



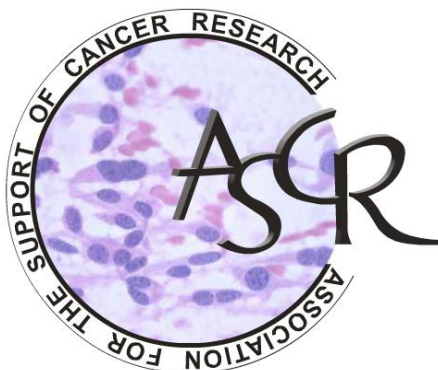
Politechnika
Śląska



**Narodowy
Instytut
Onkologii**

im. Marii Skłodowskiej-Curie
Państwowy Instytut Badawczy
Oddział w Gliwicach

VIII Śląskie Spotkania Naukowe Gliwice, 21 maja 2021



Opracowanie: dr hab. Magdalena Skonieczna

Organizatorzy

Politechnika Śląska w Gliwicach



**Narodowy Instytut Onkologii w
Gliwicach**



**Stowarzyszenie na Rzecz Wspierania
Badań nad Rakiem**



Komitet Naukowy

Prof. Joanna Rzeszowska

Prof. Katarzyna Lisowska

Prof. Piotr Widłak

Dr Alexander Cortez

Komitet organizacyjny

Dr Jacek Rogoliński

Dr Aleksander Sochanik

Dr inż. Roman Jaksik

Mgr inż. Dorota Hudy

Mgr inż. Małgorzata Adamiec

Dr hab. Magdalena Skonieczna

<http://gsn.io.gliwice.pl/index.php/ssn>

21.05.2021 Rozpoczęcie konferencji 9:50**10:00-11:12 Sesja I: Podstawowe Mechanizmy Molekularne - prowadzący Prof. Piotr Wiątk**

I.p.	godz.	Nazwisko	Imię	Jednostka	Tytuł prezentacji
1	10:00-10:12	Hudy	Dorota	Silesian University of Technology	Struktura mRNA a proces translacji
2	10:12-10:24	Ciesielska	Sylwia	Silesian University of Technology	Rola microRNA w regulacji stanu redoks
3	10:24-10:36	Będzińska	Agnieszka	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Wpływ białka p53 na geny aktywowane interferonem
4	10:36-10:48	Łasut-Szyska	Barbara	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Nowe spojrzenie na białko p53 w kontekście metabolizmu komórki
5	10:48-11:00	Mrowiec	Katarzyna	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Białka posiadające w strukturze domenę Lge1 oraz bogatą w serynę mogą być zaangażowane w metabolizm RNA
6	11:00-11:12	Pietrowska	Monika	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Porównanie profilu białkowego małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (sEV) wytwarzanych przez komórki niezłośliwe obecnych w osoczu zdrowych dawców oraz pacjentów z rozpoznaniem czerniaka

11:12-11:48 Sesja II: Bioinformatyka i Modelowanie Matematyczne - prowadzący dr Alexander Cortez

I.p.	godz.	Nazwisko	Imię	Jednostka	Tytuł prezentacji
1	11:12-11:24	Głodek	Anna	Silesian University of Technology	Analiza przynależności microRNA do rodzin
2	11:24-11:36	Kozłowska	Emilia	Silesian University of Technology	Platforma obliczeniowa do wykonywania wirtualnych prób klinicznych na przykładzie próby klinicznej SOLO-1 w raku jajnika
3	11:36-11:48	Mika	Justyna	Silesian University of Technology	Identyfikacja sekwencji receptorów limfocytów T w długich odczytach z sekwencjonowania nanoporowego

11:48-15:15 Sesja III: Biotechnologia Medyczna i Nowe Strategie Terapeutyczne - prowadzący Prof. Katarzyna Lisowska i Prof. Joanna Rzeszowska

I.p.	godz.	Nazwisko	Imię	Jednostka	Tytuł prezentacji
1	11:48-12:00	Gołąbek	Karolina	Medical University of Silesia	Znaczenie wybranych polimorfizmów genów CDKN2A i MDM2 w patogenezie raka płaskonabłonkowego jamy ustnej
2	12:00-12:12	Biesaga	Beata	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Próba wyróżnienia biologicznych czynników prognozujących wyniki uzupełniającego leczenia antracyklinami chorych na wczesne postaci raka piersi na podstawie analizy dyskryminacyjnej i funkcji klasyfikacyjnych

3	12:12-12:24	Gąsowska-Bajger	Beata	Faculty of Chemistry, University of Opole	Surwiwina jako potencjalny biomarker raka jajnika
4	12:24-12:36	Syrkis	Joanna	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Czy białko LOX może być markerem prognostycznym w raku jajnika?
5	12:36-12:48	Słonina	Dorota	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Chemiouwrażliwiający efekt niskich dawek frakcyjnych promieniowania jonizującego w komórkach raka szyjki macicy
6	12:48-13:00	Gdowicz-Kłosok	Agnieszka	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Genetyczne warianty EGFR jako czynniki modulujące wyniki terapii i prognozę u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca poddanych radioterapii i chemioradioterapii z wykorzystaniem pochodnych platyny
7	13:00-13:12	Kadela-Tomanek	Monika	Medical University of Silesia	Koniugaty betuliny z pochodnymi 5,8-chinolinodionu jako potencjalne substraty oksydoreduktaza NAD(P)H: chinonowej 1 (NQO1)
8	13:12-13:24	Kostka	Daria	Silesian University of Technology	Organoidowe hodowle komórkowe 3D w ocenie in vitro transmisji zanieczyszczeń środowiskowych i patogenów z powietrza

Przerwa 13:30-14:00

l.p.	godz.	Nazwisko	Imię	Jednostka	Tytuł prezentacji
9	14:00-14:12	Kupczak	Maria	Silesian University of Technology	Badania in vitro dyfuzji transdermalnej wybranych koniugatów polimer - lek
10	14:12-14:24	Nackiewicz	Joanna	University of Opole	Zastosowanie transdermalnych pochodnych diclofenaku o potencjale przeciwnowotworowym w badaniach in vitro wobec linii komórkowej Me45
11	14:24-14:36	Niesyto	Katarzyna	Silesian University of Technology	Synteza liniowych kopolimerów opartych na cholinowej poli(ciecicy jonowej) zdolnych do transportu leków przeciwgruźliczych
12	14:36-14:48	Paździor	Marlena	University of Silesia	Egzosomy z WP760 w badaniach nad terapią czerniaka złośliwego
13	14:48-15:00	Pilny	Ewelina	Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center	Wpływ systemowego podania mezenchymalnych komórek zrębu na powstawanie naczyń krwionośnych w mysim modelu niedokrwiennej kończyny
14	15:00-15:12	Wardecki	Dawid	Medical University of Silesia	Zastosowanie steroidów w leczeniu COVID-19

Zakończenie i dyskusja 15:15-16:00

16:00 Ogłoszenie wyników za najlepsze doniesienie SSN 2021

Sesja I: Podstawowe Mechanizmy Molekularne

[I-1] STRUKTURA mRNA A PROCES TRANSLACJI

Dorota Hudy^{1,2}, Joanna Rzeszowska-Wolny^{1,2}

¹ Katedra Inżynierii i Biologii Systemów, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska

² Centrum Biotechnologii, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska

W naszych badaniach zajmowałyśmy się mechanizmem działania miRNA w regulacji translacji. Porównywałyśmy ekspresję genu reporterowego kodującego lucyferazę, który zawierał w końcu 3 UTR sekwencje wiążące różne miRNA, w dwóch różnych typach komórek hodowanych *in vitro*.

Komórki HCT116 i Me45 były transfekowane plazmidami psiCHECK-2 zawierającymi gen reporterowy lucyferazę *Renilla*. Lucyferaza *Renilla* w końcu 3 miała 8 miejsc wiązania microRNA dla microRNA z rodziny Let-7, dla miR-21 lub miR-24. Po 24 godzinach od transfekcji zmierzono poziom RNA genów reporterowych oraz aktywność białek reporterowych i porównano z poziomami uzyskiwanymi dla genu bez miejsc wiązania miRNA. Efekty działania różnych miRNA w tych samych komórkach były różne. Z obecnością sekwencji wiążących miRNA-21 i 24 wiązał się spadek poziomu mRNA lucyferazy, podczas gdy obecność sekwencji wiążącej Let-7 nie wpływała na poziom mRNA w komórkach HCT116 a korelowała ze spadkiem w Me45. Większe zróżnicowanie w obrębie tego samego typu komórek jak i różnice specyficzne dla typu obserwowano w przypadku wpływu badanych miRNA na poziomy białka lucyferazy, miRNA-21 hamował całkowicie produkcję tego białka w obu liniach, miRNA-24 powodował nieznaczny spadek poziomu białka w komórkach HCT116 i wzrost poziomu w komórkach Me45, a przy oddziaływaniu Let-7 obserwowaliśmy stymulację translacji w HCT116 i jej hamowanie w Me45.

Cząsteczki mRNA tworzą samoistnie różne mniej lub bardziej skomplikowane struktury dwuniciowe, których obecność może być stabilizowana lub zmieniana przez oddziaływania z białkami. Bez takich oddziaływań mRNA mają tendencję do tworzenia struktur dwuniciowych, w których końce 5 i 3 leżą w pobliżu [1]. W naszych badaniach przeprowadziłyśmy analizę struktur różnych mRNA oraz cząsteczek mRNA lucyferazy posiadających w swoich końcach 3 sekwencje docelowe dla badanych miRNA. Porównanie różnych struktury transkryptów - nie tylko reporterowych potwierdziło tendencję, że koniec 5 znajduje się blisko końca 3. Sekwencje docelowe dla różnych miRNA tworzyły różne struktury przestrzenne, w części z nich sekwencje rozpoznawane przez miRNA występowały w konformacji dwuniciowej. Z zaprojektowanych 8 miejsc wiązania dla miR-21 (tzw. seed), tylko 4 występowały w konformacji jednoniciowej łatwo dostępnej dla wiązania RISC. W przypadku Let-7 takich dostępnych miejsc było 6 natomiast koniec 3 transkryptu z miejscami wiązania miR-24 niemal w całości był związany z częścią kodującą - jedno miejsce wiązania było dostępne. Omawiane struktury były wyznaczone na podstawie sekwencji RNA i nie uwzględniały przyłączonych białek. Z wyników naszych badań wnioskujemy, że głównym czynnikiem

warunkującym odpowiedź komórkową w przypadku działania miRNA będzie struktura mRNA.

1. Vicens, Q., Kieft, J. S. Rissland, O. S. Revisiting the Closed-Loop Model and the Nature of mRNA 5'3' Communication. *Mol. Cell* **72**, 805812 (2018).

[I-2] ROLA MICRORNA W REGULACJI STANU REDOKS

Sylwia Ciesielska¹, Izabella Ślęzak-Prochazka², Patryk Bil¹, Joanna Rzeszowska-Wolny¹

¹ Katedra Inżynierii i Biologii Systemów, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska

² Centrum Biotechnologii, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska

Reakcje redoks to wszystkie reakcje utleniania i redukcji, w których następuje przepływ elektronu związany z pojawianiem się i neutralizacją reaktywnych form tlenu (RFT). W komórkach RFT produkowane i neutralizowane są przez specjalne enzymy, które mogą być specyficznie aktywowane dla różnych typów komórek. Enzymy te tworzą w komórkach całe systemy, które odpowiedzialne są za utrzymanie homeostazy. Do enzymów produkujących RFT zalicza się oksydazy NADPH (NOX), czy syntazy tlenu azotu (NOS), enzymy neutralizujące RFT to między innymi katalaza, peroksyredoksyny, tioredoksyny, reduktazy tioredoksyny, reduktazy glutationu i wiele innych.

