structure of the hydroxyapatite layers is required, which is a challenge for researchers.

The aim of the study was to determine the effect of the electrolysis conditions on the structure of the hydroxyapatite layer deposited on the nitinol support. Characterization of the surface topography of the obtained layers was investigated using an atomic force microscope (AFM) while molecular analysis was provided by a Raman spectrometer and a secondary ion mass spectrometer with a time-of-flight analyzer (SIMS-ToF). The results suggest that both the current density and the pulse duration have an impact on the surface morphology of the received layers.

## NIEPRAWIDŁOWA SKUTECZNOŚĆ SZCZEPIONKI PFIZER BNT162b2 mRNA COVID-19 U PACJENTÓW Z IDIOPATYCZNYM WŁÓKNIENIEM PŁUC (IPF)

AGATA MACIEJEWSKA<sup>1†</sup>, PIOTR CZERNIA<sup>2†</sup>, MAGDALENA PIOTROWSKA<sup>1†</sup>, BEATA WAJDA<sup>2</sup>, BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, JAN ROMANTOWSKI<sup>3</sup>, ADAM SUDOŁ<sup>4</sup>, MAŁGORZATA DĄBROWSKA<sup>4</sup>, LUCYNA GÓRSKA<sup>2</sup>, TOMASZ SMIAŁACZ<sup>5</sup>, MAREK NIEDOSZYTKO<sup>3</sup>, EWA JASSEM<sup>2</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Immunologii Medycznej, Gdańsk, Polska

<sup>2</sup> Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Klinika Pneumonologii, Gdańsk, Polska

<sup>3</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Klinika Alergologii, Gdańsk, Polska

<sup>4</sup> Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Centralne Laboratorium Kliniczne, Gdańsk, Polska

<sup>5</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Klinika Chorób Zakaźnych, Gdańsk, Polska

†W równym stopniu

Idiopatyczne włóknienie płuc (IPF) jest śmiertelną chorobą, w której zdrowa tkanka płucna zastępowana jest przez zbitą tkankę włóknistą. Pacjenci z IPF są uważani za bardziej podatnych na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 (ang. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), który wywołuje COVID-19. Jednocześnie profilaktyka COVID-19 za pomocą szczepionek może być u tych pacjentów nieskuteczna.

Badania przeprowadzono w grupie 24 pacjentów z IPF i w grupie 24 osób zdrowych. Podczas szczepienia BNT162b2 oznaczano stężenie przeciwciał w surowicy przeciwko antygenom nukleokapsydu (N) i białku spike (S) wirusa SARS-CoV-2. Komórki jednojądrowe krwi obwodowej produkujące interferon gamma po kontakcie z białkiem S1 wykorzystano do testu IGRA oceniającego odporność komórkową po szczepieniu.

Chorzy na IPF charakteryzowali się niższym stężeniem przeciwciał IgG anty-S1 po podaniu pierwszej dawki szczepionki w porównaniu z osobami zdrowymi. W grupie IPF również rzadziej wytwarzano przeciwciała anty-S1 IgA po podaniu obu dawek szczepionki BNT162b2. Ponadto stężenia wytwarzanych przeciwciał były również mniejsze w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Komórki wyizolowane od osób z IPF nie odpowiadały na stymulację po pierwszym szczepieniu i rzadziej wytwarzały interferon gamma po drugiej dawce. Stężenia cytokin były również niższe w porównaniu z grupą kontrolną.

Biorąc pod uwagę słabszą odpowiedź na szczepionkę i większe ryzyko ciężkiego przebiegu COVID-19 u chorych na IPF, do oceny skuteczności szczepienia w tej grupie chorych należy zastosować szerszy zakres narzędzi laboratoryjnych.

Badania finansowane z grantu nr 2020/ABM/01/00110 przydzielonego przez Agencję Badań Medycznych (ABM).

## IMPAIRED EFFICACY OF THE PFIZER BNT162B2 MRNA COVID-19 VACCINE IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS (IPF)

AGATA MACIEJEWSKA<sup>1†</sup>, PIOTR CZERNIA<sup>2†</sup>, MAGDALENA PIOTROWSKA<sup>1†</sup>, BEATA WAJDA<sup>2</sup>, BARTOSZ SŁOMIŃSKI<sup>1</sup>, JAN ROMANTOWSKI<sup>3</sup>, ADAM SUDOŁ<sup>4</sup>, MAŁGORZATA DĄBROWSKA<sup>4</sup>, LUCYNA GÓRSKA<sup>2</sup>, TOMASZ SMIATACZ<sup>5</sup>, MAREK NIEDOSZYTKO<sup>3</sup>, EWA JASSEM<sup>2</sup>, MARIA SKRZYPKOWSKA<sup>1</sup>, PIOTR TRZONKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Gdansk, Department of Medical Immunology, Gdansk, Poland.

<sup>2</sup> University Clinical Centre, Clinic of Pneumology, Gdansk, Poland.

<sup>3</sup> Medical University of Gdansk, Department of Allergology, Gdansk, Poland.

<sup>4</sup> University Clinical Centre, Clinical Laboratory, Gdansk, Poland.

<sup>5</sup> Medical University of Gdansk, Department of Infectious Diseases, Gdansk, Poland.

<sup>†</sup>Equally contributed

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a fatal condition in which healthy lung tissue is replaced by fibrotic one. IPF patients are considered more susceptible to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection causing COVID-19. At the same time, the COVID-19 prophylaxis with vaccines may be sub-efficient in these patients.

The study was performed on a group of 24 patients with IPF and 24 healthy individuals. The levels of serum antibodies against the SARS-CoV-2 nucleocapsid (N) and spike (S) antigens were measured during BNT162b2 vaccination. Peripheral blood mononuclear cells producing interferon gamma after the challenge with S1 protein were used for IGRA test assessing post-immunization cellular immunity.

IPF patients were characterized by lower concentrations of anti-S1 IgG antibodies after 1<sup>st</sup> dose of the vaccine when compared to healthy subjects. IPF group also less frequently produced anti-S1 IgA after both doses of BNT162b2 vaccine. Furthermore, the concentrations of produced antibodies were also decreased when compared to healthy volunteers. Cells isolated from IPF individuals did not respond to stimulation after 1<sup>st</sup> vaccination and less frequently produced interferon gamma after 2<sup>nd</sup> dose. Concentrations of cytokine were also lower when contrasted with control group.

Considering worse responses to the vaccine and the higher risk of severe COVID-19 in IPF patients, wider range of laboratory tools should be used for the assessment of the vaccine efficacy in this group. IPF patients exhibit deficient response to the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine.

This work was supported by Medical Research Agency grant no 2020/ABM/01/00110.

## WPŁYW ZMIENNYCH WARUNKÓW TIENOWYCH NA METABOLIZM LUDZKICH MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH POCHODZĄCYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ

PAULINA RYBKOWSKA<sup>1</sup>, ANNA FIGIEL-DĄBROWSKA<sup>1</sup>, DOROTA DYMKOWSKA<sup>2</sup>, KRZYSZTOF ZABŁOCKI<sup>2</sup>, ANNA SARNOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Platforma Badań Translacyjnych w Zakresie Medycyny Regeneracyjnej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego, Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawinskiego 5, 02-106, Warszawa

<sup>2</sup> Pracownia Metabolizmu Komórki, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego, Polskiej Akademii Nauk, ul. Pasteura 3, 02-093, Warszawa

Właściwości terapeutyczne komórek macierzystych, w tym ich zdolność do efektywnego namnażania się w miejscu urazu, są uzależnione od wielu czynników, zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowych. Potencjał regeneracyjny tych komórek spada wraz ze starzeniem się hodowli i wydaje się być ściśle powiązany ze zmianami zachodzącymi w ich metabolizmie. W celu optymalizacji warunków hodowli hamujących proces starzenia się komórek porównano wpływ fizjologicznej normoksji (5% O<sub>2</sub>) vs atmosferycznego stężenia tlenu (21% O<sub>2</sub>) na rekonfigurację metaboliczną ludzkich mezenchymalnych komórek macierzystych/stromalnych pochodzących z tkanki tłuszczowej (ASC) w korelacji z ich proliferacją i migracją. Potencjał proliferacyjny komórek oceniono na podstawie: testu WST, czasu podwojenia populacji: PDT oraz ekspresji markera proliferacji komórkowej: Ki67. Zdolności migracyjne oszacowano na podstawie testu rysy. Do oceny metabolizmu komórkowego wykorzystano wskaźnik zużycia tlenu: OCR oraz wskaźnik zakwaszenia zewnątrzkomórkowego: ECAR. Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły we wszystkich stosowanych testach istotnie wyższy potencjał proliferacyjny i migracyjny komórek hodowanych w warunkach fizjologicznej normoksji (5% O<sub>2</sub>) w porównaniu do komórek hodowanych w atmosferycznym stężeniu tlenu (21% O<sub>2</sub>). Zmiana warunków tlenowych istotnie wpłynęła również na rekonfigurację metaboliczną. W warunkach fizjologicznej normoksji zaobserwowano w hodowli obniżony OCR oraz ECAR w porównaniu do hodowli w 21% O<sub>2</sub>. Nasze wyniki mogą sugerować, że ASC hodowane w warunkach fizjologicznej normoksji redukują oddychanie mitochondrialne poprzez przekierowanie metabolizmu komórek na glikolizę beztlenową. Rekonfiguracja metaboliczna koreluje z kluczowymi właściwościami terapeutycznymi tych komórek.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki, Numer grantu: 2018/31/N/NZ4/03275 oraz Agencja Badań Medycznych, Numer grantu: 2020/ABM/01/00014.

