



III Konferencja Szkoleniowa
**„Multi-omika – biologia systemów w
badaniach medycznych”.**

**28 listopad 2019 r.
Wrocław**

Książka abstraktów

Wydanie 2 uzupełnione

Patronat naukowy

prof. dr hab. Andrzej Hendrich

**Dziekan Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego
we Wrocławiu**

Organizatorzy



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU



Politechnika Wrocławska



Uniwersytet
Wrocławski



FUNDACJA UNIwersYTETU
MEDYCZNEGO we Wrocławiu

Sponsor



Perlan
a member of Altium Group

Komitet naukowy

- Prof. dr hab. Andrzej Gamian (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr hab. Piotr Młynarz, prof. nadzw. (Politechnika Wroclawska)
- Dr hab. Małgorzata Krzystek-Korpaczka, prof. nadzw. (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Prof. dr hab. Dariusz Rakus (Uniwersytet Wrocławski)

Komitet organizacyjny

Przewodniczący

dr Jerzy Wiśniewski (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)

Członkowie

- Dr inż. Iwona Bednarz-Misa (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr Mariusz Bromke (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr inż. Agnieszka Bronowicka-Szydełko (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr Paulina Fortuna (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Mgr Paweł Hodurek (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr Agnieszka Kubiak (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr Aleksandra Kuzan (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr inż. Gabriela Maciejewska (Politechnika Wroclawska)
- Dr inż. Magdalena Mierzchała-Pasierb (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr Paweł Serek (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- Dr Izabela Szczuka (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)

Spis treści

Prelegenci	7
Program konferencji	8
Abstrakty prezentacji plakatowych	9
W poszukiwaniu uniwersalnego modelu funkcjonalnego motywu amyloidowego – podejście probabilistyczno-gramatyczne)	
Dr inż. Witold Dyrka	9
Badanie funkcji białek bakteriofagowych ze szczególnym uwzględnieniem zdolności do biodegradacji biofilmu	
Karolina Filik, Bożena Szermer-Olearnik, Jan Brykała, Ewa Brzozowska	11
Foodomika: nowa koncepcja badań nad cukrzycą	
dr Aleksandra Kuzan, mgr inż. Karolina Nowakowska, mgr inż. Kinga Gostomska-Pampuch, dr Agnieszka Bronowicka-Szydełko	12
Zastosowanie innowacyjnej glikokoniugatowej pochodnej metotreksatu i glukozy w selektywnej terapii przeciwnowotworowej	
mgr Sebastian Makuch, Dr Marta Woźniak, Dr Siddarth Agrawal, Dr Jerzy Wiśniewski	13
Analiza metabolomiczna surowicy pacjentów geriatrycznych	
Patryk Mitelsztet, Woźniak Marta, Agrawal Siddarth, Jerzy Wiśniewski	14
Oddziaływanie nowych związków z grupy flawonoidów z biomolekułami oraz błoną biologiczną i ich cytotoksyczność względem erytrocytów	
Karolina Szczecka, Angelika Strach, Aleksandra Włoch, Paulina Strugała, Agnieszka Krawczyk-Łebek, Dorota Bonarska-Kujawa, Edyta Kostrzewa-Susłow	15
Oznaczanie wybranych katynonów metodą UHPLC-DAD w dowodach rzeczowych	
mgr inż. Anna Święcka, dr Paweł Szpot, dr Marcin Zawadzki	16
Zastosowanie metod metabolomicznych w lipidomice	
Tyszkiewicz N., Pudełko N., Zuber M., Młynarz P.	17
Abstrakty prezentacji ustnych	18
Anotacja lipofilnych metabolitów <i>Candida albicans</i> przy użyciu znakowania ¹³ C i ¹⁵ N.	
Mariusz A. Bromke, Jerzy Wiśniewski, Jakub Suchodolski, Anna Krasowska, Mateusz Skrzypecki, Witold Dyrka	18

Prelegenci

W trakcie Konferencji mieli Państwo okazję zapoznać się z badaniami i rozwiązaniami w zakresie metabolomiki, lipidomiki, proteomiki, transkryptomiki oraz genomiki prezentowanymi przez następujących prelegentów:

- dr hab. Piotr Młynarz, Prof. PWr (Politechnika Wrocławska)
- dr hab. Adrian Doroszko (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- dr Jerzy Wiśniewski (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- dr hab. inż. Katarzyna Pawlak, prof. PW (Politechnika Warszawska)
- dr Łukasz Nowicki (Perlan Technologies Polska Sp. z o. o.)
- dr Joanna Godzień (Uniwersytet Medyczny w Białymstoku)
- dr Mariusz Aleksander Bromke (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)
- dr Damian Smuga (Celon Pharma S.A.)
- dr Wojciech Wojtowicz (Politechnika Wrocławska)
- prof. Jacek R. Wiśniewski (Max Planck Institute of Biochemistry, Monachium)