Większość genów kodujących białka związane z reaktywnymi formami tlenu (enzymy produkujące lub neutralizujące RFT) posiada sekwencje, rozpoznawane przez miRNA. miRNA tworzą z białkami Ago (ang. *Argonaute proteins*) kompleks RISC (ang. *RNA-induced silencing complex*), który wiąże się głównie z regionem 3'UTR mRNA (ang. *Messenger RNA*) posiadającego odpowiednią sekwencję. W rezultacie następuje degradacja danego transkryptu lub hamowana jest jego translacja. MiRNA biorą zatem udział w regulacji ekspresji genów związanych ze stresem oksydacyjnym, w związku z tym miRNA odgrywają ważną rolę w utrzymywaniu homeostazy stanu redoks. Regulacja enzymów antyoksydacyjnych ma na celu utrzymanie równowagi i przetrwanie w niestabilnym środowisku oksydacyjnym, jednak czasami pojawia się zaskakujące zjawisko, w którym stres oksydacyjny indukuje wzrost poziomów miRNA, które hamują transkrypty genów odpowiedzialnych za neutralizację RFT, a w rezultacie obniżają poziom antyoksydantów. Zjawisko to wskazuje na istnienie specyficznej roli miRNA w regulacji stanu redoks, a także wyrafinowanego systemu regulacyjnego RFT, który obejmuje dodatnie i ujemne sprzężenia zwrotne.

Regulacja stanu oksydoredukcyjnego wydaje się być kluczowym elementem decydującym o odpowiedzi komórek na różne bodźce środowiskowe czy stosowane w terapii. MiRNA, które biorą udział w regulacji genów związanych z produkcją i neutralizacją RFT, mogą więc pełnić istotną rolę w regulacji mechanizmów związanych ze stanem redoks w komórkach nowotworowych.

Praca była finansowana z grantu NCN: 2019/35/N/ST6/04281.

[I-3] WPŁYW BIAŁKA P53 NA GENY AKTYWOWANE INTERFERONEM

Agnieszka Będzińska¹, Barbara Łasut-Szyska¹, Marek Rusin¹

¹ Centrum Badań Translacyjnych, Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy w Gliwicach

Białko p53 odpowiada za wiele procesów, które przebiegają w każdej komórce nie tylko za apoptozę i blokowanie cyklu komórkowego. Od niedawna wiadomo, że białko p53 może regulować geny uczestniczące w odpowiedzi immunologicznej. W poprzednich latach potwierdzono związek p53 ze szlakiem sygnałowym zależnym od interferonów, jednak szczegóły tego związku są słabo poznane. Oddziaływanie supresoru nowotworowego p53 z sygnalizacją zależną od interferonu IFN-1, może kontrolować odpowiedź immunologiczną. IFN-1 aktywuje szlak JAK-STAT, którego rolą jest m.in. indukcja stanu antywirusowego w komórce; podobną funkcję pełnią niektóre białka zależne od p53. Jednak literatura naukowa jest uboga w wiedzę o dokładnym mechanizmie wzajemnej regulacji odpowiedzi aktywowanej przez p53 i IFN-1. W przyszłości wiedza ta mogłaby posłużyć, jako narzędzie w immunoterapii przeciwnowotworowej lub terapii przeciwwirusowej. Niniejszej pracy skupia się na ocenie wpływu aktywacji p53 na działanie genów, które wykazują zależność od IFN-1. Przedstawione badania prowadziliśmy *in vitro* na dwóch liniach nowotworowych A549 (linia ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc) oraz U-2OS (linia kostniakomięsaka). Komórki te poddaliśmy działaniu IFN-1, mieszaninie IFN-1 z mieszaniną chemioterapeutyków aktywujących p53 oraz chemioterapeutykami. W komórkach A549 potwierdziliśmy, że aktywacja p53 osłabia fosforylację czynnika transkrypcyjnego STAT1, która jest inicjowana działaniem IFN-1. Ponadto zaobserwowaliśmy, że w tych komórkach wzrostowi ilości białka SOCS1, które wykazuje zależność od białka p53, towarzyszy spadek stopnia fosforylacji STAT1. Co ciekawe, w komórkach A549 z wyciszonym p53 odnotowaliśmy niezdolność chemioterapeutyków aktywujących p53 do osłabiania fosforylacji STAT1, indukowanej IFN-1. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdziliśmy, że nie tylko obecność IFN-1 aktywuje szlak JAK-STAT, poprzez fosforylację białka STAT1, ale jest on również zależny od p53. Uzyskane wyniki rzucają nowe światło na rolę białka p53 oraz genów potencjalnie od niego zależnych, wskazując nowe, dotąd nieopisane mechanizmy współzależności między IFN-1 i p53.

Praca powstała w wyniku grantu nr 2019/35/0/NZ5/026000 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, Polska (NCN).

[I-4] NOWE SPOJRZENIE NA BIAŁKO p53 W KONTEKŚCIE METABOLIZMU KOMÓRKI

Barbara Łasut-Szyska¹, Agnieszka Gdowicz-Kłosok¹, Małgorzata Krześniak¹,
Agnieszka Będzińska¹, Marek Rusin¹

¹ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach, 44-102 Gliwice, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, Polska

Białko p53 od lat przyciąga uwagę wielu naukowców. Jest ono przede wszystkim klasyfikowane, jako regulator transkrypcji działający przeciwnowotworowo. Zaobserwowaliśmy, że dwie substancje, aktynowycyna D i nutlina-3a, stymulujące p53 na różne sposoby i działając jednocześnie (A+N), powodują synergistyczną aktywację p53, a w konsekwencji synergistyczny wzrost ekspresji wielu genów zależnych od p53. Synergizm działania tych cząsteczek wynika prawdopodobnie z faktu, że aktynowycyna D pobudza kinazy fosforylujące p53, a nutlina-3a blokując białko MDM2, umożliwia aktywnym kinazom łatwy dostęp do p53. Wykonane przez nas sekwencjonowanie transkryptomu (RNA-Seq) komórek A549 z synergistyczną aktywacją p53 za pomocą A+N ujawniło, co najmniej 10-krotny wzrost ekspresji ok. 500 genów. Tylko część z nich to znane cele białka p53. Okazuje się, że istnieje jeszcze bardzo wiele genów, które dotychczas nie powiązано z badanym białkiem. W ten sposób możemy zidentyfikować geny, które wymagają silnej stymulacji aktywności p53.

Na podstawie uzyskanych przez nas wyników oraz w oparciu o dostępne bazy danych dotyczących miejsca wiązania p53 wytypowaliśmy kilka genów związanych z metabolizmem komórki, dotąd nie zidentyfikowanych, jako cel molekularny białka p53. Do genów aktywowanych przez badane substancje należy: *CTSH* (ang. Cathepsin H), *RETSAT* (ang. Retinol Saturase) oraz *APOE* (ang. Apolipoprotein E). Gen *CTSH* koduje białko, będące lizosomalną proteinazą cysteinową, ważną w ogólnej degradacji białek lizosomalnych. *RETSAT* katalizuje reakcję przekształcenia trans-retinolu do trans-13,14-dihydroretinolu. Ponadto, niezależnie od produkcji trans-13,14-dihydroretinolu, białko *RETSAT* aktywuje w nieznanym sposobie czynnik transkrypcyjny ChREBP, który jest induktorem lipogenezy w wątrobie. Gen *APOE*, koduje apolipoproteinę E, która odgrywa kluczową rolę w metabolizmie lipidów w ośrodkowym układzie nerwowym.

Głównym celem przedstawionych badań jest identyfikacja nowych genów regulowanych przez białko p53 w kontekście metabolizmu komórki, które nie zostały poznane do tej pory.

Wyniki RNA-Seq zostały zwalidowane poprzez ocenę ekspresji oraz zależności od p53 metodą ilościowej reakcji RT-PCR, w oparciu o posiadane komórki z wyciszonym genem p53 oraz komórki kontrolne. Dodatkowo dla genu *CTSH* oraz *RETSAT* zostało przeprowadzone, przy użyciu rutynowych metod biologii molekularnej, klonowanie

molekularne fragmentów DNA z potencjalnymi miejscami wiązania p53 oraz wykonano badanie za pomocą testów lucyferazowych regulacji ze strony p53.

Kluczowym rezultatem projektu jest poznanie nowych mechanizmów oraz lepsze zrozumienie znanych już ścieżek sygnalizacyjnych kontrolowanych przez białko p53 w komórce nowotworowej. Praca wskazuje, że p53 uczestniczy nie tylko w regulacji cyklu komórkowego i apoptozy, ale również w procesach związanych z metabolizmem komórki.

Praca powstała w wyniku grantu nr. 2017/27/N/NZ5/01079 BŁ-S finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, Polska (NCN).

[I-5] BIAŁKA POSIADAJĄCE W STRUKTURZE DOMENĘ LGE1 ORAZ BOGATĄ W SERYNĘ MOGĄ BYĆ ZAANGAŻOWANE W METABOLIZM RNA

Katarzyna Mrowiec¹, Marek Chadalski¹, Natalia Vydra¹, Patryk Janus^{1,2}, Anna Paszek¹, Monika Pietrowska¹, Agnieszka Toma-Jonik¹, Michalina Gramatyka¹, Wiesława Widłak¹

¹ Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach, Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-102 Gliwice, Polska

² Politechnika Śląska, Akademicka 16, 44-100 Gliwice, Polska

Mysie białko BFARv3 (izoforma 3 BFAR) kodowane jest przez gen zlokalizowany w pierwszym intronie genu *Bfar* (*bifunctional apoptosis regulator*). Co ciekawe, gen *Bfar* v3 ma ortologi w tej lokalizacji tylko w genomach szczura i chomika. Analiza pochodzenia genu wykazała, że prawdopodobnie pochodzi on od peryfiliny 1 (*PPHLN1*). Peryfilinie, jako składowej kompleksu HUSH (*Human Silencing Hub*), przypisuje się funkcje w epigenetycznej regulacji aktywności chromatyny. Zarówno BFARv3 jak i PPHLN1 charakteryzują się obecnością dwóch domen: bogatej w serynę oraz Lge1. Poszukując funkcji BFARv3 wykonaliśmy koimmunoprecypitację (co-IP) białka fuzyjnego BFARv3/EGFP połączoną ze spektrometrią mas i wykazaliśmy, że oddziałuje ono z białkami rybosomalnymi 40S (RPS3, RPS14, RPS19, RPS25, RPS27), histonami (H1.2, H1.4, H3.3C), białkami zaangażowanymi w dojrzewanie i splicing RNA (SFPQ, SNRPA1, HNRNPA3, NONO, KHDRBS3), białkami sygnalizacji wapniowej (HPCAL1, PTK2B), a także HSD17B4, GRB14, POSTN i MYO10. Oddziaływania z białkami NONO oraz SFPQ (tworzącymi kompleksy z RNA i wchodzącymi w skład granul jądrowych *paraspeckles*) potwierdziliśmy metodą co-IP/western blot oraz PLA (*proximity ligation assay*). Do tych oddziaływań niezbędne są obie domeny obecne w strukturze białka. Wykryliśmy również oddziaływania PPHLN1 z NONO i SFPQ, co sugeruje nową funkcję tego białka w metabolizmie RNA. Analizy z użyciem mikroskopii przyżyciowej wykazały, że zarówno BFARv3/EGFP jak i mutanty pozbawione poszczególnych domen zlokalizowane są preferencyjnie w jądrze. Tym niemniej, wyłącznie pełna forma BFARv3/EGFP tworzy granule jądrowe w odpowiedzi na stres oksydacyjny oraz promieniowanie jonizujące.

Uzyskane wyniki wskazują, że BFARv3 i PPHLN1 są strukturalnie i funkcjonalnie podobne i mogą być zaangażowane w metabolizm RNA. Mysi gen *Bfar* v3 należy traktować, jako oddzielny gen, homolog *Pphln1*, a nie izoformę *Bfar*.