## EFFECTS OF DIFFERENT AEROBIC CONDITIONS ON CELLULAR METABOLISM IN LONG-TERM CULTURES OF HUMAN ADIPOSE TISSUE-DERIVED MESENCHYMAL STEM/STROMAL CELLS

PAULINA RYBKOWSKA<sup>1</sup>, ANNA FIGIEL-DĄBROWSKA<sup>1</sup>, DOROTA DYMKOWSKA<sup>2</sup>, KRZYSZTOF ZABŁOCKI<sup>2</sup>, ANNA SARNOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Translational Platform of Regenerative Medicine, Mossakowski Medical Research Institute, Polish Academy of Sciences, Pawinskiego 5 Street, 02-109, Warsaw, Poland,

<sup>2</sup> Laboratory of Cellular Metabolism, Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, Pasteura 3 Street, 02-093, Warsaw, Poland

Therapeutic properties of stem/stromal cells, including their ability to efficiently proliferate at the site of injury, depend on many factors, both intracellular and extracellular. The regenerative potential of these cells decreases with culture aging and appears to be closely related to their metabolic changes.

To optimize cell culture conditions that inhibit cell aging, we compared the effects of physiological normoxia (5% O<sub>2</sub>) vs atmospheric oxygen concentration (21% O<sub>2</sub>) on the metabolic reconfiguration of human adipose tissue-derived mesenchymal stem/stromal cells (ASCs) in correlation with their proliferation and migration abilities. The proliferative potential of the cells was assessed by: WST assay, Population Doubling Time test (PDT) and cell proliferation marker: Ki67 expression. Migratory capacity was estimated by the scratch assay and oxygen consumption rate (OCR). Extracellular acidification rate (ECAR) was used to assess cellular metabolism using SeahorseXF technology.

The results of our experiments showed, in all applied tests, significantly higher proliferative and migratory potential of cells cultured under physiological normoxia (5% O<sub>2</sub>) in comparison to the cells cultured under atmospheric oxygen concentration (21% O<sub>2</sub>). Changing oxygen conditions also significantly affected metabolic reconfiguration. Under physiological normoxia, reduced oxygen consumption rate and higher extracellular acidification rate were discovered compared to culture under atmospheric oxygen (21% O<sub>2</sub>).

Our results may suggest that ASCs cultured under physiological normoxia reduce mitochondrial respiration by redirecting cellular metabolism to anaerobic glycolysis. Metabolic reconfiguration may correlate with key therapeutic properties of these cells.

Funding source: National Science Centre, Grant no: 2018/31/N/NZ4/03275 and Medical Research Agency grant no: 2020/ABM/01/00014.



## OCENA JAKOŚCIOWA MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH/STROMALNYCH POZYSKIWANYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ I PRZYGOTOWANYCH DO ZASTOSOWANIA KLINICZNEGO

MAGDALENA CHODKOWSKA, MONIKA SYPECKA, ANNA SARNOWSKA

Platforma Badań Translacyjnych w zakresie medycyny regeneracyjnej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk 02-106 Warszawa, ul. A. Pawińskiego 5

Mesenchymalne komórki macierzyste/stromalne (MSC), pomimo wielu dyskusji, wzbudzają nieustannie zainteresowanie związane z ich możliwym wykorzystaniem w badaniach klinicznych m.in. w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych t.j. stwardnienie zanikowe boczne (ALS) czy choroba Alzheimera. Ich działanie terapeutyczne opiera się głównie na silnych właściwościach immunomodulacyjnych i adjuwantowych. Wiadomo również, że właściwości te są znacząco różne osobniczo, jak również ulegają wahaniom przy jakichkolwiek zmianach warunków hodowli. Z w/w powodów, przeanalizowaliśmy wpływ wymuszonych przez warunki GMP zmian w protokole izolacji, hodowli, transportu i bankowania na właściwości mezenchymalnych komórek macierzystych/stromalnych izolowanych z tkanki tłuszczowej (ASCs). Oceniono zgodność uzyskanych komórek z kryteriami ISCT, w tym morfologię komórek, ekspresję typowych markerów: CD90, CD105 i CD73, zdolność do różnicowania mezodermalnego i potencjał klonogeny. Zoptymalizowano również protokół bankowania, analizując czas podwojenia populacji, klonogenność i morfologię ASCs po rozmrożeniu, w zależności od materiału bankowanego (tkanka vs wyizolowane z tkanki komórki).

Otrzymanie ASCs spełniających wszystkie kryteria ISCT było możliwe zarówno izolując komórki ze świeżo pobranej tkanki, jak również z tkanki przechowywanej w temperaturze 4°C do 48 godzin. Komórki izolowane w obu wariantach czasowych nie różniły się czasem podwojenia populacji, potencjałem klonogenym, ani morfologią. Również bankowanie materiału w postaci wyizolowanych komórek nie wpływało na w/w parametry. Niestety, bankowanie fragmentów tkanki skutkowało znaczącym spadkiem potencjału klonogennego, a także gorszą wydajność izolacji. W celu opracowania optymalnego nośnika dla komórek spełniającego kryteria GMP, przetestowano trzy najczęściej używane płyny do użytku klinicznego (5% glukozę, 0,9% NaCl oraz płyn wieloelektrolitowy Optylite). W ostatnim medium komórki najwyższą żywotność (do 90%) przez 4 godziny, w temperaturze 4°C.

Praca finansowana z grantu Agencji Badań Medycznych nr 2020/ABM/01/00014.

## THE QUALITY ASSESSMENT OF MESENCHYMAL STEM/STROMAL CELLS DERIVED FROM ADIPOSE TISSUE AND PREPARED FOR CLINICAL APPLICATIONS ACCORDING TO VALIDATED PROTOCOLS

MAGDALENA CHODKOWSKA, MONIKA SYPECKA, ANNA SARNOWSKA

Translational Platform for Regenerative Medicine, Mossakowski Medical Research Institute Polish Academy of Sciences, ul. A. Pawińskiego 5, 02-10 Warsaw, Poland

Despite much debate, mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) arouse constant interest related to their possible use in clinical trials, for example in the treatment of neurodegenerative diseases such as amyotrophic lateral sclerosis (ALS) or Alzheimer's disease. Their therapeutic effect is mainly based on great immunomodulatory and adjuvant properties. It is also known that these properties vary significantly between individuals and also fluctuate with any changes in culture conditions. For the above-mentioned reasons, we analysed the effect of GMP-enforced changes in the isolation, culture, transport and banking protocol on the properties of mesenchymal stem/stromal cells derived from adipose tissue (ASCs). The compliance of the obtained cells with ISCT criteria was assessed, including cell morphology, expression of typical markers: CD90, CD105 and CD73, mesodermal differentiation potential and clonogenicity. Cell-banking protocol was also optimised by analysing population doubling time, clonogenicity and morphology of ASCs after thawing, depending on the cryopreserved material (tissue vs cells isolated from freshly isolated tissue).

Obtaining ASCs meeting all ISCT criteria was possible both by isolating cells from freshly harvested tissue and from tissue stored at 4°C for up to 48 hours. Cells isolated in both time variants did not differ in population doubling time, clonogenic potential or morphology. Cell banking did not affect the above mentioned parameters.

Unfortunately, cryopreserving the tissue resulted not only in lower clonogenicity of the cells isolated from it, but in worse isolation efficiency as well. In order to find the optimal transportation medium for the cells, meeting the GMP criteria, three most commonly used fluids in clinical use (5% glucose, 0.9% NaCl and Optilyte multi-electrolyte fluid) were tested. The highest viability (up to 90%) was observed in the last medium (for 4 hours, at 4°C).

The work was supported by Medical Research Agency grant no. 2020/ABM/01/00014.