Program konferencji

08:30 – 09:00 Rejestracja uczestników i poranna kawa

09:00 – 09:15 Otwarcie konferencji

09:15 – 09:45 „Zastosowanie badań metabolomicznych w transplantacji nerek” – dr hab. Piotr Młynarz, prof. PWr (Politechnika Wroclawska)

09:45 – 10:15 „Od proteomiki do kliniki” – dr hab. Adrian Doroszko (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)

10:15 – 10:30 „Biotransformacje tlenu azotu w płytkach krwi” – dr Jerzy Wiśniewski (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)

10:30– 11:00 „Metalomiczne i jonomiczne tajemnice cytotoksycznych kompleksów metali” – dr hab. inż. Katarzyna Pawlak, prof. PW (Politechnika Warszawska)

11:00 – 11:30 Przerwa kawowa

11:30 – 12:00 „Rozwiązania Agilent w zakresie analiz multi-omicznych z zastosowaniem wysokorozdzielczej spektrometrii mas” – dr Łukasz Nowicki (PERLAN Technologies)

12:00 – 12:30 "Zdolność metabolomiki do wykrywania różnic pomiędzy próbkami - wada czy zaleta?" – dr Joanna Godzień (Uniwersytet Medyczny w Białymstoku)

12:30 – 12:45 "Anotacja lipofilnych metabolitów *Candida albicans* przy użyciu znakowania ¹³C i ¹⁵N" – dr Mariusz Aleksander Bromke (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu)

12:45 – 13:30 Przerwa obiadowa

13:30 – 14:00 „AGAMEDE – Inteligentny system skringowy” – dr Radosław Pilarski (Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu)

14:00 – 14:30 „2D-LC i SPE-online w analizie farmaceutyków. Metabolomika niecelowana. Profilowanie metabolitów w eksperymentach *in vitro* i *in vivo*” – dr Damian Smuga (Celon Pharma S.A.)

14:30 – 15:00 „Rak piersi – diagnostyka i zmiany molekularne, badania metabolomiczne” – dr Wojciech Wojtowicz (Politechnika Wroclawska)

15:00 – 15:45 "Proteomika wielkoskalowa w badaniach chorób człowieka: metodyka i zastosowania" – prof. Jacek R. Wiśniewski (Max Planck Institute of Biochemistry, Monachium)

15:45 – 16:00 Wręczenie nagród za najlepsze postery i zakończenie konferencji

Abstrakty prezentacji plakatowych

W poszukiwaniu uniwersalnego modelu funkcjonalnego motywu amyloidowego – podejście probabilistyczno-gramatyczne)

Dr inż. Witold Dyrka

Politechnika Wroclawska, Katedra Inżynierii Biomedycznej

Streszczenie

Białka tworzące struktury amyloidowe od wielu lat stanowią przedmiot intensywnych badań ze względu na występowanie tego typu struktur w chorobach neurodegeneracyjnych. W ostatnich latach coraz większe zainteresowanie zyskują amyloidy funkcjonalne, pełniące istotną rolę np. w tworzeniu biofilmów i organelli bezmembranowych oraz przekazywaniu sygnałów molekularnych. Szczególnym rodzajem białek amyloidowych są priony – zdolne przekazywać swoją strukturę przestrzenną innym białkom. Tego typu mechanizm zaobserwowano m.in. w szlaku odpowiedzi immunologicznej grzybów, związanym

z białkami rodziny NLR [1,2]. Analogiczny system zdaje się występować w wielu gałęziach wielokomórkowych lub agregujących promieniowców, sinic oraz niektórych archeonów. Zasadniczym elementem znanych białek amyloidowych są krótkie motywy aminokwasowe umożliwiające agregację w postaci kartki beta. W przypadku prionów typowy pojedynczy motyw o długości około 20 aminokwasów tworzy zwrot beta [3]; charakterystyczny jest także udział aminokwasów polarnych: glutaminy i asparaginy. Pomimo cech wspólnych, zidentyfikowane dotąd motywy prionowe w grzybach oraz bakteriach wykazują się dużą różnorodnością. Czy możliwe jest zatem określenie ogólnych reguł tworzenia motywów amyloidowych typu prionowego? [4]. Model opisujący takie reguły pozwoliłby na wykrywanie nowych motywów prionowych w bazach sekwencji białkowych; mógłby też pomóc w lepszym zrozumieniu mechanizmów przekazywania konformacji i agregacji.