Praca została finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki (numer grantu 2014/13/B/NZ3/04650)

[I-6] PORÓWNANIE PROFILU BIAŁKOWEGO MAŁYCH PĘCHERZYKÓW ZEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH (sEV) WYTWARZANYCH PRZEZ KOMÓRKI NIEZŁOŚLIWE OBECNYCH W OSOCZU ZDROWYCH DAWCÓW ORAZ PACJENTÓW Z ROZPOZNANIEM CZERNIAKA

Aneta Zebrowska¹, Marta Gawin¹, Lucyna Ponge¹, Piotr Widlak¹, Sujan Mondal², Soldano Ferrone³, Theresa Whiteside⁴, Monika Pietrowska¹

¹ Narodowy Instytut Onkologii – Państwowy Instytut Badawczy, Gliwice, Polska

² UPMC Hillman Cancer Center, University of Pittsburgh Cancer Institute, Pittsburgh Pennsylvania, USA

³ Massachusetts General Hospital, Harvard University, Boston, MA 02114, USA

⁴ Department of Pathology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh Pennsylvania, USA

Wprowadzenie

Ostatnie badania wykazują, że rola małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (sEV) pochodzących z komórek niezłośliwych obecnych w osoczu pacjenta z rozpoznaniem nowotworu może być równie ważna w rozwoju nowotworu, jak rola sEV wytwarzanych przez komórki nowotworowe. Molekularny profil sEV pochodzących z komórek niezłośliwych obecnych u pacjentów z rozpoznaniem czerniaka, na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań, może przyczyniać się do zahamowania odpowiedzi immunologicznej przeciwnowotworowej oraz przeprogramowania mikrośrodowiska guza. W celu sprawdzenia powyższych obserwacji wykorzystaliśmy obecność specyficznego antygenu na błonach sEV uwalnianych z komórek czerniaka (CSPG4). Z wykorzystaniem przeciwciała anti-CSPG4 podzieliliśmy populację sEV na dwa zbiory nanocząsteczek: (1) wytwarzane przez komórki złośliwe (CSPG4(+), nazywane MTEX) oraz (2) pozostałe reprezentujące sEV produkowane przez wszystkie rodzaje niezłośliwych komórek (CSPG4(-), NMTEX). Porównanie składu proteomu małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych produkowanych przez niezłośliwe komórki obecne w osoczu pacjentów z rozpoznaniem czerniaka z analogicznymi pęcherzykami osób zdrowych pozwoli naszym zdaniem zidentyfikować cechy profilu molekularnego sEV odpowiedzialne za zahamowanie odpowiedzi przeciwnowotworowej indukowanej przez małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe pochodzenia nienowotworowego.

Metodyka badań

Próbki osocza pobrano od 10 zdrowych dawców (HD) i 10 pacjentów z rozpoznaniem przerzutowego czerniaka. sEV wyizolowane zostały z wykorzystaniem chromatografii wykluczania ze względu na wielkość (SEC), a ich obecność we frakcji # 4 została potwierdzona za pomocą następujących technik: Western blot (CD63, CD9, CD81, Alix), mikroskopii elektronowej (TEM) oraz analizy śledzenia nanocząstek (NTA). Frakcja # 4 pacjentów z rozpoznaniem przerzutowego czerniaka została poddana procedurze wychwytywania z wykorzystaniem przeciwciała anti-CSPG4. Frakcję

niezwiązaną z przeciwciałem tj. CSPG4(-) wykorzystano do dalszych badań. Dla dwóch typów pęcherzyków zewnątrzkomórkowych: (i) wyizolowanych z osocza zdrowych osób oraz (ii) izolowanych z osocza pacjentów z rozpoznaniem czerniaka o fenotypie CSPG4(-) wykonano analizę profilu peptydów tryptycznych za pomocą wysokorozdzielczej spektrometrii mas (HRMS).

Wyniki

Profile proteomiczne małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, pochodzących z niezłośliwych komórek obecnych w osoczu pacjentów nowotworowych, o fenotypie CSPG4(-) istotnie różniły się od profili sEV izolowanych od osób zdrowych. Zidentyfikowaliśmy około 500 białek na frakcję sEV. Różnice profilu zidentyfikowanych białek wskazywały na wyższą zawartość białek immunosupresyjnych w sEV CSPG4(-) niż w sEV izolowanych od osób zdrowych. Zostało to również potwierdzone w badaniach funkcjonalnych z wykorzystaniem obu badanych typów małych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych z pierwotnymi komórkami odpornościowymi.

Małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe CSPG4(-) są źródłem sEV o funkcjach immunosupresyjnych podobnych do tych reprezentowanych przez małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe sEV pochodzące z komórek czerniaka.

Finansowanie: Badania otrzymały dofinansowanie z Narodowego Centrum Nauki, grant 2016/22/M/NZ5/00667 (MP) oraz National Institute of Health: R01 CA168628 i U01-DE029759 (TW).

Sesja II: Bioinformatyka i Modelowanie Matematyczne

[II-1] PARAMETRY FARMAKOKINETYCZNE, ADME ORAZ REGUŁY LIPINSKIEGO WYBRANYCH NOWYCH DIAZAFENOTIAZYN Z PIERŚCIENIEM 1,2,3-TRIAZOLOWYM

Karolina Cholewa¹, Joanna Jamroży¹, Beata Morak-Młodawska², Małgorzata Jeleń²

¹ *Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

² *Katedra i Zakład Chemii Organicznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

Aktywność biologiczna związku chemicznego jest związana bezpośrednio z jego właściwościami fizykochemicznymi, determinującymi farmakokinetykę, czyli losy substancji aktywnej w drodze do osiągnięcia celu molekularnego oraz jego biodostępność czy też toksyczności [1]. Kontynuując prowadzone w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej badania nad bioaktywnymi dipirydotiazynami [2-4] otrzymaliśmy grupę nowych diazafenotiazyn z pierścieniem 1,2,3-triazolowym, dla których zostały ocenione *in silico* reguły Lipinskiego, parametry ADME jak i prawdopodobny profil aktywności biologicznej.

Struktury nowych molekuł zostały w sposób jednoznaczny udokumentowane badaniami spektroskopowymi a parametry farmakokinetyczne i ADME zostały obliczone przy pomocy metod komputerowych [5]. Dla grupy badanych związków zostały oznaczone parametry Lipinskiego w celu określenia prawdopodobnej dyspozycyjności tych pochodnych, jako przyszłych substancji leczniczych.

Literatura

- 1 J. A. Arnot, S. L. Planey. *Expert Opin Drug Discov.*, 7 (2012) 863-875.
- 2 K. Pluta, M. Jeleń, B. Morak-Młodawska, M. Zimecki, J. Artym, M. Kocięba. *Pharmacol. Rep.*, 62 (2010) 319-332.
- 3 B. Morak-Młodawska, K. Pluta, M. Zimecki, M. Jeleń, J. Artym, M. Kocięba. *Med. Chem. Res.*, 24 (2015) 1408-1418.
- 4 B. Morak-Młodawska, K. Pluta, M. Latocha, K. Suwińska, M. Jeleń, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 31 (2016) 1512-1519.
- 5 <http://www.vcclab.org/lab/alogps/start.html> , <http://www.swissadme.ch/>

[II-2] ANALIZA PRZYNALEŻNOŚCI MICRORNA DO RODZIN

Anna Glodek¹, Joanna Polańska¹

¹ Politechnika Śląska, Gliwice, Polska

microRNA to składające się z ok. 21-23 nukleotydów, niekodujące, jednoniciowe cząsteczki RNA. Regulują ekspresję genów poprzez inhibicję translacji oraz deadenylację. W ostatnich latach odkryto powiązania microRNA z rozwojem różnych chorób człowieka, takich jak między innymi choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, rak piersi oraz rak płuca. Cząsteczki microRNA są pogrupowane w rodziny. microRNA wchodzące w skład danej rodziny pełnią podobne funkcje fizjologiczne, a czasem cechują się także konserwatywnością sekwencji lub struktury drugorzędowej. Celem pracy jest analiza przynależności microRNA do rodzin. Badania zostały przeprowadzone na podstawie potwierdzonych eksperymentalnie oddziaływań microRNA na geny, znajdujących się w bazie danych miRTarBase. Wzajemne powiązania i zależności pomiędzy różnymi genami pochodzą z bazy danych STRING. Stworzono grafy powiązań rodziny microRNA z genami, na które oddziałuje, wyznaczonymi w sposób eksperymentalny. Dodatkowo, analizę przeprowadzono również pod kątem sekwencji nukleotydowych, microRNA wchodzących w skład danej rodziny. Uzyskane wyniki pozwalają na zróżnicowanie i scharakteryzowanie oddziaływań danej rodziny microRNA na ekspresję genów oraz wykazanie różnic pomiędzy strukturą interakcji z genami docelowymi różnych rodzin microRNA. Zaproponowana metoda pozwoli w przyszłości na prototypowanie interakcji microRNA-gen na podstawie cech charakterystycznych dla danej rodziny microRNA.

[II-3] PLATFORMA OBLICZENIOWA DO WYKONYWANIA WIRTUALNYCH PRÓB KLINICZNYCH NA PRZYKŁADZIE PRÓBY KLINICZNEJ SOLO-1 W RAKU JAJNIKA

Emilia Kozłowska¹, Anniina Färkkilä², Krzysztof Puszyński¹

¹ *Katedra Inżynierii i Biologii Systemów, Politechnika Śląska, Polska*

² *Research Programme in Systems Oncology, University of Helsinki*

Badania przedkliniczne oraz próby kliniczne są czasochłonne oraz kosztowne. Dodatkowo, tylko niewielka ilość leków, które są badane w fazie przedklinicznej z powodzeniem pojawiają się na rynku farmaceutycznym. Dlatego, koszt prób klinicznych to nie tylko koszt badań nad jednym lekiem, ale również koszt badań nad tymi lekami, które nie przeszły rygorystycznego procesu wdrażania. Kolejnym stopniem komplikacji jest ocena efektów terapii mieszanych, w których badamy nie tylko działanie pojedynczego leku, ale kombinacji wielu leków. Czaśo- i kosztochłonność prób klinicznych uzasadnia konieczność wykorzystania narzędzi matematycznych i systemów komputerowych celem określenia czy dany lek lub kombinacja leków ma szansę być skuteczną i wdrożoną na rynku. Podejście to można oprzeć o tzw. wirtualnych pacjentów tj. agentów, którzy odwzorowują pacjentów rzeczywistych wraz z ich heterogenicznością i którzy poddawani są testowanej terapii.

W naszej pracy stworzyliśmy platformę komputerową opartą o model matematyczny celem znajdowania nowych kombinacji leków w nowotworach jajnika. Wirtualni pacjenci stworzeni przy użyciu metod statystycznych różnią się między innymi takimi parametrami jak: rozmiar guza podczas diagnozy, tempo wzrostu komórek nowotworowych i toksyczność. Następnie, dla każdego z pacjentów wykonaliśmy symulacje, aby określić przebieg choroby od diagnozy aż do wznowy lub śmierci/wyleczenia. Takie przebiegi od indywidualnych wirtualnych pacjentów mogą posłużyć, jako dane wejściowe do takich modeli statystycznych jak modele przeżycia. Zbudowana platforma obliczeniowa pozwala więc przewidzieć efekt nowych, terapeutyków lub ich kombinacji na prognozę pacjenta stosunkowo szybko i tanio.

Stworzoną platformę obliczeniową przetestowaliśmy na próbie klinicznej zastosowania Olaparibu (inhibitor PARP) w raku jajnika. Próba ta nazywa się SOLO-1 i testuje ona możliwość zastosowania Olaparibu jako terapii podtrzymującej po leczeniu chemioterapią (opartą o związki platyny) w leczeniu pierwotnym. W ramach projektu, dopasowaliśmy stworzony system do dostępnych publicznie w bazie clinicaltrials.gov wyników z próby SOLO-1 celem reprodukcji rezultatów. Uzyskane wyniki z symulacji komputerowych wiernie odzwierciedlają wyniki rzeczywiste.

Następnie, po dopasowaniu modelu do danych z próby klinicznej SOLO-1, platformę obliczeniową wykorzystaliśmy między innymi do określenia optymalnej długości leczenia podtrzymującego Olaparibem. Dzięki temu można obniżyć nie tylko

toksyczność terapii podtrzymującej, ale również jej koszt. W ramach dalszych prac, planowane jest zastosowanie stworzonej platformy do testowania innych inhibitorów PARPu, które nie są dopuszczone przez EMA.