## WPŁYW WARUNKÓW BIOMIMETYCZNYCH NA POTENCJAŁ NEUROGENNY I WŁAŚCIWOŚCI NEUROPROTEKCYJNE ODRÓŻNICOWANYCH KOMÓREK TŁUSZCZOWYCH (DFAT)

KLAUDIA RADOSZKIEWICZ<sup>1</sup>, MAGDALENA SZYMAŃSKA<sup>1</sup>, PAULINA RYBKOWSKA<sup>1</sup>, DOROTA SULEJCZAK<sup>2</sup>, ANNA SARNOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Platforma Badań Translacyjnych w Zakresie Medycyny Regeneracyjnej, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

<sup>2</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Zakład Farmakologii Doświadczalnej, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

W dobie stale rosnącej liczby doniesień o terapeutycznych właściwościach mezenchymalnych komórek macierzystych/stromalnych oraz ich zastosowaniu w leczeniu chorób neurologicznych, kluczowa wydaje się być optymalizacja metod ich pozyskiwania i namnażania. Jednym z proponowanych rozwiązań jest wykorzystanie odróżnicowanych komórek tłuszczowych (DFAT – *dedifferentiated fat cells*), które charakteryzują się większą homogennością populacji, ekspresją genów czynników transkrypcyjnych niezbędnych do utrzymania pluripotencjalności (stemness transcriptional factors – STF), zdolnością do różnicowania *in vitro* w komórki trzech listków zarodkowych oraz wyższym potencjałem proliferacyjnym niż mezenchymalne komórki macierzyste/stromalne pochodzące z tkanki tłuszczowej (ADSC – *adipose stem/stromal cells*). Ich potencjał neurogenny, neuroprotektoryjny oraz wydzielniczy jest nadal niewystarczająco poznany, dlatego też stały się one przedmiotem niniejszych badań. W celu odtworzenia warunków fizjologicznych (biomimetycznych) panujących w mózgu, komórki hodowano w 5% stężeniu tlenu. Zdolności DFAT do różnicowania neuralnego oceniono w obecności suplementu N21 zawierającego czynniki występujące w naturalnym środowisku neuralnej niszy komórkowej lub w obecności płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Neuroprotektoryjne właściwości DFAT oceniono stosując metodę współhodowli z uszkodzoną ischemicznie tkanką nerwową. W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano zwiększoną ekspresję wczesnych markerów neuralnych w obecności suplementu N21, jak i PMR. Pomimo zastosowania bogatego w czynniki wspierające neurogenezę suplementu N21, nie uzyskano ani fenotypu, ani wysokiej ekspresji markerów dojrzałych neuronów. Profil sekrecyjny DFAT uległ zmianie, w zależności od środowiska hodowli, jak i kontaktu z nieuszkodzoną vs uszkodzoną tkanką nerwową. Uzyskane wyniki wskazują na dużą plastyczność uzyskanych metodą sufutową komórek DFAT, potencjalne właściwości terapeutyczne, jak również na ich bilateralne oddziaływanie z tkanką nerwową.

Praca została sfinansowana w ramach projektu Agencji Badań Medycznych 2020/ABM/01/00014.

## THE IMPACT OF BIOMIMETIC CONDITIONS ON NEUROGENIC AND NEUROPROTECTIVE PROPERTIES OF DEDIFFERENTIATED FAT CELLS (DFAT CELLS)

KLAUDIA RADOSZKIEWICZ<sup>1</sup>, MAGDALENA SZYMAŃSKA<sup>1</sup>, PAULINA RYBKOWSKA<sup>1</sup>, DOROTA SULEJCZAK<sup>2</sup>, ANNA SARNOWSKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mossakowski Medical Research Institute, Translational Platform for Regenerative Medicine, Pawińskiego 5 Street, 02-106 Warsaw, Poland

<sup>2</sup> Mossakowski Medical Research Institute, Department of Experimental Pharmacology, Pawińskiego 5 Street, 02-106 Warsaw, Poland

In the era of constantly growing number of research on therapeutic properties of mesenchymal stem/stromal cells and their use in the treatment of neurological diseases, the optimization of culture methods seems to be of key importance. The protocols are aimed at obtaining cells expressing transcription factors responsible for multilineage differentiation, and in the next stage, the differentiation of these cells in the desired direction. In recent years, using various culture techniques, dedifferentiated fat cells (DFAT) have been obtained. These cells show greater homogeneity of the population, ability to differentiate *in vitro* into three germ layer cells, express genes necessary to maintain the state of stemness transcriptional factors (STFs) and have a higher proliferative potential than commonly used adipose stem/stromal cells (ADSC). However, their neurogenic, neuroprotective and secretory potential is still not well understood, which is why they have become the subject of our research. To recreate the physiological (biomimetic) conditions of the brain, DFAT cells were cultured in 5% oxygen concentration (characteristic for the CNS). The neural differentiation capacity of DFAT was assessed in the presence of N21 supplement containing factors found in the natural environment of the neural cell niche or the presence of cerebrospinal fluid (CSF). The neuroprotective properties of DFAT were assessed by performing a co-culture with ischemically damaged nerve tissue. Our experiments showed an increased expression of early neural markers, both in the presence of the N21 supplement and in the CSF. Unfortunately, despite the use of the N21 supplement rich in factors supporting neurogenesis, neither phenotype nor high expression of markers of mature neurons was obtained. The secretory profile of DFAT cells changed depending on the culture conditions as well as after the contact with intact vs. damaged nerve tissue. The obtained results indicate high plasticity of DFAT cells obtained by the ceiling method, potential therapeutic properties, as well as their bilateral interaction with nerve tissue.

The work was funded by Medical Research Agency grant no. 2020/ABM/01/00014.

## ROLA miR-224-5p W PROGRESJI RAKA NERKI

ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1,2</sup>, KLAUDIA BRODACZEWSKA<sup>1</sup>, CLAUDINE KIEDA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wojskowy Instytut Medyczny, Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych,

<sup>2</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Studium Medycyny Molekularnej (SMM)

MikroRNA odgrywają ważną rolę w regulacji ekspresji genów, a zaburzenia ekspresji mikroRNA są podstawą wielu stanów patologicznych, w tym nowotworów. Niedotlenienie – niskie, niefizjologiczne ciśnienie tlenu jako ważny element mikrośrodowiska guza wpływa na zmiany ekspresji miRNA. Określenie wzorca miRNA wyjaśnia wiele mechanizmów związanych z progresją nowotworu i jest potencjalnym celem nowoczesnych terapii.

Celem tego badania jest zbadanie wzoru mikroRNA w modelu raka nerki po ekspozycji na niedotlenienie i dalsza analiza roli miR-224-5p niedotlenieniu.

Mysie komórki raka nerki (Renca) hodowano w standardowych warunkach tlenowych oraz w hipoksji (1% pO<sub>2</sub>). Przeprowadzono globalną analizę miRNA za pomocą sekwencjonowania nowej generacji a wyniki zweryfikowano za pomocą qRT-PCR. Geny docelowe dla miR-224-5p wyznaczono za pomocą miRNet. Ekspresję Serpinel badano na poziomie transkryptu (qRT-PCR), białka (Western Blot) i białka wydzielanego (ELISA). Potencjalną rolę miR-224-5p w regulacji wydzielania Serpinel zweryfikowano stosując syntetyczną sekwencję miR-224-5p w normoksji i inhibitor miR-224-5p w hipoksji.

Wykazano kilka zmienionych mikroRNA w odpowiedzi na hipoksję – 6 o podwyższonej i 3 o obniżonej ekspresji porównując do standardowej hodowli. Wzrost ekspresji miR-224-5p potwierdzono metodą qRT-PCR, a analiza bioinformatyczna wskazała na możliwą regulację ekspresji Serpinel (PAI-1) przez miR-224-5p. Hipoksja zwiększała ekspresję Serpinel, jednak zastosowanie syntetycznego miR-224-5p w normoksji, nie zwiększyło ekspresji i wydzielania PAI-1. Zastosowanie inhibitora miR-224-5p w hipoksji zmniejszyło ekspresję genu Serpinel, ale nie wpłynęło znacząco na wydzielanie.

Niedotlenienie jest czynnikiem stymulującym ekspresję miRNA-224-5p, ale nie wykazano bezpośredniego wpływu tego miRNA na poziom PAI-1. Niezbędne są dalsze badania określające funkcje miR-224-5p w hipoksyjnym mikrośrodowisku raka nerki.

Badania sfinansowano z projektów MEiN SPUB/9048 i NCN UMO-2020/37/N/NZ5/04024

## THE ROLE OF miR-224-5p IN KIDNEY CANCER PROGRESSION

ALEKSANDRA MAJEWSKA<sup>1,2</sup>, KLAUDIA BRODACZEWSKA<sup>1</sup>, CLAUDINE KIEDA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Military Institute of Medicine, Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies,

<sup>2</sup> Medical University of Warsaw, Postgraduate School of Molecular Medicine (SMM)

MicroRNAs play an important role in the regulation of gene expression and disturbances in microRNA expression are the basis of many pathological states, including cancers. Hypoxia, low, non-physiological oxygen tension is an important component of the tumor microenvironment affecting changes in microRNA expression. Determining the miRNA pattern explains many mechanisms related to cancer progression and is a potential target of modern therapies.

The aim of study is to investigate the miRNA pattern in kidney cancer model after exposure to hypoxia and further analysis of the role of miR-224-5p in low pO<sub>2</sub>.

Murine kidney cancer Renca cells were exposed to hypoxia (culture in 1% pO<sub>2</sub>) and global miRNA analysis was performed by NGS and verified by qRT-PCR. The target genes for miR-224-5p were assessed using miRNet. The expression of Serpinel was examined at the levels of transcript (qRT-PCR), protein (Western Blot) and secreted protein (ELISA). The potential role of miR-224-5p in the regulation of Serpinel secretion was verified using miR-224-5p MIMIC (in normoxia) and miR-224-5p Inhibitor in hypoxia

Global miRNA analysis showed few changed microRNAs in response to hypoxia – 6 up-regulated and 3 down-regulated) compared to normoxic cells. The increase in miR-224-5p expression was confirmed by qPCR and bioinformatics analysis indicated a possible regulation of Serpinel (PAI-1) expression by this miRNA. Serpinel was upregulated after exposure to low pO<sub>2</sub>. However, the use of mimic miR-224-5p in normoxia, did not increase the expression and secretion of PAI-1. The use of the miR-224-5p inhibitor in hypoxia decreased the expression of the Serpinel gene, but did not significantly affect secretion.