Podsumowując, stworzyliśmy platformę obliczeniową, której celem jest przewidywanie skuteczności nowych leków onkologicznych lub nowego schematu leczenia dostępnych leków. Platforma umożliwia nie tylko określenie czasu optymalnego podawania leków, ale również określenia ewentualnej hemo-toksyczności leczenia.

[II-4] IDENTYFIKACJA SEKWENCJI RECEPTORÓW LIMFOCYTÓW T W DŁUGICH ODCZYTACH Z SEKWENCJONOWANIA NANOPOROWEGO

Justyna Mika¹, Christophe Badie², Serge Candeias³, Joanna Polańska¹

¹ *Katedra Inżynierii i Analizy Eksploracyjnej Danych, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska*

² *Cancer Mechanisms and Biomarkers group, Radiation Effects Department, Public Health England, Didcot, United Kingdom*

³ *Laboratory of Chemistry and Biology of Metals, French Alternative Energies and Atomic Energy Commission, Grenoble, France*

Limfocyty T są jednymi z komórek odpowiedzialnych za nabytą odpowiedź immunologiczną. Każda komórka T ma na swojej powierzchni receptor (TCR), którego sekwencja, komplementarna z peptydami antygenowymi, powstaje podczas procesu rekombinacji VDJ. Proces ten polega na selekcji i złożeniu po jednym z segmentów genowych V, D i J w ekson kodujący regiony determinujące komplementarność (CDR). Wśród nich, region CDR3 charakteryzuje się największą zmiennością. Za dodatkową zmienność odpowiadają również nukleotydy wstawiane losowo pomiędzy segmenty genowe podczas rearanżacji oraz różne łańcuchy tworzące receptor, z czego α i β występują najczęściej.

Do identyfikacji sekwencji TCR zazwyczaj wykorzystuje się techniki celowanego sekwencjonowania. Jednak istnieje również możliwość detekcji sekwencji CDR3 wewnątrz odczytów z genomowego sekwencjonowania RNA, które nie zmapowały się do genomu referencyjnego. Jedną z wiodących obecnie metod sekwencjonowania jest technika nanoporowa pozwalająca na szybki odczyt długich sekwencji. W ramach bieżącego projektu zbadano możliwość identyfikacji sekwencji TCR w danych z sekwencjonowania Oxford Nanopore.

Dane zostały pozyskane metodą sekwencjonowania nanoporowego PromethION materiału RNA wyizolowanego z próbek ludzkiej krwi obwodowej oraz wzbogaconego w łańcuch pol-A. Zaproponowany schemat analizy zawierał: i) kontrolę jakości surowych odczytów z wykorzystaniem narzędzia NanoPack, ii) mapowanie sekwencji do ludzkiego genomu referencyjnego GRCh38 za pomocą algorytmu Minimap2, iii) identyfikację sekwencji zmapowanych do regionów kodujących TCR z wykorzystaniem pakietu RSamtools, oraz iv) identyfikację sekwencji aminokwasowych CDR3 za pomocą algorytmu ImReP.

Zidentyfikowano 73 904 478 odczytów o średniej długości 794 nukleotydów oraz średniej jakości sekwencjonowania równej 80%. 54 218 305 (73,36%) odczytów zostało zmapowanych do genomu referencyjnego z bardzo wysoką dokładnością (ok. 99,995%). Spośród nich odpowiednio 0,02% oraz 0,11% zostało zmapowanych do regionów kodujących łańcuchy α oraz β . Częściowe sekwencje CDR3 zidentyfikowano wewnątrz

306 266 odczytów dla łańcucha α oraz 261 331 odczytów dla łańcucha β . Zdecydowana większość z nich pochodziła z odczytów niezmapowanych do genomu referencyjnego. Pełne sekwencje CDR3 zidentyfikowano jedynie w 5 odczytach dla łańcucha α .

Zastosowany algorytm pozwolił na identyfikację spodziewanej liczby częściowych sekwencji CDR3, jednak bardzo małej liczby pełnych sekwencji CDR3. Prawdopodobnie jest to efekt relatywnie niskiej jakości sekwencjonowania, grającej dużą rolę w przypadku identyfikacji sekwencji tworzącej wysoce zmienny ekson CDR3. Wnioskuje się o potrzebie dopracowania algorytmów do detekcji sekwencji TCR z długich odczytów.

Praca sfinansowana przez Europejski Fundusz Społeczny (POWR.03.02.00-00-1029) [JM] oraz subwencję na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego Politechniki Śląskiej [JP].

**Session III: Biotechnologia
Medyczna i Nowe Strategie
Terapeutyczne**

[III-1] ZNACZENIE WYBRANYCH POLIMORFIZMÓW GENÓW CDKN2A I MDM2 W PATOGENEZIE RAKA PŁASKONABŁONKOWEGO JAMY USTNEJ

Karolina Gołąbek¹, Jadwiga Gaździcka¹, Joanna Katarzyna Strzelczyk¹, Krzysztof Biernacki¹, Paweł Kiczmer², Katarzyna Miśkiewicz-Orczyk³, Łukasz Krakowczyk⁴, Maciej Misiotek³

¹ *Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

² *Katedra i Zakład Patomorfologii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

³ *Katedra i Oddział Kliniczny Otorynolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

⁴ *Klinika Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej, Narodowy Instytut Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach*

WSTĘP

Rak płaskonabłonkowy jamy ustnej (OSCC) jest najczęstszym typem raka płaskonabłonkowego głowy i szyi (HNSCC). Polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP) genów, które są zaangażowane w naprawę DNA, kontrolę cyklu komórkowego i metabolizm związków kancerogennych mogą być kluczowym czynnikiem genetycznym, mającym znaczenie w patogenezie OSCC. CDKN2A (cyclin dependent kinase inhibitor 2A) jest genem supresorowym kodującym białko, które uczestniczy w regulacji cyklu komórkowego na etapie przejścia z fazy G1 do S. Innym ważnym genem w kancerogenezie jest MDM2 (murine double minute 2) - onkogen, który pełni rolę, jako negatywny regulator p53. Celem badania było wykazanie znaczenia polimorfizmów rs11515 i rs3088440 CDKN2A oraz rs769412 i rs937283 MDM2 w patogenezie OSCC.

MATERIAŁ I METODY

Badanie zostało przeprowadzone z wykorzystaniem 95 próbek guza pierwotnego zlokalizowanego w obrębie jamy ustna. Pacjenci włączeni do badania nie byli poddawani przedoperacyjnej radioterapii lub chemioterapii. Grupę kontrolną stanowiło 100 zdrowych osób. Badanie uzyskało zgodę odpowiednich Komisji Bioetycznych (KNW/022/KB1/49/16, KB/493-15/08 oraz KB/430-47/13). Do homogenizacji tkanek wykorzystano aparat FastPrep-24 i próbki Lysing Matrix A. Genomowe DNA z guzów izolowano z wykorzystaniem zestawu Blood Tissue Kits (Qiagen). DNA w grupie kontrolnej zostało wyizolowane z wymazów błony śluzowej jamy ustnej przy pomocy zestawu Swab-Extract DNA Purification Kit (EURx). Analizę jakościową i ilościową wyizolowanego DNA przeprowadzono metodą spektrofotometryczną wykorzystując aparat Biochrom WPA Biowave DNA UV/Vis Spectrophotometer. W celu oznaczenia SNP wykorzystano aparat QuantStudio 5 Re-al-Time PCR System (Applied Biosystems, USA). Reakcje zostały przeprowadzone na 96-dółkowych płytках z wykorzystaniem dwóch typów sond umożliwiających detekcję dwóch różnych alleli.

Do przeprowadzenia wszystkich analiz statystycznych wykorzystano oprogramowanie STATISTICA 13 dla systemu Windows.

WYNIKI

Średnia wieku pacjentów z OSCC wynosiła 62 lata (w zakresie: 15-78 lat). Do grupy badanej należało 69 mężczyzn i 26 kobiety. 65 pacjentów stosowało wyroby tytoniowe; 64 zgłosiło nadużywanie alkoholu; 51 pacjentów należało do obu grup. Średni wiek w grupie kontrolnej wynosił 52, 92 lata (w zakres: 18-69 lat). W grupie kontrolnej było 22 mężczyzn i 78 kobiet. Do grupy tej należało 20 osób spożywających wyroby tytoniowe i 68 osób nadużywających alkohol, a 20 należało do obu grup. Analiza statystyczna nie ujawniła zależności pomiędzy badanymi polimorfizmami genów CDK2A i MDM2 a ryzykiem OSCC. Stwierdzono jedynie, że homozygoty AA dla rs3088440 występowały znacznie częściej w grupie kontrolnej (OR = 0, 046, p 0, 0001) niż w badanej. Ponadto nie stwierdzono istotnych powiązań parametrów demograficznych i kliniczno-patologicznych z badanymi polimorfizmami.

WNIOSEK

W badanej grupie nie wykazano znaczenia polimorfizmów rs11515 i rs3088440 CDKN2A oraz rs769412 i rs937283 MDM2 w patogenezie OSCC.

[III-2] PRÓBA WYRÓŻNIENIA BIOLOGICZNYCH CZYNNIKÓW PROGNOZUJĄCYCH WYNIKI UZUPEŁNIAJĄCEGO LECZENIA ANTRACYKLINAMI CHORYCH NA WCZESNE POSTACI RAKA PIERSI NA PODSTAWIE ANALIZY DYSKRYMINACYJNEJ I FUNKCJI KLASYFIKACYJNYCH

Beata Biesaga¹, Marek Ziobro², Anna Mucha-Małecka³, Dorota Slonina¹, Joanna Wysocka⁴, Andrzej Sokołowski⁵

¹ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii PIB, Oddział w Gliwicach

² Klinika Onkologii Klinicznej, Narodowy Instytut Onkologii PIB, Oddział w Krakowie

³ Zakład Radioterapii, Narodowy Instytut Onkologii PIB, Oddział w Krakowie

⁴ Zakład Patomorfologii Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii PIB, Oddział w Krakowie

⁵ Katedra Statystyki, Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie

Wstęp i cel: W przypadku chorych na raka piersi o zaawansowaniu T1-T2, N1, M0, a zatem z przerzutami do regionalnych węzłów chłonnych, po uzupełniającym leczeniu antracyklinami obserwuje się wznowę choroby u około 60% kobiet. Leczenie to wiąże się także z poważnymi powikłaniami ze strony układu sercowo-naczyniowego. Przesłanki te sugerują pilną potrzebę wyróżnienia czynników prognostycznych dla uzupełniającego leczenia, czyli takich, które wskażą na odpowiedź nowotworu po chemioterapii. Celem pracy jest ocena prognostycznej wartości wybranych parametrów biologicznych raka piersi dla uzupełniającego leczenia antracyklinami i próba stworzenia na ich podstawie modelu pozwalającego na wybór odpowiedniej metody leczenia.

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono w grupie 172 chorych na raka piersi o zaawansowaniu klinicznym T1-T2, N1-N2, M0, nieleczonych uprzednio przeciwnowotworowo. Średni wiek wynosił 52, 8 lat 0,6 (SE). Ekspresję receptorów estrogenowego (ER) i progesteronowego (PgR), HER2, topoizomerazy IIa (TOPOIIa), P53, Ki-67, BCL-2 oraz gęstość unaczynienia (MVD) i poziom apoptozy oceniono metodą immunohistochemiczną. Zbadano zależności między cechami klinicznymi i biologicznymi raka oraz ich wpływ na 5-letnie przeżycia bezobjawowe (DFS). Dla opracowania modelu klasyfikacji chorych do grup o określonej reakcji na leczenie posłużono się analizą dyskryminacyjną i metodą funkcji klasyfikacyjnych.

Wyniki: W grupie 172 nowotworów, nadekspresję ER, PgR, HER2, TOPOIIa, P53 i BCL-2, stwierdzono odpowiednio w 68,8%, 66,0%, 38,3%, 50,4%, 29,1% i 23,4% guzów. Wykazano 43,0% raków charakteryzujących się dużym tempem proliferacji, 28,5% dużym MVD, a 23,3% wysokim poziomem apoptozy. W analizie jednoparametrycznej stwierdzono istotnie dłuższe DFS dla chorych na nowotwory o niższych stopniach złośliwości histologicznej (G1+G2), z nadekspresją receptorów hormonalnych, bez nadekspresji TOPOIIa, z nadekspresją BCL-2, o większej MVD i małym poziomie apoptozy. Wieloczynnikowa analiza Coxa wskazała ekspresję TOPOIIa,

BCL-2 i MVD, jako niezależne czynniki prognostyczne. Analiza dyskryminacyjna i funkcje klasyfikacyjne ujawniły, że tylko jedna kombinacja cech biologicznych nowotworu sugeruje powodzenia leczenia: nadekspresja TOPOIIa, mała MVD i duży poziom apoptozy, ze swoistością 91% i ujemną wartością predykcyjną 84%.

Wniosek: Zastosowanie analizy dyskryminacyjnej i funkcji klasyfikacyjnych pozwoliło ujawnić, że kombinacja trzech cech biologicznych guza: mała ekspresja topoizomerazy IIa, duża gęstość unaczynienia nowotworu oraz mały poziom apoptozy wskazuje na duże prawdopodobieństwo powodzenia uzupełniającego leczenia antracyklinami u chorych na raka piersi w stopniu zaawansowania T1-2 N1-2.

[III-3] SURWIWINA JAKO POTENCJALNY BIOMARKER RAKA JAJNIKA

Beata Gąsowska-Bajger¹, Agnieszka Gąsowska-Bodnar, Paweł Knapp², Lubomir Bodnar^{3,4}

¹ Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski, ul. Oleska 48, 45-052 Opole, Polska

² Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Jana Kilińskiego, 15-089 Białystok, Polska

³ Katedra Onkologii, Uniwersytet Warmińsko Mazurski, ul. Warszawska 30, 10-082 Olsztyn, Polska

⁴ Siedleckie Centrum Onkologii, ul. Poniatowskiego 26, 08-110 Siedlce, Polska

Wstęp: Rak jajnika jest nowotworem żeńskim układu rozrodczego o najgorszym rokowaniu [1,2] po raku szyjki macicy [3] i odpowiada za 1,9% wszystkich zgonów z powodu tego nowotworu [4]. Według raportu GLOBOCAN, z każdym rokiem wzrasta zachorowalność na ten typ nowotworu [4,5]. Późne rozpoznanie spowodowane jest brakiem charakterystycznych objawów klinicznych oraz brakiem czułych i swoistych testów, które mogą to wykryć na wczesnym etapie rozwoju. Istnieje więc potrzeba poszukiwania swoistych biomarkerów dla tego typu nowotworu [6,7,8]. Surwiwina jest najmniejszym białkiem (około 16,5 kDa) z rodziny inhibitorów apoptozy. Białko to jest zaangażowane w hamowanie programowanej śmierci komórki oraz regulację cyklu komórkowego. Ekspresja surwiwiny jest wyrażana podczas rozwoju embrionalnego [9], ale nie jest obecna i obserwowana w końcowo zróżnicowanych tkankach [10]. Ekspresja surwiwiny koreluje z bardziej agresywnym zachowaniem raka, ze zwiększoną liczbą nawrotów oraz zmniejszoną długością życia. Jest to związane ze zmniejszoną apoptozą *in vivo*. Ponieważ większość chemioterapii przeciwnowotworowej zabija komórki rakowe poprzez apoptozę, zwiększona ekspresja surwiwiny może zmniejszać skuteczność tej terapii [11].

Metodyka: Na podstawie analizy 18 artykułów opublikowanych w latach 2003-2016 na łącznej liczbie 2233 pacjentów dokonaliśmy analizy ekspresji surwiwiny na podstawie wyników otrzymanych przez analizę IHC i RT-PCR.

Wnioski: Analiza wykazała, że ekspresja surwiwiny jest dodatnio skorelowana z bardziej zaawansowanymi stadiami FIGO i bardziej agresywnym histologicznym stopniem G3. Sugeruje to związek między zaawansowanymi stadiami klinicznymi, histologią wysokiego stopnia i ekspresją surwiwiny. Zaobserwowano, że wyższa ekspresja surwiwiny była związana z gorszym całkowitym czasem przeżycia, ale nie z czasem wolnym od choroby (DFS) u pacjentek z rakiem jajnika. Ekspresja surwiwiny może stać się specyficznym biomarkerem u pacjentów z rakiem jajnika, ponieważ, jej występowanie wykazuje na złe rokowanie [12].

Literatura:

[1] Jemal, A.; Siegel, R.; Ward, E.; Hao, Y.; Xu, J.; Thun, M.J. Cancer Statistics, 2009. CA Cancer J. Clin. **2009**, 59, 225249.

- [2] Nossov, V.; Amneus, M.; Su, F.; Lang, J.; Janco, J.M.T.; Reddy, S.T.; Farias-Eisner, R. The early detection of ovarian cancer: From traditional methods to proteomics. Can we really do better than serum CA-125? *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2008**, *199*, 215223.
- [3] Li, X.-J.; Pang, J.-S.; Li, Y.-M.; Ahmed, F.A.; He, R.-Q.; Ma, J.; Ma, F.-C.; Chen, G. Clinical value of survivin and its underlying mechanism in ovarian cancer: A bioinformatics study based on GEO and TCGA data mining. *Pathol. Res. Pract.* **2018**, *214*, 385401.
- [4] Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R.L.; Torre, L.A.; Jemal, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* **2018**, *68*, 394424.
- [5] Sung, H, Ferlay, J, Siegel, RL, Laversanne, M, Soerjomataram, I, Jemal, A, Bray, F Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* **2020**, *71*, 209249.
- [6] Goff, B.A.; Mandel, L.; Muntz, H.G.; Melancon, C.H. Ovarian carcinoma diagnosis. *Cancer* **2000**, *89*, 20682075.
- [7] Ju, L.-L.; Zhao, C.Y.; Ye, K.-F.; Yang, H.; Zhang, J. Expression and clinical implication of Beclin1, HMGB1, p62, survivin, BRCA1 and ERCC1 in epithelial ovarian tumor tissues. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2016**, *20*, 19932003.
- [8] Leahy, Y. Are Serum Protein Biomarkers Effective in Detecting Ovarian Cancer in Its Early Stages? *Clin. J. Oncol. Nurs.* **2009**, *13*, 443445.
- [9] Ambrosini, G.; Adida, C.; Altieri, D.C. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat. Med.* **1997**, *3*, 917921.
- [10] Altieri, D.C.; Marchisio, P.C.; Marchisio, C. Survivin apoptosis: An interloper between cell death and cell proliferation in cancer. *Lab. Investig.* **1999**, *79*, 13271333.
- [11] Cohen, C.; Lohmann, C.M.; Cotsonis, G.; Lawson, D.; Santoianni, R. Survivin Expression in Ovarian Carcinoma: Correlation with Apoptotic Markers and Prognosis. *Mod. Pathol.* **2003**, *16*, 574583.
- [12] Gąsowska-Bajger, B.; Gąsowska-Bodnar, A.; Knapp, P.; Bodnar, L. Prognostic Significance of Survivin Expression in Patients with Ovarian Carcinoma: A Meta-Analysis. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 879.

[III-4] CZY BIAŁKO LOX MOŻE BYĆ MARKEREM PROGNOSTYCZNYM W RAKU JAJNIKA?

Joanna Syrkis¹, Katarzyna Kujawa¹, Ewa Zembala-Nożyńska², Alexander Cortez³, Jolanta Kupryjańczyk⁴, Katarzyna Lisowska¹

¹ Centrum Badań Translacyjnych, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

² Zakład Patologii Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

³ Centrum Badań Translacyjnych, Dział Analiz Bioinformatyczno-Biostatycznych, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy Oddział w Gliwicach

⁴ Zakład Patologii Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa

Wstęp. W naszych wcześniejszych badaniach mikromacierzowych zidentyfikowaliśmy dwie podgrupy pacjentek z niskozróżnicowanym surowiczym rakiem jajnika, które różniły się profilem ekspresji genów i czasem przeżycia (analiza metodą Kaplana Meiera) [1]. Jednym z genów wchodzących w skład wielogenowej sygnatury prognostycznej był *LOX*, kodujący oksydazę lizylową (ang. lysyl oxidase). Główną funkcją białka LOX jest udział w sieciowaniu białek macierzy zewnątrzkomórkowej: elastyny i kolagenu. Badania różnych zespołów wskazują, że LOX może pełnić albo rolę onkogenu, albo supresora procesu nowotworowego, w zależności od rodzaju tkanki/guza. Są doniesienia, że LOX może być potencjalnym biomarkerem w raku piersi, żołądka, okrężnicy czy trzustki. Nasze badania wskazywały, że *LOX* oznaczany na poziomie mRNA może być potencjalnym markerem prognostycznym w raku jajnika. Celem niniejszego badania było sprawdzenie, czy LOX oznaczany na poziomie białka, metodą immunohistochemii, również wykazuje cechy potencjalnego markera prognostycznego w raku jajnika.

Materiały i metody. Przeprowadzono walidację dwóch komercyjnie dostępnych przeciwciał anti-LOX (ab174316, Abcam; NB-2530, Novus Biologicals), wykorzystując do tego celu materiał z linii komórkowych raka jajnika oraz rekombinowane białko LOX (NBP-59887, Novus Biologicals). W następnym etapie wykonano analizę immunohistochemiczną na materiale klinicznym: preparatach pochodzących od pacjentek z surowiczym rakiem jajnika oraz mikromacierzach tkankowych (US Biomax). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem Statistica (wersja 13.1, StatSoft Polska).

Wyniki i konkluzje. Na podstawie analizy metodą western blotting potwierdzono swoistość działania jednego z badanych przeciwciał (ab174316, Abcam) i zastosowano je do dalszych oznaczeń. Analiza immunohistochemiczna na materiale klinicznym

wykazała, że wyższa ekspresja LOX występuje osiem razy częściej w podścielisku guzów przerzutowych w porównaniu do guzów pierwotnych jajnika. Takiej zależności nie wykazano w przypadku ekspresji LOX w komórkach raka. Analiza metodą Kaplana Meiera nie wykazała korelacji ekspresji białka LOX z czasem przeżycia pacjentek.

Podsumowując, nie wykazaliśmy prognostycznego znaczenia białka LOX w badanej grupie pacjentek z rakiem jajnika. Natomiast zaobserwowaliśmy znamienne wyższą ekspresję LOX w podścielisku przerzutów w porównaniu do podścieliska guzów pierwotnych. Ta obserwacja jest zgodna z założeniem, że LOX ma związek z nabywaniem przez guz bardziej agresywnego fenotypu.

[1] K.M. Lisowska, et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol., 2016; 142(6): 1239-1252

Badania zostały zrealizowane w ramach projektu Miniatura 3 (2019/03/X/NZ5/00564; Katarzyna Kujawa), finansowanego z Narodowego Centrum Nauki.

[III-5] CHEMIOWRAŻLIWIAJĄCY EFEKT NISKICH DAWEK FRAKCYJNYCH PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO W KOMÓRKACH RAKA SZYJKI MACICY

Dorota Słonina¹, Damian Kabat², Beata Biesaga¹, Dagmara Szeliga¹, Wiktor Szatkowski³

¹ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów Narodowy Instytut Onkologii PIB Oddział w Gliwicach

² Zakład Fizyki Medycznej Narodowy Instytut Onkologii PIB Oddział w Krakowie

³ Klinika Ginekologii Onkologicznej Narodowy Instytut Onkologii PIB Oddział w Krakowie

Wstęp i cel: Zjawisko nadwrażliwości na niskie (0,5 Gy) dawki promieniowania jonizującego (HRS *low-dose hyper-radiosensitivity*) oznacza większą śmiertelność komórek po niskich dawkach promieniowania w porównaniu do tej przewidywanej na podstawie modelu liniowo-kwadratowego stosowanego w radioterapii. Jedną ze strategii wykorzystania zjawiska HRS w terapii nowotworów złośliwych jest zastosowanie indukcyjnej chemioterapii skojarzonej z radioterapią niskimi (0,5 Gy) dawkami (LDFR - *low-dose fractionated radiation*) w grupach chorych na zaawansowane nowotwory złośliwe. Podstawą tej strategii były badania, w których wykazano, że niskie dawki frakcyjne (4 x 0,5 Gy) potęgują cytotoksyczny efekt chemioterapeutyków efektywniej niż pojedyncza dawka 2 Gy. Biorąc pod uwagę fakt, że ok. 25% linii komórek nowotworowych jest HRS-ujemnych, nasuwa się pytanie czy chorzy z HRS-ujemnymi komórkami nowotworowymi odniosą korzyść z takiej terapii. Celem badań było sprawdzenie, czy chemiowrażliwiający efekt niskich dawek frakcyjnych promieniowania jonizującego (LDFR) na cisplatynę i paklitaksel ujawni się w komórkach nowotworowych, w których nie występuje zjawisko HRS.