Hypoxia is a factor stimulating expression of miRNA-224-5p, but the direct impact of this miRNA on Serpinel has not been demonstrated. Further research focusing on the role of upregulation of miR-224-5p in kidney cancer hypoxic microenvironment are necessary.

Research was funded by grants: MEiN SPUB/9048 and NCN UMO-2020/37/N/NZ5/04024

## **ZNACZENIE LUDZKICH BIAŁEK HTRA W ONKOGENEZIE I POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE**

*JULIA KOBIELA, DOROTA ŻURAWA-JANICKA*

Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii, Katedra Biochemii Ogólnej i Medycznej Wita Stwosza 59,  
80-308 Gdańsk

Ludzkie białka HtrA (high temperature requirement A) należą do rodziny zachowanych ewolucyjnie proteaz serynowych. Wykazują homologie do białka HtrA występującego u modelowej bakterii *Escherichia coli*. Białka te w organizmie ludzkim składają się z czterech homologów (HtrA 1-4) i pełnią różnorodne funkcje. Odgrywają istotną rolę w wielu komórkowych procesach fizjologicznych, takich jak programowana śmierć komórkowa, homeostaza mitochondrialna, odpowiedź na stres oraz sygnalizacja komórkowa. Zaburzenia w ich funkcji mogą prowadzić do różnych schorzeń, szczególne znaczenie mają w onkogenezie. Białka HtrA wykryto w wielu nowotworach. Proteazy te są zaangażowane w regulację ścieżek sygnalizacyjnych związanych z nowotworem, na przykład poprzez promowanie apoptozy. Zmiany w poziomie tych białek są związane z rodzajem guza. Wiedza na temat tych zmian może zostać wykorzystana w opracowaniu terapii przeciwnowotworowych. Celem pracy jest przegląd badań dotyczących znaczenia białek HtrA w wielu rodzajach nowotworów. Lepsze zrozumienie roli proteaz HtrA może wpłynąć na usprawnienie terapii antynowotworowej.

## THE ROLE OF HUMAN HTRA PROTEINS IN ONCOGENESIS AND THEIR POTENTIAL THERAPEUTIC PROPERTIES

*JULIA KOBIELA, DOROTA ŻURAWA-JANICKA*

University of Gdansk, Faculty of Biology, Department of General and Medical Biochemistry Wita Stwosza 59, 80-308 Gdansk

Human HtrA proteins (high temperature requirement A) belong to the family of evolutionarily conserved serine proteases. They are homologous to the HtrA protein of the model bacterium *Escherichia coli*. These proteins in humans consist of four homologues (HtrA 1-4) and they perform various functions. HtrA proteins play an important role in many physiological processes such as programmed cell death, mitochondrial homeostasis, stress response and cell signaling. Disorders in their functions can lead to various human diseases, they are particularly important in oncogenesis. HtrA proteins are detected in many cancers. These proteases are involved in the regulation of cell signaling pathways, for instance by promoting apoptosis. Alterations in the levels of these proteins are related to tumor type. Knowledge about these alterations could be used in the development of anti-cancer therapies. The aim of the study is to review the research on the role of HtrA proteins in many types of cancer. A better understanding of the role of HtrA proteases may contribute to the improvement of anti-cancer therapy.



## PROGRANULINA JAKO BIOMARKER ASTMY U DZIECI

MILENA POGONOWSKA<sup>1</sup>, AGNIESZKA RUSTECKA<sup>1</sup>, AGATA BĘDZICHOWSKA<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>2</sup>, BOLESŁAW KALICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Polska

<sup>2</sup>Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych, Wojskowy Instytut Medyczny

**WSTĘP:** W ostatnich latach obserwowany jest wzrost zachorowalności na choroby atopowe, w tym astmę. Ważnym kierunkiem w poprawie procesu diagnostycznego i prognozowania odpowiedzi na leczenie jest rozwój immunologii i poszukiwanie nowych biomarkerów astmy.

**CEL:** Ocena stężenia potencjalnych biomarkerów astmy u dzieci: progranuliny, MMP-9, TNF- $\alpha$  oraz FeNO i stężenia witaminy D.

**MATERIAŁ I METODY:** Grupę badaną stanowiło 25 dzieci z astmą alergiczną w stabilnym okresie choroby w wieku od 6 do 17 lat. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 21 zdrowych dzieci w wieku od 6-18 lat bez chorób alergicznych w wywiadzie. Stopień kontroli astmy określano za pomocą testów ACT lub C-ACT. U każdego dziecka z astmą, wykonywano spirometrię oraz pomiar tlenu azotu w powietrzu wydychanym (FeNO). Szczegółowej analizie poddano stężenie progranuliny, MMP-9, TNF- $\alpha$  oraz witaminy D.

**WYNIKI:** Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zakresie stężeń progranuliny i MMP-9 pomiędzy dziećmi z astmą a zdrowymi, a także pomiędzy chorymi z astmą kontrolowaną i niekontrolowaną. U dzieci z astmą zaobserwowano istotne statystycznie wyższe stężenie TNF $\alpha$  niż u dzieci zdrowych. W grupie dzieci z astmą niekontrolowaną wartości FeNO były istotnie statystycznie wyższe niż u dzieci z astmą kontrolowaną. U dzieci chorych z podwyższonymi wartościami FeNO stwierdzono wyższe stężenie progranuliny w surowicy niż u dzieci z prawidłowymi wartościami FeNO. Wykazano dodatnią istotną statystycznie korelację pomiędzy wartościami FeNO a stężeniem progranuliny w surowicy dzieci chorych. W grupie kontrolnej zaobserwowano istotne statystycznie niższe stężenie progranuliny w surowicy u dzieci z niedoborem witaminy D w porównaniu do grupy dzieci z optymalnym stężeniem 25(OH)D.

**WNIOSKI:** Potwierdzono przydatność FeNO w diagnostyce astmy alergicznej w populacji pediatrycznej. Rola progranuliny i MMP-9 w patogenecie astmy i ich użyteczność jako biomarkerów u dzieci wymaga dalszych badań.

**Słowa kluczowe:** *astma, biomarkery, progranulina, FeNO, dzieci*

## PROGRANULIN AS A BIOMARKER OF ASTHMA IN CHILDREN

MILENA POGONOWSKA<sup>1</sup>, AGNIESZKA RUSTECKA<sup>1</sup>, AGATA BĘDZICHOWSKA<sup>1</sup>, KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>2</sup>, BOLESŁAW KALICKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Paediatrics, Nephrology and Child Allergology, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland

<sup>2</sup>Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies

**Introduction:** In recent years, an increase in the prevalence of atopic diseases, including asthma, has been observed. The identification of new biological biomarkers is an important approach to improving the diagnostic process and prediction of response to treatment.

**Aim of the study:** The aim of this study was to evaluate the levels of potential biomarkers: progranulin, MMP-9, TNF $\alpha$ , FeNO and vitamin D concentration in children with asthma.

**Material and Methods:** The study group consisted of 25 children with atopic asthma in a stable period of the disease, aged from 6 to 17 years. The control group consisted of 21 healthy children aged 6-18 years with no history of allergic diseases. The degree of asthma control was determined by a questionnaire method using the ACT or C-ACT. In addition, spirometry and the measurement of exhaled nitric oxide (FeNO) were performed on each patient with asthma. Progranulin, MMP-9, TNF- $\alpha$  and vitamin D levels were analyzed in detail.

**Results:** There were no statistically significant differences in progranulin and MMP-9 concentrations between children with asthma and healthy controls, or between patients with controlled and uncontrolled asthma. Statistically significant higher TNF $\alpha$  levels were observed in children with asthma than in healthy children. In the group of children with uncontrolled asthma, FeNO concentrations were significantly higher than in children with controlled asthma. Children with elevated FeNO values had higher progranulin levels than children with normal FeNO values. There was a high statistically significant correlation between FeNO and serum progranulin levels. Higher progranulin levels were observed in healthy children with optimal 25(OH)D levels compared to healthy children with deficiency.

**Conclusions:** The applicability of FeNO in the diagnosis of asthma in children has been confirmed. The role of progranulin and MMP-9 in the pathogenesis of asthma and their usefulness as a biomarker in children requires further study.

**Keywords:** *asthma, biomarkers, progranulin, FeNO, children*

## WPŁYW O-GLUKNAZYLACJI NA WRAŻLIWOŚĆ KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NA LEKI ANTYANGIOGENNE

MACIEJ P. GOLAN, KINGA WILKUS, KLAUDIA BRODACZEWSKA

Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

Wstęp: O-gluknazylacja to odwracalna jednocukrowa zmiana na powierzchni białek, zachodząca na resztach serynowych lub treoninowych, z UDP-GlcNAc, jako donorem. Jest to proces katalizowany przez dwa enzymy: reszta cukrowa przenoszona jest na białko przez enzym O-GlcNAcył transferase (OGT), a usuwana przez O-GlcNAcase (OGA), rozpoznające setki różnych białek, w przeciwieństwie do pozostałych procesów posttranslacyjnej modyfikacji białek, gdzie zaangażowane są kaskady enzymów i ścieżek regulacyjnych.