Materiał i metody: Do badań wykorzystano dwie HRS-ujemne linie raka szyjki macicy SiHa i CaSki oraz jako kontrolę pozytywną HRS-dodatnie fibroblasty od chorej na raka szyjki macicy. Wpływ LDFR (4 x 0,5 Gy, 4 x 0,25 Gy i 4 x 0,125 Gy) w porównaniu do równoważnych dawek pojedynczych (odpowiednio 2 Gy, 1 Gy i 0,5 Gy) na cisplatynę i paklitaksel oceniono testem klonogennym i testem ognisk gH2AX.

Wyniki: Zarówno LDFR (4 x 0,5 Gy, 4 x 0,25 Gy i 4 x 0,125 Gy), jak i pojedyncze dawki promieniowania (2 Gy, 1 Gy i 0,5 Gy) zwiększały cytotoksyczność cisplatyny i paklitakselu w komórkach raka szyjki macicy. W komórkach SiHa i CaSki zwiększenie cytotoksyczności cisplatyny było maksymalne po LDFR 4 x 0,5 Gy i było dwukrotnie większe niż po pojedynczej dawce 2 Gy. Zwiększenie cytotoksyczności paklitakselu również było maksymalne po LDFR 4 x 0,5 Gy, ale nie różniło się istotnie od efektu po dawce pojedynczej 2 Gy. Wyniki te pokazują, że chemiowrażliwiający efekt LDFR na cytostatyki występuje w HRS-ujemnych komórkach raka szyjki macicy, ale wielkość tego efektu zależy od rodzaju cytostatyku i wielkości niskich dawek frakcyjnych.

Wniosek: Chemiowrażliwiający wpływ niskich dawek frakcyjnych promieniowania jonizującego, zwłaszcza na cisplatynę, w komórkach raka szyjki macicy (nawet HRS-ujemnych) może stanowić podstawę do szerszego zastosowania, u chorych na miejscowo zaawansowanego raka szyjki macicy, indukcyjnej chemioterapii (opartej na cisplatynie) skojarzonej z radioterapią niskimi dawkami frakcyjnymi.

[III-6] GENETYCZNE WARIANTY EGFR JAKO CZYNNIKI MODULUJĄCE WYNIKI TERAPII I PROGNOZĘ U CHORYCH NA NIEDROBNOKOMÓRKOWEGO RAKA PŁUCA PODDANYCH RADIOTERAPII I CHEMIORADIOTERAPII Z WYKORZYSTANIEM POCHODNYCH PLATYNY.

Agnieszka Gdowicz-Kłosok³, Małgorzata Krześniak³, Monika Giglok², Małgorzata Marszałek-Zeńczak¹, Rafał Suwiński², Dorota Butkiewicz³

¹ Zakład Biologii Molekularnej i Systemowej, Instytut Chemii Bioorganicznej, Polska Akademia Nauk, Poznań

² II Klinika Radioterapii i Chemioterapii, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach

³ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach

Pomimo wprowadzenia terapii celowanych, radioterapia (RT) i chemioterapia na bazie związków platyny (CHT) są nadal jednymi z podstawowych schematów terapeutycznych w zaawansowanym niedrobnokomórkowym raku płuca (NDRP). Jednak bardzo często występujące leko- i promieniooporność stanowią poważne ograniczenia tych metod leczenia, przyczyniając się do progresji choroby i złego rokowania. W patogenezie raka płuca jednym z kluczowych elementów są zaburzenia funkcji receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), którego zarówno zwiększona aktywacja, jak i nadekspresja, sprzyjają rozwojowi i progresji nowotworowej. Często spotykana w NDRP nadekspresja EGFR wiąże się z większą agresywnością, wyższym odsetkiem nawrotów i niekorzystną prognozą. Deregulacja EGFR może również przyczyniać się do oporności na leczenie uszkadzające DNA (tj. RT i CHT związkami platyny). EGFR uczestniczy bowiem w mechanizmach odpowiedzi na uszkodzenie DNA (DDR), takich jak zatrzymanie cyklu komórkowego, naprawa DNA i apoptoza. Oddziałując z innymi białkami kluczowych mechanizmów naprawy (np. DNA-PKcs czy ERCC1), EGFR moduluje proces usuwania uszkodzeń DNA generowanych przez RT i leki platynowe. Zaobserwowano, że aktywacja EGFR może zmniejszać wrażliwość na CHT i RT. Biorąc pod uwagę rolę EGFR w DDR, jest prawdopodobne, że warianty genu *EGFR* mogą kształtować indywidualną odpowiedź pacjenta na terapię. Konieczne jest więc lepsze zrozumienie podłoża molekularnego tych zjawisk oraz roli sylwetki genetycznej chorego, tak aby możliwa była w przyszłości identyfikacja czynników pomocnych w przewidywaniu wyników leczenia, wyborze strategii terapeutycznych, a w efekcie poprawie przeżycia w NDRP.

Celem projektu było zbadanie czy funkcjonalne polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP) w genie *EGFR* mogą wpływać na indywidualną wrażliwość na terapię, a tym samym na wynik leczenia i rokowanie pacjentów z nieoperacyjnym NDRP otrzymujących RT i CHT z wykorzystaniem związków platyny. Analizowaliśmy związek pomiędzy trzema częstymi SNP w *EGFR* a całkowitym czasem przeżycia (OS), czasem

przeżycia wolnym od nawrotów lokoregionalnych (LFRS) i przerzutów (MFS) w grupie 436 chorych. Analiza wieloczynnikowa wykazała, że homozygoty rs712830 CC charakteryzowały się znamienne krótszym OS w całej grupie ($p = 0,039$) oraz w podgrupie leczonej radykalnie ($p = 0,047$). Natomiast genotyp rs712829 TT był związany ze skróconym LRFS ($p = 0,006$), a haplotyp T-C stanowił silny czynnik ryzyka nawrotu lokoregionalnego ($p = 0,003$). Ponadto, genotyp rs2227983 GG, zarówno pojedynczo, jak i w połączeniu z wariantem rs712829 T, był wskaźnikiem niekorzystnego LRFS (odpowiednio $p = 0,028$ i $0,002$). Zaobserwowaliśmy również, że powyższe warianty genu *EGFR* miały niezależny niekorzystny wpływ na długość OS, LRFS i MFS.

Uzyskane dane wstępne wskazują, że niektóre elementy profilu genetycznego pacjenta, takie jak polimorficzne warianty *EGFR* związane ze zwiększonym poziomem ekspresji genu i aktywności białka, mogą wiązać się z niższą skutecznością leczenia indukującego uszkodzenia DNA, takiego jak RT i CHT pochodnymi platyny, oraz z niekorzystnym rokowaniem chorych na NDRP. Powyższe wyniki wymagają walidacji w większej, niezależnej populacji.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki, grant nr 2012/05/B/NZ5/01905.

[III-7] BETULIN-5,8-QUINONEDIONE HYBRIDS AS POTENTIAL SUBSTRATE OF DT-DIAPHORASE (NQO1)

Monika Kadela-Tomanek¹, Elwira Chrobak¹, Ewa Bębenek¹, Małgorzata Latocha²

¹ *Medical University of Silesia in Katowice, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Department of Organic Chemistry, 4 Jagiellońska Str., 41-200 Sosnowiec, Poland*

² *Medical University of Silesia in Katowice, Faculty of Pharmaceutical Sciences in Sosnowiec, Department of Cell Biology, 8 Jedności Str., 41-200 Sosnowiec, Poland*

Traditional medicine has been used materials of plant and animal origin as a main source of substances for the treatment of diseases for thousands of years. The main substance found in bark of birch *Betula pendula* is betulin. The pharmacological activity of this pentacyclic triterpene includes anticancer, antimicrobial, antiviral, and anti-inflammatory activity. Modification of betulin structure at C-3, C-17, C-19, C-28 and C-30 positions resulted in obtaining semisynthetic compounds with a high biological activity. Combination of betulin with natural or synthetic substance can lead to hybrids with a higher biological activity and a better bioavailability. One of the most interested moiety is quinone ring which show interest biological activity, like: anticancer, antimicrobial and antiviral. In this study, betulin and its derivatives have been combined with various compounds containing the 5,8-quinolinedione moiety. The anticancer activities of the hybrids were tested against several human cancer cell lines. It was found, that tested compounds exhibited a higher activity against cancer cell lines with an increased level of the NQO1 protein, *i.e.* A549 and MCF-7. Moreover, for selected hybrids, the impact on the transcriptional activity of the gene encoding the regulators of the cell cycle (p53 and p21) and the apoptosis pathway (BCL-2 and BAX) was assessed. The study was supplemented by analysis of relationship between anticancer activity and DT-diaphorase (NQO1).

[III-8] ORGANOIDOWE HODOWLE KOMÓRKOWE 3D W OCENIE IN VITRO TRANSMISJI ZANIECZYSZCZEŃ ŚRODOWISKOWYCH I PATOGENÓW Z POWIETRZA

Daria Kostka¹, Magdalena Węgrzyn¹, Dawid Zamojski¹, Seweryn Gałecki¹, Patrycja Niesłoń¹, Karol Mierzwa¹, Aleksandra Staszek¹, Daniel Fochtman¹, Małgorzata Adamiec^{2,3}, Anna Kasprzycka^{3,4}, Joanna Nackiewicz⁵, Anna Mainka⁶, Karol Małota⁷, Anna Urbisz⁷, Agnieszka Szurko⁸, Magdalena Skonieczna^{2,3}

¹ Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów, Politechnika Śląska, ul. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice

² Katedra Inżynierii i Biologii Systemów, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska, ul. Akademicka 16, 44-100 Gliwice

³ Centrum Biotechnologii, Politechnika Śląska, ul. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice

⁴ Katedra Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska

⁵ Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski, ul. Oleska 48, 45-052 Opole, Polska

⁶ Katedra Ochrony Powietrza, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska

⁷ Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska, Wydział Nauk Przyrodniczych, ul. Bankowa 9, Uniwersytet Śląski, 40-007 Katowice

⁸ Wydział Nauk Ścisłych i Technicznych, Uniwersytet Śląski w Katowicach, ul. Bankowa 12, 40-007 Katowice

Cel: Spośród badań przedklinicznych wiele to testy *in vivo* na modelach zwierzęcych, związane z cierpieniem zwierząt laboratoryjnych, dodatkowo wymagających zgody odpowiedniej komisji bioetycznej. Rozwój systemów *in vitro* z powodzeniem zastępuje część badań na układach zwierzęcych. Takimi systemami są np. półotwarte hodowle komórkowe *in vitro* typu 3D, tzw. hodowle typu organoidowego. Celem pracy było stworzenie uniwersalnego systemu *in vitro* i opracowanie nowego systemu organoidowego 3D do badań zanieczyszczeń środowiskowych, a także monitorowania np. przebiegu infekcji wirusowej SARS-Cov-2.

Materiały i metody: Hodowle 3D traktowane były syntetycznymi cząsteczkami imitującymi zanieczyszczenia, w tym nano-plastikiem z powietrza (nonobeads o 100 nm), które wielkością odpowiadają wielkości transmitowanych w powietrzu patogenów, w tym wirusa SARS-Cov-2. Wstępne badania z zastosowaniem znakowanych cząsteczek syntetycznych odpowiadają czynnikom, które mogą być transmitowane w powietrzu, wodzie, pokarmie i oddziaływać na organizm ludzi i zwierząt.