Duże zapotrzebowanie na glukozę, przy jednocześnie niskiej wydajności energetycznej procesów glikolizy i nadpodaży mleczanu nazywane jest efektem Warburga.

Powiązanie efektu Warburga z angiogenezą, poprzez aktywację ścieżki O – gluknazylacji, opisano w raku piersi, raku prostaty i raku jelita grubego. Spowodowało to wzrost zainteresowania terapiami anty – angiogennymi, opartymi o supresję ścieżek O – gluknazylacji. Wykazano pozytywny wpływ inhibicji procesu O-gluknazylacji na zahamowanie procesów angiogenezy w kilku typach nowotworów.

Celem badań było określenie czy poziom O-gluknazylacji białek wpływa na wrażliwość komórek śródbłónka na terapię antyangiogenną.

Metodyka: Komórki śródbłónka (linia HUVEC) hodowano w obecności inhibitorów OGT (alloksan) lub OGA (thiamet) modyfikujących całkowitą O-gluknazylację białek. Następnie komórki traktowano lekami angiogennymi: axitinib (TKI; inhibitor kinaz tyrozynowych o szerokim działaniu) oraz specyficznego inhibitora VEGFR-2 (BMS 605541) i określano ich żywotność testem Alamar blue.

Wyniki: Wykazano, że zwiększenie poziomu O-gluknazylacji w komórkach HUVEC, pod wpływem inhibitora OGA (Thiamet), zwiększa ich wrażliwość tylko na Axitinib. Obniżenie O-gluknazylacji, poprzez ekspozycję na alloksan (inhibitor OGT) zwiększa wrażliwość na oba inhibitory.

Wnioski: Uzyskane wyniki wskazują, że modyfikacja O-gluknazylacji może być strategią zwiększania skuteczności terapii angiogennej lub wpływania na pojawiającą się lekooporność.

Finansowanie: Badania sfinansowano z projektu MEiN SPUB/9048

## THE INFLUENCE OF O-GLUCNACYLATION ON THE SENSITIVITY OF ENDOTHELIAL CELLS TO ANTI-ANGIOGENIC DRUGS

MACIEJ P. GOLAN, KINGA WILKUS, KLAUDIA BRODACZEWSKA

Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland

**Introduction:** O-glucancylation is a reversible monosaccharide change on the surface of proteins that occurs at serine or threonine residues with UDP-GlcNAc as a donor. It is a process catalyzed by two enzymes: a sugar residue is transferred to a protein by the enzyme O-GlcNAcyl transferase (OGT) and removed by O-GlcNAcase (OGA), which recognizes hundreds of different proteins, unlike other post-translational protein modification processes where there are cascades of enzymes and regulatory pathways.

The high demand for glucose, with the simultaneous low energy efficiency of glycolysis and lactate oversupply, is called the Warburg effect.

The association of the Warburg effect with angiogenesis, through the activation of the O-glucnasylation pathway, has been described in breast cancer, prostate cancer and colorectal cancer. This resulted in an increased interest in anti-angiogenic therapies based on the suppression of O-glucnasylation pathways. A positive effect of the inhibition of the O-glucnasylation process on the inhibition of angiogenesis processes in several types of neoplasms has been demonstrated.

The aim of the study was to determine whether the level of protein O-glucnasylation influences the sensitivity of endothelial cells to anti-angiogenic therapy. **Methods:** Endothelial cells (HUVEC line) were cultured in the presence of OGT (alloxan) or OGA (thiamet) inhibitors modifying total protein O-glucnasylation. The cells were then treated with the angiogenic drugs axitinib (TKI; broad-acting tyrosine kinase inhibitor) and a specific VEGFR-2 inhibitor (BMS 605541) and their viability was determined using the Alamar blue test.

**Results:** It was shown that increasing the level of O-glucnasylation in HUVEC cells, under the influence of OGA inhibitor (Thiamet), increases their sensitivity only to Axitinib. Reduction of O-glucnasylation through exposure to alloxan (an OGT inhibitor) increases the sensitivity to both inhibitors.

**Conclusions:** The obtained results indicate that the modification of O-glucnasylation may be a strategy of increasing the effectiveness of angiogenic therapy or influencing the emerging drug resistance.

**Financing:** The research was financed by the MEiN SPUB / 9048 project

## HUMORALNE MARKERY COVID-19 – BADANIA WSTĘPNE

KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>1</sup>, MONIKA LEŚNIAK<sup>1</sup>, KLAUDIA PORĘBSKA<sup>1</sup>, KSZYSZTOF KLOS<sup>2</sup>, KATARZYNA PLEWKA<sup>2</sup>, RENATA ROŻYŃSKA<sup>3</sup>, EWA PIETRUSZKA<sup>3</sup>, KARINA JAHNZ-ROŻYK<sup>3</sup>, ROBERT ZDANOWSKI<sup>1</sup>, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych

<sup>2</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergologii

<sup>3</sup> Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii, Alergologii i Immunologii Klinicznej

**Wstęp:** W wyniku zakażenia koronawirusem ciężkiego ostrego zespołu oddechowego – SARS CoV-2 zmarło do dnia 22.06.2022 r. 6,34 mln osób na całym świecie. Dla wdrożenia odpowiedniego leczenia ważne jest poznanie markerów rozróżniających COVID-19 od innych zapaleń płuc. Receptor dla ACE-2 i neuropilina-1 (NRP-1) umożliwiają wnikanie SARS CoV-2 do komórek. Fizjologiczną funkcją ACE jest obniżanie ciśnienia tętniczego krwi poprzez hydrolizę angiotensyny II do angiotensyny 1-7. Natomiast NRP-1 odgrywa rolę w proliferacji komórek, odpowiedzi immunologicznej oraz angiogenezie.

**Cel:** Wytypowanie potencjalnych markerów umożliwiających rozróżnienie COVID-19 od zapaleń płuc o innej etiologii.

**Materiały i metody:** Wykorzystano próbki pochodzące od 56 pacjentów hospitalizowanych z powodu COVID-19 obciążonych innymi chorobami w tym: choroby układu sercowo – naczyniowego, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca typ II, otyłość, 25 pacjentów z zapaleniem płuc (nieokreślone odoskrzelowe zapalenie płuc) oraz 26 osób bez historii COVID-19 (grupa kontrolna). Stężenie ACE-2 oraz NRP-1 w surowicy oznaczono za pomocą testu ELISA. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie GraphPad Prism 9 przy użyciu testu Kruskal-Wallis.

**Wyniki:** Uzyskano istotne różnice w stężeniu NRP-1 pomiędzy chorymi na COVID-19 w porównaniu z pacjentami z nieokreślonym odoskrzelowym zapaleniem płuc oraz grupą kontrolną. Nie zaobserwowano istotnych różnic stężenia ACE-2.

**Wnioski:** Z przeprowadzonych badań wynika, że NRP-1 może stanowić potencjalny marker różnicujący zapalenie płuc w przebiegu COVID-19 od nieokreślonych odoskrzelowych zapaleń płuc, czego nie można stwierdzić w przypadku ACE-2. Z powodu dużej różnorodności grupy (wiek, płeć i choroby współwystępujące) konieczne są dalsze badania uwzględniające powyższe aspekty.

Badania finansowane przez NCBIr w ramach projektu SZPITALE-JEDNOMIENNE/43/2020 oraz przez MEiN w ramach projektu 5/491340/SPUB/SN/2021

## HUMORAL MARKERS OF COVID-19 – INITIAL STUDIES

KAROLINA ALEKSANDROWICZ<sup>1</sup>, MONIKA LEŚNIAK<sup>1</sup>, KLAUDIA PORĘBSKA<sup>1</sup>, KSZYSZTOF KŁOŚ<sup>2</sup>, KATARZYNA PLEWKA<sup>2</sup>, RENATA ROŻYŃSKA<sup>3</sup>, EWA PIETRUSZKA<sup>3</sup>, KARINA JAHNZ-RÓŻYK<sup>3</sup>, ROBERT ZDANOWSKI<sup>1</sup>, ANDRZEJ CHCIAŁOWSKI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Military Institute of Medicine, Laboratory of Molecular Oncology and Innovative Therapies

<sup>2</sup> Military Institute of Medicine, Department of Infectious Diseases and Allergology

<sup>3</sup> Military Institute of Medicine, Department of Internal Medicine, Pneumology, Allergology and Clinical Immunology

**Introduction:** As a result of SARS CoV-2 virus infection, 6.34 million people worldwide have died by 22/06/2022. To implement appropriate treatment it is important to know the markers that distinguish COVID-19 from other lung infections. ACE-2 receptor and neuropilin-1 (NRP-1) enable severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS CoV-2) to enter into the cells. Its physiological function is to decrease blood pressure by hydrolyzing angiotensin II to angiotensin 1-7. Physiologically, plays a role in cell proliferation, immune response, physiological and pathological angiogenesis

**Aim:** Identification of potential markers to distinguish COVID-19 from other pulmonary infections.

**Materials and Methods:** Samples from 56 patients hospitalized for COVID-19 with other diseases including: cardiovascular diseases, hypertension, type II diabetes, obesity, 25 patients with pneumonia (unspecified bronchopneumonia), and 26 healthy individuals without a history of COVID-19 (control group) were used in this study. Serum levels of ACE-2 and neuropilin-1 were determined by ELISA. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism 9 software using Kruskal-Wallis test.

**Results:** Significant differences in NRP-1 levels were observed between COVID-19 patients, patients with unspecified bronchopneumonia and controls. No significant differences were noticed for ACE-2.

**Conclusions:** Our data show that NRP-1 detected in serum has potential to be used as a clinical marker to distinguish COVID-19 disease from unspecified bronchopneumonia. Our results do not support similar conclusion in case of ACE-2. Due to the large heterogeneity of the group (in terms of age, sex, and health status) further studies are required.

Research supported by: NCBiR project SZPITALE-JEDNOIMIENNE/43/2020 and by MEiN project 5/491340/SPUB/SN/2021

## WPŁYW KWASU CINNABARYNOWEGO NA ZACHOWANIA PODOBNE DO DEPRESJI I LĘKU U MYSZY DOŚWIADCZALNYCH

BARTOSZ KNAP<sup>1,2</sup>, MARTA MARSZAŁEK-GRABSKA<sup>1</sup>, WALDEMAR TURSKI<sup>1</sup>, KINGA GAWĘŁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej,

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Szkoła Doktorska.

**Wstęp i cel badań:** Kwas cinnabarynowy (*ang. cinnabarinic acid*; CA) jest endogennym, ortosterycznym agonistą metabotropowego receptora kwasu glutaminowego 4 (mGlu4). U osób chorych na depresję stwierdzono podwyższoną ekspresję receptora mGlu4 w korze przedczołowej. Aktywacja receptora mGlu4 indukuje zachowania depresyjne u myszy laboratoryjnych. Ponadto, pobudzenie receptora mGlu4 skutkuje działaniem przeciwłękowym u myszy, a myszy pozbawione receptora mGlu4 charakteryzują się zwiększonym poziomem lęku. Celem pracy jest zbadanie wpływu CA na zachowania podobne do depresji i lęku u myszy doświadczalnych oraz ocena wpływu CA na koordynację ruchową i aktywność lokomotoryczną zwierząt doświadczalnych.

**Materiały i metody:** Badania prowadzone były na samcach myszy szczepu Albino Swiss. CA podawany był jednorazowo, dootrzewnowo w dawce 5 mg/kg m.c. Do badania zachowań podobnych do lęku wykorzystany został test podwyższonego labiryntu krzyżowego (*ang. elevated plus maze*, EPM), natomiast zachowania podobne do depresji badane były w teście podwieszenia za ogon (*ang. tail suspension test*, TST). Dodatkowo zbadano koordynację ruchową myszy w teście komina (*ang. chimney test*) oraz aktywność lokomotoryczną.

**Wyniki:** Nie obserwowano zaburzeń koordynacji ruchowej myszy w teście komina po podaniu CA. W teście aktywności lokomotorycznej CA wydłużył czas spoczynku, zmniejszył ruchy pionowe oraz zwiększył ruchy stereotypowe w miejscu. CA podany łącznie z imipraminą (15 mg/kg m.c.) osłabiał jej działanie przeciwdepresyjne wydłużając czas bezruchu myszy laboratoryjnych w teście TST. Nie obserwowano wpływu CA na zachowania podobne do lęku w teście EPM.

**Wnioski:** CA podany obwodowo wpływa na czynność ośrodkowego układu nerwowego.



## EFFECT OF CINNABARINIC ACID ON DEPRESSIVE-LIKE BEHAVIOR AND ANXIETY-LIKE BEHAVIOR IN EXPERIMENTAL MICE

BARTOSZ KNAP<sup>1,2</sup>, MARTA MARSZALEK-GRABSKA<sup>1</sup>, WALDEMAR TURSKI<sup>1</sup>, KINGA GAWEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical University of Lublin, Faculty of Medicine, Chair and Department of Experimental and Clinical Pharmacology,

<sup>2</sup> Medical University of Lublin, Doctoral School.

**Introduction and purpose of the research:** Cinnabarinic acid (CA) is an endogenous, orthosteric agonist of the metabotropic glutamic acid receptor 4 (mGlu4). In depressed patients, increased mGlu4 receptor expression was found in the prefrontal cortex. mGlu4 receptor activation induces depressive behavior in laboratory mice. Furthermore, stimulation of the mGlu4 receptor results in an anxiolytic effect in mice, whereas mice lacking the mGlu4 receptor are characterized by an increased level of anxiety. The study aims to investigate the influence of CA on the depressive- and anxiety-like behavior in experimental mice and to evaluate the influence of CA on motor coordination and locomotor activity in animals.

**Materials and methods:** The research was carried out on male Albino Swiss mice. CA was administered once, intraperitoneally at a dose of 5 mg/kg b.w. The elevated plus maze (EPM) test was used as an experimental model of anxiety-like behavior, while depressive-like behavior was tested in the tail suspension test (TST). Additionally, the motor coordination of mice in the chimney test and locomotor activity were examined.

**Results:** No impairment of motor coordination was observed in mice in the chimney test following administration of CA. In the locomotor activity test, CA increased the rest time, decreased vertical movements, and increased stereotypical movements in place. CA administered together with imipramine (15 mg/kg b.w.) weakened its antidepressant effect by prolonging the immobility time of laboratory mice in the TST test. There was no effect of CA on anxiety-like behavior in the EPM test.

**Conclusions:** Peripherally administered CA affects the function of the central nervous system.



## **CERATOPHYLLUM DEMERSUM (ROGATEK SZTYWNY) JAKO BOGATE ŹRÓDŁO SUBSTANCJI PRZECIWNOWOTWOROWYCH**

MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, TOMASZ LENARD<sup>2</sup>, MARTA OLECH<sup>3</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, ELŻBIETA KOCHANOWICZ<sup>1</sup>, MAŁGORZATA PONIEWOZIK<sup>4</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>5</sup>, KAMILA GÓRKA<sup>1</sup>, MATEUSZ KWAŚNIK<sup>6</sup>, AJOKU U. SAMPSON<sup>6</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Biologii Molekularnej,

<sup>2</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii Zwierząt i Toksykologii,

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Farmakognozji i Botaniki Farmaceutycznej,

<sup>4</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin,

<sup>5</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Nauk Medycznych, Katedra i Zakład Chemii Medycznej,

<sup>6</sup> Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Koło Naukowe Biotechnologii

Nowotwory są obecnie drugą najpowszechniejszą chorobą i najczęstszą przyczyną zgonów na świecie. Chemioterapia powoduje często szereg skutków ubocznych, dlatego istnieje pilna potrzeba poszukiwania substancji pochodzenia naturalnego, które mogą być stosowane jako środki przeciwnowotworowe lub chemoprewencyjne. Zastosowanie roślin jest jedną z najstarszych gałęzi medycyny, a substancje pochodzenia roślinnego używane są zarówno w profilaktyce problemów zdrowotnych jak i leczeniu chorób przewlekłych. Rogatek sztywny (*Ceratophyllum demersum* L.) jest przykładem makrofitu zanurzonego, wykazującym unikalne cechy związane ze specyfiką jego występowania. Doniesienia literaturowe wskazują na zastosowanie rośliny jako środka przeciwbólowego, przeciwgorączkowego, przeciwzapalnego, leczącego wrzody, rany i krwawienia. Biorąc pod uwagę powyższe wskazania, wykorzystano jego potencjał skupiając się na potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych. Badania obejmowały: zbiór roślin i ekstrakcję, analizy fitochemiczne ekstraktu, które ujawniły bogatą zawartość substancji biologicznie czynnych, badania cytotoksyczności wobec sześciu linii komórek nowotworowych układu pokarmowego, wykazujące istotny wpływ na żywotność szczególnie trzech linii, wskazując linię gruczolakoraka jelita grubego (SW480) jako najbardziej wrażliwą oraz ocenę toksyczności na modelu zwierzęcym danio pręgowanego (*Danio rerio*), które wykazało brak lub niską toksyczność w zakresie stężeń efektywnych wobec komórek nowotworowych.