Przeprowadzono hodowle na płytkach 6-dołkowych, a także z wykorzystaniem insertów Becton Dickinson, które umożliwiły dwufazową ko-inkubację linii komórkowych. W przypadku układu skórnoego zastosowano komórki NHDF, dla układu pokarmowego wykorzystano komórki HCT116. Hodowle 3D traktowane były syntetycznymi cząsteczkami (rozc. 100x) przez 24 h, a także rekombinowanym białkiem

SP1 (20 ng/ml) w celu symulacji oddziaływania na komórki warstwy zewnętrznej zanieczyszczeniami lub patogenami.

W dalszej części eksperymentów komórki wszystkich warstw zbierano i wykorzystano do oceny ekspresji genów markerowych charakterystycznych dla stanu zapalnego (IL6, 8) lub dla pierwszej fazy infekcji wirusowej (aktywacja receptora ACE2). Utrwalone preparaty poddano ocenie za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej i elektronowej.

Wyniki: Opracowano uniwersalny system hodowli organoidowej 3D *in vitro* na potrzeby ewaluacji procesów fizjologicznych i patologicznych w liniach komórkowych prawidłowych i nowotworowych. Testy w przestrzennym układzie hodowli mogą w przyszłości zastąpić część badań podstawowych *in vivo*. Za pomocą obrazowania w mikroskopii elektronowej wykazano tworzenie się, związanych z pinocytozą, dołków opłaszczonych w fibroblastach NHDF i w linii nowotworowej okrężnicy HCT116, a także tworzenie pęcherzyków świadczących o zachodzącym procesie endocytozy. Proces ten wydaje się nasilać pod wpływem mikro-zanieczyszczeń, a także pod wpływem SP1. Potwierdzono, że zanieczyszczenia nano-plastikiem mogą być transmitowane w tkankach układu oddechowego, pokarmowego czy przezskórnie (przez otarcia i mikrouszkodzenia nabłonka). Tymi samymi drogami mogą dostawać się do organizmu patogeny.

Podziękowania: Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego POWR-03.05.00-00-Z098/17-00. IPS w formie PBL-VI edycja konkursu, temat 12. Studenci SKNB otrzymali dodatkowo dofinansowanie w ramach III konkursu o przyznanie finansowania projektów studenckich kół naukowych (Program Inicjatywa Doskonałości Uczelnia Badawcza), temat 4, zgodnie z Rozporządzeniem nr 54/2020 Rektora Politechniki Śląskiej z dnia 13 marca 2020r.

[III-9] BADANIA IN VITRO DYFUZJI TRANSDERMALNEJ WYBRANYCH KONIUGATÓW POLIMER - LEK

Maria Kupczak¹, Anna Mielańczyk¹, Dorota Neugebauer¹

¹ *Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów, Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska*

Istotną kwestią w leczeniu dermatologicznym jest wysoka efektywność wnikania substancji aktywnej w rogową warstwę naskórka oraz w głąb warstwy skry żywej. Proces efektywnej dyfuzji cząsteczki przez warstwy skry w warunkach laboratoryjnych bada się za pomocą urządzeń do pomiaru dyfuzji, takich jak celki Franza.

Przeprowadzono szereg pomiarów dyfuzji transdermalnej dla koniugatów polimer-lek, które bazują na kopolimerach gwiazdzistych metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu i metakrylanu 2-hydroksyetylu oraz jednym z dwóch hydrofobowych leków przeciwnowotworowych, takich jak metotreksat i acytretyna, związanych kowalencyjnie z matrycą polimerową. W celu opisanie dyfuzji transdermalnej otrzymanych koniugatów polimer-lek, obliczono parametry, takie jak: współczynnik dyfuzji, równowaga hydrofilowo-lipofilowa oraz szybkość przepływu przez membranę. Współczynnik równowagi hydrofilowo-lipofilowej w zróżnicowany sposób wpływał na szybkość dyfuzji koniugatu. Koniugacja acytretyny z polimerem znacznie poprawiła jej przenikalność przez membranę imitującą ludzką skórę.

Zastosowanie proleków polimerowych w leczeniu łuszczyca, gdzie kluczowa jest akumulacja leku w miejscu docelowym o określonym stężeniu, pozwoliłoby na optymalizację skuteczności terapeutycznej.

Autorzy są wdzięczni za wsparcie finansowe Narodowego Centrum Nauki, Polska, decyzja nr. 2016/23/D/ST5/01312.

[III-10] ZASTOSOWANIE TRANSDERMALNYCH POCHODNYCH DICLOFENAKU O POTENCJALE PRZECIWNOWOTWOROWYM W BADANIACH IN VITRO WOBEC LINII KOMÓRKOWEJ ME45

Joanna Nackiewicz¹, Łukasz Kołodziej¹, Beata Gąsowska-Bajger¹, Magdalena Skonieczna^{2,3}

¹ Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski, ul. Oleska 48, 45-052 Opole, Polska

² Katedra Inżynierii i Biologii Systemów, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska, ul. Akademicka 16, 44-100 Gliwice, Polska

³ Centrum Biotechnologii, Politechnika Śląska, ul. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice, Polska

Wstęp Ftalocyjaniny (Pcs) to grupa syntetycznych, heterocyklicznych związków aromatycznych zbudowanych z 4 jednostek izoindolowych, które są połączone mostkami azometinowymi. Cząsteczka ftalocyjaniny posiada sprzężony układ wiązań podwójnych, zawierający 18 zdelokalizowanych elektronów p, który spełnia regułę aromaticzności Hcklea [1]. Metaloftalocyjaniny mogą być atrakcyjnym obiektem badań ze względu na podobieństwo strukturalne do naturalnie występujących hemoprotein. Mogą stanowić model enzymatyczny w wielu reakcjach [2,3].

Naturalnie występującą hemoproteiną, odgrywającą rolę przeciwutleniającą jest mieloperoksydaza (MPO). Peroksydaza jest dimerycznym białkiem kationowym o masie około 146 kDa z żelazoporfiryną IX (hem) w każdej podjednostce. Mieloperoksydaza występuje we wnętrzu komórek układu odpornościowego (neutrofile i monocyty) i jest uwalniana w celu ochrony organizmu przed patogenami [4,5]. Enzym w obecności nadtlenu wodoru i jonów Cl⁻ prowadzi do utworzenia w komórkach kwasu chlorowego (I) o właściwościach silnie bakteriobójczych [5]. Choć mieloperoksydaza ma ogromne znaczenie w prawidłowym funkcjonowaniu wrodzonego układu immunologicznego, z drugiej strony jej funkcjonowanie przyczynia się do powstawania niektórych groźnych dla życia chorób [6,7,8].

Diklofenak (DNF) jest często stosowanym, niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym, także w aplikacjach naskórnych w formie maści. DNF jest bardzo skutecznym lekiem o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym oraz przeciwgorączkowym, jednak może wywoływać działania niepożądane np. podrażnienie układu pokarmowego czy skóry [9]. Wysoka konsumpcja diklofenaku oraz niewłaściwe jego utylizowanie powoduje, że DNF przedostaje się wraz ze ściekami do wód powierzchniowych i nawet przy niskich stężeniach [g/L] ma on niekorzystny wpływ na organizmy żyjące w wodzie [10].

Podczas procesu utleniania diklofenaku, w obecności oktakarboxyftalocyjaniny żelaza (FePcPc) i rodników hydroksylowych (HO) (z H₂O₂), powstaje niestabilny produkt pośredni, który w widmie UV-Vis daje intensywne pasmo przy $\lambda_{max}=450$ nm. Analiza MS wskazuje, że końcowym produktem utleniania DNF-u jest dimer (m/z 587)

[11]. W przypadku utleniania DNF-u w obecności mieloperoksydazy i nadtlenu wodoru, produkt pośredni również wykazywał maksimum absorpcji przy $\lambda_{max}=450$ nm.

W badaniach *in vitro* z zastosowaniem ludzkich linii nowotworowych okrężnicy o różnym statusie p53 (HCT116 w.t. i HCT116 p53 -/-) wykazano cytotoksyczność DNF-u i hamujący wpływ na proliferację komórek [12]. Wykazano także biobójcze działanie wobec Gram-ujemnej pałeczki okrężnicy *Escherichia coli* [12]. Negatywny wpływ pochodnych dikofenaku wobec komórek epitelialnych, a także na mikrobiom układu pokarmowego skłonił do podjęcia badań w zakresie dalszych potencjalnych oddziaływań przeciwnowotworowych. Wykazano hamujące działanie DNF-u na żywotność czerniaka Me45 w teście MTT, a na podstawie wielogodzinnej obserwacji przyżyciowej zaobserwowano hamujący wpływ na proliferację. Obiecujące zastosowanie pochodnych dikofenaku może mieć zastosowanie w terapii, gdzie związki te mogą służyć, jako potencjalne induktory śmierci w liniach nowotworowych.

Podziękowania: Badania biologiczne zostały wykonane w ramach funduszy przyznanych na badania statutowe Politechniki Śląskiej (M.S.).

Literatura:

[1] A.B.P. Leznoff C.C. Lever, 1989. Phthalocyanines Properties and Applications. Wiley- VCH New York 139247.

[2] Shirai, H., Maruyama, A., Takano, J., Kobayashi, K., Hojo, N., Urushido, K., Functional metal-porphyrzine derivatives and their polymers, 3. Catalytic activity of Fe(III)-3,4,3,4,3,4,3,4-octacarboxyphthalocyanine for decomposition of hydrogen peroxide. Die Makromolekulare Chemie, 1980, 181(3), 565573.

[3] Tsuiki, H., Masuda, E., Koyama, T., Hanabusa, K., Shirai, H., Kobayashi, N., Minamide N., Komatsu Y., Yokozeki T., Functional metallomacrocycles and their polymers: 34. Kinetics and mechanism of the biomimetic decomposition of hydrogen peroxide catalysed by heterogeneous. Polymer, 1996, 37, 36373642.

[4] Khan AA, Rahmani AH, Aldebasi YH, Aly SM, Biochemical and Pathological Studies on Peroxidases An Updated Review. Global Journal of Health Science, 2014, 6 (5), 8798.

[5] Davies, M. J.; Hawkins, C. L.; Pattison, D. I.; Rees, M. D. Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications. Antioxidants Redox Signaling 2008, 10, 1199.

[6] Gungor, Knaapen, Munnia, Peluso, Haenen, Chiu, Godschalk, Schooten, Genotoxic effects of neutrophils and hypochlorous acid. Mutagenesis, 2010, 25 (2), str.149-154.

[7] Khan A.A., Alsahli M.A., Rahmani A.H., Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives, Medical Sciences, 2018, 6 (2), 33

[8] Castillo-Tong, Pils, Heinze, Braicu, Sehoul, Reinhaller, Schauster, Wolf, Watrowski, Maki, Zeillinger, Reynolds, Association of myeloperoxidase with ovarian cancer. Tumour Biology, 2014, 35(1), str. 141-148

[9] Białecka M., Raz jeszcze o leczeniu blu receptorowego-czy warto łączyć dikofenak z witaminami grupy B?, Aktualn Neurol 2017,17, 221-226.

[10] Hong M., Wang Y., Lu G., UV-Fenton degradation of diclofenac, sulpiride, sulfamethoxazole and sulfisomidine: Degradation mechanisms, transformation products, toxicity evolution and effect of real water matrix, Chemosphere, 2020, 258, 127351

[11] Nackiewicz J., Kołodziej Ł., Poliwoda A., Broda M.A., Oxidation of diclofenac in the presence of iron(II) octacarboxyphthalocyanine, Chemosphere, 2021, 265, 129145

[12] Nackiewicz J., Kołodziej Ł., Skonieczna Magdalena. Biobójcze i antynowotworowe pochodne diklofenaku w badaniach *in vitro* wobec E. COLI SP. i HCT116. VII Śląskie Spotkania Naukowe, Gliwice, 29-30 maja 2020 r. streszczenia str. 58-59.