## CERATOPHYLLUM DEMERSUM (HORNWORT) AS A RICH SOURCE OF ANTI-CANCER SUBSTANCES

MACIEJ MASŁYK<sup>1</sup>, TOMASZ LENARD<sup>2</sup>, MARTA OLECH<sup>3</sup>, ALEKSANDRA MARTYNA<sup>1</sup>, ELŻBIETA KOCHANOWICZ<sup>1</sup>, MAŁGORZATA PONIEWOZIK<sup>4</sup>, ANNA BOGUSZEWSKA-CZUBARA<sup>5</sup>, KAMILA GÓRKA<sup>1</sup>, MATEUSZ KWAŚNIK<sup>6</sup>, AJOKU U. SAMPSON<sup>6</sup>, KONRAD KUBIŃSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Molecular Biology, Lublin, Poland,

<sup>2</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Animal Physiology and Toxicology, Lublin, Poland,

<sup>3</sup>Medical University of Lublin, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Botany, Lublin, Poland

<sup>4</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Department of Plant Physiology and Biotechnology, Lublin, Poland,

<sup>5</sup>Medical University of Lublin, Faculty of Medical Sciences, Department of Medical Chemistry, Lublin, Poland,

<sup>6</sup>The John Paul II Catholic University of Lublin, Faculty of Natural Sciences and Health, Scientific Circle of Biotechnology Students, Lublin, Poland

Cancer is currently the second most common disease and the most frequent cause of death worldwide. Chemotherapy often cause a number of side effects, therefore, there is an urgent need to search for substances of natural origin that can be used as anti-cancer or chemopreventive agents. The use of plants is one of the oldest branches of medicine, substances of plant origin are applied as both prevention of health problems and treatment of chronic diseases. Hornwort (*Ceratophyllum demersum* L.) is an example of a submerged macrophyte, exhibiting unique properties related to the specificity of its occurrence. Literature reports indicate the use of the plant as a pain relieving, antipyretic, anti-inflammatory, curing ulcers, wounds and bleedings. Given the above indications, we used its potential focusing on possible anti-cancer properties. Research included: collection of plants and extraction, phytochemical studies of the obtained extract, which revealed rich composition of biologically active substances, cytotoxicity studies against six cancer cell lines derived from digestive system, showing significant impact on viability of particularly three lines, indicating colorectal adenocarcinoma cell line (SW480) as the most sensitive one and toxicity evaluation on zebrafish (*Danio rerio*) animal model, which showed no or low toxicity in the concentration range effective against cancer cells.



## INDEKS AUTORÓW

### A

Adamczuk Grzegorz 174, 175  
Aleksandrowicz Karolina 112–115, 182, 183,  
266, 267  
Andrzejewicz Paweł 94–97

### B

Baier Andrea 202, 203  
Baj Jacek 98–101, 242–245  
Balan Barbara-Joanna 72, 73  
Baran Kamila 142, 143  
Barańska Małgorzata 106, 107  
Bednarz Łukasz 194, 195  
Bednarski Jerzy 136, 137, 232–235  
Beer Martin 116, 117  
Bernard Martyna 240, 241  
Będzichowska Agata 198, 199, 266, 267  
Biedrzycka Aleksandra 168, 169  
Biernasiuk Anna 172, 173  
Blank Alicja 116, 117  
Blank Mirosława 116, 117  
Blicharska Eliza 76, 77, 218, 219  
Błaszczak Ewa 84, 85, 178, 179  
Bobak Klaudia 148, 149  
Bogucka Krystyna 176, 177  
Boguszewska-Czubarą Anna 122–125, 192,  
193, 206–209, 274, 275  
Borek-Dorosż Aleksandra 106, 107  
Borkowski Mariusz 192, 193  
Borówka Anna 138, 139, 200–203  
Braczkowski Michał 118, 119  
Brodaczewska Klaudia 114, 115, 180, 181, 262,  
263, 268, 269  
Brzeziańska-Lasota Ewa 142–145

Brzozowska Anna 90–93  
Buchwald Tomasz 128, 129

### C

Charukiewicz Magdalena 110, 111  
Chciałowski Andrzej 112–115, 270, 271  
Chilimoniuk Zuzanna 232–235  
Chodkowska Magdalena 258, 259  
Chomicz Beata 118, 119  
Ciesielska-Figlon Klaudia 104, 105  
Cyske Zuzanna 46, 47  
Czaplewska Paulina 128, 129  
Czarnecka Anna M. 146–149  
Czarnek Katarzyna 76, 77, 102, 103, 218, 219  
Czech Bożena 226–230  
Czernia Piotr 254, 255  
Czogalla Aleksander 56, 57  
Czyłkowska Agnieszka 174, 175

### D

Daca Agnieszka 104, 105  
Dastych Jarosław 88, 89  
Dąbrowska Małgorzata 254, 255  
Dąbrowski Wojciech 74, 75  
Demchuk Oleg M. 190–193  
Donizy Piotr 56, 57  
Dostatni Małgorzata 220–223, 238–241, 246, 247  
Dymkowska Dorota 256, 257

### E

Ekiert Halina 76, 77, 218, 219

**F**

Figiel-Dąbrowska Anna 256, 257  
 Filipiak Aleksandra 180, 181  
 Fiołka Marta 78, 79, 128, 129, 158, 159  
 Flieger Jolanta 242–245  
 Flieger Wojciech 242–245  
 Forma Alicja 98–101, 242–245  
 Fotschki Joanna 184, 185

**G**

Gaffke Lidia 46, 47  
 Gajos Mateusz 132, 133  
 Gaweł Kinga 272, 273  
 Gęca Katarzyna 248, 249  
 Glac Wojciech 246, 247  
 Gładysz Julia 236, 237  
 Golan Maciej P. 268, 269  
 Goldman Waldemar 122, 123  
 Golik Paweł 146, 147  
 Goraj Weronika 40, 41  
 Gorzel Małgorzata 214–217  
 Gos Michalina 156, 157  
 Goszczyński Tomasz M. 122, 123  
 Gościńska Agnieszka 182, 183  
 Górka Kamila 124–127, 192, 193, 274, 275  
 Górską Aleksandra 136, 137, 232–235  
 Górską Lucyna 254, 255  
 Grabowski Krzysztof 94–97  
 Grochowski Cezary 162, 163

**H**

Hajduk Bogdan 72, 73  
 Hoffman Zofia 136, 137  
 Humeniuk Ewelina 174, 175

**J**

Jach Monika Elżbieta 194–197  
 Jackowska Teresa 70, 71  
 Jaferniki Karolina 76, 77, 218, 219  
 Jahnz-Różyk Karina 270, 271  
 Jałonica Anna 116, 117  
 Janeczek Kamil 60, 61  
 Janeczko Monika 122, 123, 126, 127, 164, 165, 190–193  
 Jassem Ewa 254, 255  
 Jaśkowska Jolanta 208, 209  
 Jeleń Piotr 208, 209  
 Jędrzejczak Wiesław Wiktor 54, 55  
 Jodłowski Przemysław J. 208, 209  
 Jonak Kamil 98–101  
 Juchnowicz Dariusz 98–101  
 Jurak Małgorzata 250, 251  
 Juszczyński Przemysław 106, 107

**K**

Kaczorek-Łukowska Edyta 68, 69, 116, 117, 152, 153  
 Kalicki Bolesław 182, 183, 198, 199, 266, 267  
 Kamiński Stanisław 184, 185  
 Karakuła Kaja 98–101  
 Karakuła-Juchnowicz Hanna 98–101  
 Karczewska Monika 176, 177  
 Karpiński Robert 98–101  
 Kalwasińska Agnieszka 188, 189  
 Kieda Claudie 262, 263  
 Kiersztyn Adam 210, 211  
 Kiersztyn Krystyna 210, 211  
 Kijewski Dawid 94–97  
 Kitowski Ignacy 194, 195  
 Klimek-Szczykutowicz Marta 76, 77  
 Kloc Małgorzata 50, 51  
 Klos Krzysztof 112–115, 270, 271  
 Klos Marta 194, 195  
 Knap Bartosz 272, 273  
 Kobiela Julia 264, 265

Kochanowicz Elżbieta 124–127, 274, 275  
 Kolesińska Beata 144, 145  
 Kołodziej Andrzej 208, 209  
 Kordaczuk Jakub 154, 155  
 Korga-Plewko Agnieszka 174, 175  
 Korotkiewicz Adam 104, 105  
 Koseła-Paterczyk Hanna 148, 149  
 Kotowski Krzysztof 56, 57  
 Kowalczyk Joanna 192, 193  
 Kowalik Maciej Michał 168, 169  
 Kozak Joanna 162, 163  
 Kozak Paweł 168, 169  
 Kozeń Dawid 82, 83  
 Kozyra Paweł 174, 175  
 Krasowska Sylwia 110, 111  
 Krause Klaudyna 176, 177  
 Królikowska Katarzyna 182, 183  
 Kruczyńska Anna 40, 41  
 Krukow Paweł 98–101  
 Kryczka Jolanta 144, 145  
 Krzyszczak Agnieszka 226–230  
 Kubiak Jacek Z. 64–67, 112–115, 182, 183  
 Kubica Paweł 76, 77  
 Kubiński Konrad 122–127, 190–197, 252, 253, 274, 275  
 Kurowska Antonina 190, 191  
 Kurowska-Rucińska Ewelina 220–223, 238–241  
 Kurowski Grzegorz 208, 209  
 Kuterasiński Łukasz 208, 209  
 Kuźniar Agnieszka 40, 41  
 Kwaśnik Mateusz 124, 125, 192, 193, 274, 275

## L

Lango Romuald 168, 169  
 Laskowska Paulina 106, 107  
 Le Dez Gaëlle 84, 85, 178, 179  
 Lenarczyk Ewa 196, 197  
 Lenard Tomasz 124, 125, 204, 205, 274, 275  
 Leśniak Monika 112–115, 182, 183, 270, 271  
 Lewicki Sławomir 72, 73, 134, 135

Lewtak Kinga 128, 129  
 Lipińska-Opalka Agnieszka 198, 199  
 Lisowska Katarzyna A. 104, 105

## Ł

Ładniak Agata 250, 251  
 Łazarewicz Natalia 84, 85, 178, 179  
 Łopucki Rafał 194–197, 212, 213  
 Łoś Andrzej 168, 169  
 Łuczkiwicz Maria 104, 105  
 Łuszczewska-Sierakowska Iwona 136, 137  
 Łyko Lena 130, 131

## M

Maciejewska Agata 168, 169, 236, 237, 254, 255  
 Maciejewski Ryszard 162, 163, 242–245  
 Majewska Aleksandra 112–115, 180, 181, 262, 263  
 Majka Zbigniew 208, 209  
 Majkutewicz Irena 240, 241  
 Majzner Katarzyna 106, 107  
 Mak Paweł 154, 155  
 Maksymiuk Piotr 94–97  
 Malejczyk Jacek 62, 63  
 Malewska Karolina 116, 117  
 Małaczewska Joanna 108, 109, 116, 117, 152, 153  
 Małek Agata 206, 207  
 Markiewicz Lidia 184–187  
 Markiewicz-Gospodarek Agnieszka 232–235  
 Marszałek-Grabska Marta 272, 273  
 Martyna Aleksandra 122–125, 190–193, 274, 275  
 Marzec Paulina 252, 253  
 Masłyk Maciej 122–127, 190–195, 252, 253, 274, 275  
 Matak Damian 180, 181  
 Matyjaszyk Mateusz 94–97  
 Mazur Antonina J. 56, 57  
 Mazurkiewicz Ewa 56, 57  
 Mazurkiewicz Tomasz 94–97  
 Mencfel Radosław 214–217

Michalak Katarzyna 194, 195  
Michalak-Tomczyk Magdalena 86, 87  
Mielczarska Izabela 116, 117  
Mierzejewska Jagoda 82, 83  
Mikulska-Skupień Elżbieta 116, 117  
Mlak Radosław 248, 249  
Motyka Sara 76, 77, 218, 219  
Mrocza Robert 252, 253  
Mrówka Piotr 106, 107  
Myślińska Dorota 240, 241, 246, 247  
Myśliwiec Małgorzata 166, 167, 236, 237

## N

Nasulewicz-Goldeman Anna 122, 123  
Niedoszytko Marek 254, 255  
Nowak Renata 130, 131  
Nowakowska Anna M. 106, 107  
Nowicki Dariusz 176, 177

## O

Odzieniak Marta 110, 111  
Ogrodczyk Anna 184–187  
Olech Marta 124, 125, 130–133, 274, 275  
Oleński Kamil 184, 185  
Olszański Feliks 240, 241  
Ożga Kinga 212, 213, 248, 249

## P

Pajdak Anna 208, 209  
Pajtasz-Piasecka Elżbieta 82, 83  
Palusińska Małgorzata 134, 135, 150, 151, 224, 225  
Piątkowski Jakub 146, 147  
Pieniążek Małgorzata 56, 57  
Pierzynowska Karolina 46, 47  
Pietruszka Ewa 270, 271  
Piotrowska Magdalena 254, 255

Pitucha Monika 172–175  
Plewka Katarzyna 112–115, 270, 271  
Płotka Dominika 238, 239, 246, 247  
Podstawka Sylwia 132, 133  
Pogonowska Milena 266, 267  
Polkowski Wojciech 248, 249  
Poniewozik Małgorzata 124, 125, 204, 205, 274, 275  
Porębska Klaudia 114, 115, 182, 183, 270, 271  
Potrykus Katarzyna 170, 171  
Pribe Waldemar 42, 43  
Przykaza Kacper 250, 251  
Psurski Mateusz 122, 123  
Pyzik Dawid 94–97

## R

Rabut Gwenaël 84, 85, 178, 179  
Radoszkiewicz Klaudia 260, 261  
Radzikowska Elżbieta 242–245  
Ramotowska Ewelina 214, 215  
Rawicz-Pruszyński Karol 248, 249  
Rog Joanna 98–101  
Rogalewicz Bartłomiej 174, 175  
Rogała Władysław 94–97  
Rogowski Jan 168, 169  
Romanis Sandra 220–223, 238–241  
Romantowski Jan 254, 255  
Rożyńska Renata 270, 271  
Ruciński Jan 220–223, 238–241  
Rustecka Agnieszka 198–199, 266, 267  
Rutkowski Piotr 146–149  
Rybowska Paulina 256, 257, 260, 261  
Rymuszka Anna 86, 87, 120, 121, 138, 139, 200, 201

## S

Sadok Ilona 140, 141, 194, 195, 212, 213, 248, 249  
Sajnaga Ewa 188, 189  
Sampson Ajoku U. 124, 125, 274, 275

Saracyn Marek 58, 59  
 Sarnowska Anna 256–261  
 Sierakowska Alicja 118–121  
 Sierosławska Anna 86, 87, 138, 139, 200, 201  
 Sitarz Maciej 208, 209  
 Sitarz Ryszard 98–101  
 Siwicka-Gieroba Dorota 74, 75  
 Siwicki Andrzej Krzysztof 68, 69, 102, 103,  
 108, 109, 116, 117, 152, 153  
 Skopek Rafał 134, 135, 150, 151, 224, 225  
 Skrzypkowska Maria 166–169, 236, 237, 254,  
 255  
 Słodkowska Agnieszka 252, 253  
 Słomiński Bartosz 166–169, 236, 237, 254, 255  
 Smiatacz Tomasz 254, 255  
 Socjała Katarzyna 188, 189  
 Sofińska-Chmiel Weronika 128, 129  
 Sokół Kamil 148, 149  
 Soszyński Dariusz 118, 119  
 Spalek Mateusz J. 148, 149  
 Staniszevska Magdalena 140, 141  
 Szapowicz Agaton 252, 253  
 Starosławska Elżbieta 52, 53  
 Stelmasiak Marta 72, 73  
 Stolarczyk Elżbieta 192, 193  
 Sudół Adam 254, 255  
 Sulejczak Dorota 260, 261  
 Sułek Michał 154, 155  
 Sypecka Monika 258, 259  
 Szafran Klaudia 250, 251  
 Szalewska-Pałasz Agnieszka 176, 177  
 Szczygieł Agnieszka 82, 83  
 Szczylik Cezary 180, 181  
 Szermer-Olearnik Bożena 82, 83  
 Szofer-Sendrowska Aneta 168, 169  
 Szopa Agnieszka 76, 77, 218, 219  
 Szumera-Ciećkiewicz Anna 146–149  
 Szydłowski Maciej 106, 107  
 Szymańska Magdalena 260, 261  
 Szymański Łukasz 134, 135, 150, 151, 224, 225

## Ś

Śmiałek Justyna 154, 155  
 Śniegocki Tomasz 242, 243

## T

Telega Grzegorz 36, 37  
 Teterycz Paweł 146, 147  
 Tomaszewska Agata 182, 183  
 Trombik Tomasz 56, 57  
 Trzonkowski Piotr 48, 49, 166, 167, 236, 237,  
 254, 255  
 Turski Waldemar 272, 273  
 Tysarowski Andrzej 146–149

## W

Wajda Beata 154, 155  
 Wasilewska Ewa 184, 185  
 Wągradzki Michał 148, 149  
 Wdowiak Paulina 232–235  
 Wernike Kerstin 116, 117  
 Węgierek-Ciura Katarzyna 82, 83  
 Węgrzyn Grzegorz 46, 47  
 Węgrzynek Maria 198, 199  
 Wiater Adrian 188, 189  
 Wiącek Agnieszka Ewa 250, 251  
 Wielgosz Klaudia 112, 113  
 Wilkus Kinga 268, 269  
 Witkowski Jacek M. 104, 105  
 Wlaż Piotr 188, 189  
 Wnorowska Sylwia 206, 207  
 Wnuk Tomasz 94–97  
 Wojda Iwona 154, 155  
 Wolińska Agnieszka 40, 41  
 Wójcik Ewelina A. 88, 89  
 Wójcik-Mieszawska Sylwia 158, 159  
 Wróbel Małgorzata 116, 117, 152, 153  
 Wróblewska Anna 82, 83  
 Wróblewska Barbara 184–187



Wu Ambroise 56, 57  
Wysocki Robert 84, 85, 178, 179

## Z

Zabiegała Bożena 104, 105  
Zabłocki Krzysztof 256, 257  
Zabolewicz Tadeusz 184, 185  
Zajac Agnieszka E. 146, 147  
Zasowska Małgorzata 106, 107  
Zdanowski Robert 112–115, 182, 183, 270, 271  
Zelent Artur 134, 135, 150, 151, 224, 225  
Zieliński Rafał 42, 43  
Ziemichód Wojciech 130–133, 172, 173  
Złotkowska Dagmara 184, 185

## Ż

Żelazowska Renata 206, 207  
Żukociński Grzegorz 138, 139  
Żurawa-Janicka Dorota 264, 265