[III-11] SYNTEZA LINIOWYCH KOPOLIMERÓW OPARTYCH NA CHOLINOWEJ POLI(CIECZY JONOWEJ) ZDOLNYCH DO TRANSPORTU LEKÓW PRZECIWGRUŹLICZYCH

Katarzyna Niesyto¹, Dorota Neugebauer¹

¹ *Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów, Politechnika Śląska, Gliwice, Polska*

Transport leków za pośrednictwem nośników polimerowych jest obecnie szeroko badany. Znane są różne typy nośników, które mogą wiązać lek w zależności od budowy danego związku aktywnego. Jednymi z nich są koniugaty, które mogą przyłączać lek bezpośrednio do matrycy polimerowej poprzez wiązanie chemiczne bądź linker. Na etapie projektowania koniugatów nośnik-lek, należy wziąć pod uwagę naturę chemiczną zarówno nośnika, jak i leku. Zastosowanie cholinowej cieczy jonowej jako ko-monomeru jest optymalnym wyjściem, w celu uzyskania kopolimerów biokompatybilnych. Pochodne choliny wykazują aktywność biologiczną, co dodatkowo może zwiększać efekt terapeutyczny systemu. Ze względu na obecność czwartorzędowego kationu amoniowego, w celu otrzymania koniugatu, należy zastosować leki o charakterze anionowym. Siłą napędową wymiany i uwalniania leku jest oddziaływanie poprzez wiązanie jonowe.

W niniejszych badaniach zaprojektowano nośniki z zastosowaniem liniowych kopolimerów opartych na metakrylanie choliny i metakrylanie metylu, tj. P(TMAMA-co-MMA), które różniły się udziałem jednostek jonowych (TMAMA: 25, 50, 75 mol%). Otrzymane nośniki wykazywały charakter amfifilowy, który został potwierdzony za pomocą krytycznego stężenia micelizacji (CMC = 0.055-0.079 mg/mL). Wyznaczono również stopień hydrofilowości badanych układów poprzez kąt zwilżania (WCA= 17°-46°). Obecność czwartorzędowego kationu amoniowego i przeciwjonu chlorkowego umożliwiła przeprowadzenie wymiany jonowej, której rezultatem było otrzymanie koniugatów nośnik-lek, transportujących aniony farmaceutyczne, takie jak *p*-aminosalicylan (PAS), klawulanian (CLV), piperacylina (PIP) oraz fusydan (FUS), stosowane jako substancje przeciwbakteryjne w leczeniu chorób płuc, w szczególności gruźlicy. Po koniugacji, wartości WCA nieco wzrosły, co świadczy o zmniejszeniu właściwości hydrofilowych. Profile kinetyczne uwalniania leków *in vitro* w środowisku PBS (pH=7,4) w 37°C miały zróżnicowany przebieg, co wskazuje na wpływ struktury nośnika i rodzaju koniugowanego anionu farmaceutycznego. Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że otrzymane koniugaty są obiecującymi nośnikami do zastosowań w terapiach przeciwgruźliczych.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS nr 2017/27/B/ST5/00960.

[III-12] EGZOSOMY Z WP760 W BADANIACH NAD TERAPIĄ CZERNIAKA ZŁOŚLIWEGO

Marlena Paździor^{1,2}, Aleksander Sochanik², Joanna Jazowiecka-Rakus², Aleksandra Świetlicka¹, Agata Hadryś^{1,2}, Violetta Kozik¹

¹ Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski, Katowice, Polska

² Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Gliwice, Polska

Wstęp: Chemioterapia czerniaka złośliwego, jednego z najbardziej agresywnych nowotworów skóry, jest jak dotąd nieskuteczna, ze względu na wrodzoną oporność czerniaka na chemioterapię albo jej pojawienie się w trakcie leczenia. Mechanizm działania chemioterapeutyków polega na blokowaniu mitozy aktywnie proliferujących komórek nowotworowych lub powodowaniu uszkodzeń DNA. WP760 to bisantracyklina, która jest kilkadziesiąt razy bardziej cytotoksyczna dla komórek czerniaka w porównaniu z innymi typami komórek nowotworowych. W badaniach porównano ją z dokсорubicyną należąca do klasycznych antracyklin często stosowanych w leczeniu szeregu nowotworów. Chemioterapeutyki mogą powodować silne skutki uboczne podczas leczenia, dlatego korzystne jest zastosowanie w terapii systemowej nośników ochronnych. Egzosomy jako nośniki leków posiadają wiele zalet, np. łatwość pozyskania, stabilność i bezpieczeństwo użycia, możliwość modyfikacji, itp.

Metodyka: Hodowle komórkowe *in vitro* różnych linii czerniaka traktowano subtoksycznymi stężeniami WP760 oraz dokсорubicyny. Z medium hodowlanego zebranego z komórek izolowano egzosomy z wykorzystaniem chromatografii wykluczenia. Profil rozkładu wielkości egzosomów określono za pomocą spektroskopii korelacji fotonowej (aparatur Zetasizer). Wydajność obciążenia egzosomów WP760 badano za pomocą lizy detergentem oraz sonikacji i określano ilościowo przez pomiary absorbancji. Uzyskane egzosomy z WP760 wykorzystano do zbadania cytotoksyczności na uprzednio nietraktowanych WP760 hodowlach komórek czerniaka.

Rezultaty: Egzosomy wyizolowane z medium hodowlanego komórek czerniaka potraktowanych WP760 są w stanie przetranszować bisantracyklinę WP760. Egzosomy obciążone WP760 wywierają efekt cytotoksyczny na badane linie komórkowe.

Wnioski: Zastosowanie egzosomów obciążonych WP760 do transferu leków *in vivo* wydaje się możliwe. Wymaga to dalszego określenia stabilności preparatów egzosomalowych i ich pojemności lekowej, a dalej zbadania kinetyki retencji egzosomów z lekiem w obszarze nowotworowym u zwierząt doświadczalnych. Zastosowane podejście nie wyklucza możliwości modyfikacji egzosomów np. pod kątem terapii celowanej.

[III-13] WPLYW SYSTEMOWEGO PODANIA MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK ZREBU NA POWSTAWANIE NACZYŃ KRWIONOŚNYCH W MYSIM MODELU NIEDOKRWIENNEJ KOŃCZYNY

Ewelina Pilny¹, Alina Drzyzga¹, Justyna Czaplą¹, Ryszard Smolarczyk¹, Sybilla Matuszczak¹, Tomasz Cichoń¹

¹ *Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach*

Krytyczne niedokrwienie kończyny (CLI) jest zaawansowanym stadium choroby tętnic obwodowych, charakteryzującym się przewlekłym bólem spoczynkowym kończyny z owrzodzeniem bądź martwicą tkanek. W zależności od progresji choroby lub stanu zdrowia pacjenta wykonywane są zabiegi przezskórne lub pomostowanie aortalno-wieńcowe. Jednak większość pacjentów z powodu chorób współistniejących lub niedrożności naczyń krwionośnych nie kwalifikuje się do zabiegów rewaskularyzacji. Obiecującą strategią leczenia dla tych pacjentów stała się angiogeneza terapeutyczna, w której wykorzystuje się czynniki wzrostu lub komórki. W ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań w leczeniu pacjentów z krytycznym niedokrwieniem kończyny stała się terapia komórkowa z wykorzystaniem mezenchymalnych komórek zrębu (MSC).

Jednostronne podwiązanie tętnicy udowej przeprowadzono u samców myszy szczepu C57BL/6NCrl. Mezenchymalne komórki zrębu izolowane z ludzkiej tkanki tłuszczowej (ADSC) podawano do żyły ogonowej w ilości 1×10^6 godzinę po wykonanym zabiegu. Po 7 oraz 14 dniach, z kończyny, w której wykonano zabieg podwiązania tętnicy, pobrano mięsień czworogłowy uda oraz mięsień dwugłowy łydki i utrwalono w ciekłym azocie. Następnie wykonano analizę histochemiczną oraz immunofluorescencyjną. Obserwacje mikroskopowe prowadzono przy użyciu mikroskopu Nikon Eclipse 80i oraz mikroskopu konfokalnego LSM710.

Na podstawie wykonanych analiz histochemicznych nie stwierdzono różnic w regeneracji włókien mięśniowych pomiędzy grupami badawczymi. Analiza immunofluorescencyjna wykazała natomiast różnice w liczbie naczyń krwionośnych. W mięśni czworogłowym uda myszy, którym do żyły ogonowej podano ADSC zaobserwowano, że gęstość naczyń włosowatych była znacząco zwiększona w porównaniu z grupą kontrolną (PBS). W mięśni dwugłowym uda ilość nowych kapilar była zwiększona w 14 dniu od podania komórek. Dodatkowo, w mięśni tym zaobserwowano znaczący wzrost liczby dojrzałych naczyń krwionośnych (CD146+) zarówno 7, jak i 14 dni po podaniu ADSC. Ponadto, w mięśni czworogłowym uda powstałe po 14 dniach arteriole były znacznie większe w grupie, w której podano komórki w porównaniu do grupy kontrolnej.

Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do opracowania nowej strategii terapeutycznej chorych z krytycznym niedokrwieniem kończyny opartej na wykorzystaniu ADSC.

[III-14] ZASTOSOWANIE STEROIDÓW W LECZENIU COVID-19

Dawid Wardecki¹, Daria Wardecka¹, Małgorzata Dołowy²

¹ *Apteka, Dąbrowa Górnicza*

² *Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

WPROWADZENIE

COVID-19 to choroba zakaźna rozpoznana pod koniec 2019 w Chinach (miasto Wuhan) wywołana przez wirusa SARS-COV-2. Trwająca od kilkunastu miesięcy globalna pandemia SARS-COV-2 spowodowała w skutkach dużą liczbę ofiar śmiertelnych czyli stała się poważnym zagrożeniem dla zdrowia publicznego w wielu krajach. W związku z tym aby zmniejszyć negatywne skutki tej choroby tj. złagodzić jej przebieg oraz zmniejszyć śmiertelność w przypadku pacjentów ciężko chorych, naukowcy prowadzą systematyczne badania nad skutecznym lekiem przeciwko tej chorobie. Wśród leków których stosowanie odnotowano w walce z COVID-19 znajdują się łatwo dostępne i znane jeśli chodzi o mechanizm działania steroidy.

CEL PRACY

W niniejszej pracy dokonano przeglądu i analizy steroidów stosowanych w leczeniu COVID-19. Przegląd ten wykonano na podstawie wybranych prac teoretycznych i doświadczalnych, w tym badań randomizowanych opublikowanych w ostatnim czasie tj. 2020-2021 (kwiecień) zaczerpniętych z baz naukowych, takich jak Pub Med, Embase i Scopus.

WYNIKI

Niektóre z prac powstałych w ostatnim czasie prezentowały rezultaty krótkotrwałego stosowania kortykosteroidów w niewielkich dawkach u pacjentów ze średniociężkim przebiegiem COVID-19. W kolejnych pracach przebadano z kolei wskaźnik zakażeń SARS-COV-2 w grupie chorych stosujących wziewne kortykosteroidy w leczeniu astmy i POChP (Przewlekłej Obturacyjnej Choroby Płuc). Celem innej pracy grupy naukowców z Nowego Yorku była ocena wpływu kortykosteroidów na stan pacjentów z COVID-19 objawiającym się powikłanym przypadkiem zapalenia płuc oraz hipoksemii układu oddechowego. Inne badania przeprowadzone na Uniwersytecie Nauk Medycznych w Teheranie dotyczyły z kolei ansomii spowodowanej infekcją SARS-COV-2. Stosowany był w tym przypadku spray zawierający lek z grupy kortykosteroidów o nazwie budesonid.

WNIOSKI

Przeprowadzone licznie badania dowiodły m.in. że steroidy prawdopodobnie mogą zapobiegać progresji choroby COVID-19. Natomiast badana grupa leków nie ma dużego

wpływu na czas zmniejszenia wirerii. Zaobserwowano również, że doustnie stosowane kortykosteroidy np. prednizolon mogą być skuteczne w leczeniu utraty węchu u chorych na COVID-19.

PIŚMIENNICTWO

u autorów