Do opisu rodzin sekwencji standardowo stosowane są tzw. profile ukrytych modeli Markowa. W procesie uczenia wymagają one dopasowania wielu sekwencji, które zakłada homologię, a więc nie nadają się do modelowania zróżnicowanej grupy motywów. W przypadku krótkich sekwencji ich czułość jest też mocno ograniczona. Także różnorodne metody dedykowane rozpoznawaniu fragmentów amyloidogennych [5,6] nie dają zadowalających wyników w przypadku prionów. Jako alternatywę, proponujemy model probabilistycznej gramatyki bezkontekstowej rozszerzający ukryte modele Markowa o możliwość uwzględnienia zależności pomiędzy poszczególnymi pozycjami w motywie [7,8]. Proponowany model jest uczony statystycznie, nie wymagając przy tym ewolucyjnego powiązania sekwencji.

W ramach testowania modelu sprawdziliśmy jego zdolność reprezentowania poszczególnych rodzin motywów prionowych oraz skutecznego wykrywania ich w bazach sekwencji. Następnie, przeprowadziliśmy uczenie gramatyki wspólnej dla 10 rodzin motywów bakteryjnych, weryfikując zdolność modelu do generalizacji przez zastosowanie go do wykrycia sekwencji znanych rodzin motywów grzybowych. Testy wykazały dobrą dokładność metody. W dalszym ciągu badań planujemy dalszą optymalizację parametrów modelu, analizę otrzymywanych deskryptorów oraz zastosowanie modelu do odkrywania nowych motywów. Opracowane podejście nadaje się także do modelowania innych niejednorodnych kolekcji motywów białkowych, np. miejsc wiążących [8].

Literatura

1. Daskalov A, Paoletti M, Ness F, Saube SJ (2012). PLOS ONE 7(4): e34854
2. Dyrka W, Lamacchia M, Durrens P, et al. (2014). Genome Biol Evol. 6(12):3137–3158.
3. Kajava AV, Klopffleisch K, Chen S, Hofmann K. (2014). Sci Rep. 4:7436.

4. Sabate R, Rousseau F, Schymkowitz J, Ventura S. (2015). PLoS Comput Biol. 11(1):e1004013
5. Walsh I, Seno F, Tosatto SCE, Trovato A. (2014). Nucleic Acids Res, 42(Web Server issue):W301-7.
6. Burdukiewicz M, Sobczyk P., Roediger, S. et al. (2017). Sci Rep 7:12961
7. Dyrka W, Nebel J. (2009). BMC Bioinformatics 10:323
8. Dyrka W, Pyzik M, Coste F, Talibart H. (2019). PeerJ 7:e6559

Badanie funkcji białek bakteriofagowych ze szczególnym uwzględnieniem zdolności do biodegradacji biofilmu

Karolina Filik, Bożena Szermer-Olechnik, Jan Brykała, Ewa Brzozowska

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk

Streszczenie

Yersinia enterocolitica jest Gram-ujemną pałeczką z rodziny *Enterobacteriaceae*. W obrębie gatunku jest 6 podgrup, które wyróżniono na podstawie wewnątrzgatunkowych różnic fenotypowych. Wyróżniamy również 57 O-serotypów wyłonionych na podstawie różnic w budowie lipopolisacharydu (LPSu) [1,2]. Dla człowieka najbardziej patogenne są serotypy O:3 (występujący głównie w Europie i Chinach) oraz O:8 (występujący głównie na terenie Stanów Zjednoczonych). Rezerwuarem patogennych szczepów *Yersinia* są świnie oraz inne zwierzęta gospodarskie. Do zarażenia patogenami może dojść również przez kontakt ze skażonym/źle przetworzonym mięsem lub odchodami zwierząt [2, 3]. Symptomami infekcji *Yersinią* są dolegliwości związane z układem pokarmowym takie jak biegunka, wymioty, gorączka oraz ostre zapalenie jelit. Patogenne szczepy *Yersinia* posiadają szereg czynników wirulencji, które umożliwiają im przeżycie oraz ich namnażanie wewnątrz ustroju gospodarza tj. LPS, adhezyny, inwazyjne, rzęski, system sekrecji typu 3 czy enterotoksyny [2].

Badania naszego zespołu wpisują się w światowy nurt poszukiwań alternatywnych metod leczenia infekcji bakteryjnych. Szybkie nabywanie oporności na antybiotyki przez bakterie stało się poważnym problemem epidemiologicznym. W świetle tych doniesień popularność zyskuje fagoterapia (ang. phage therapy) wykorzystująca fagi lityczne czyli wirusy bakteryjne do walki z patogennymi i często opornymi na wszystkie znane antybiotyki bakteriami. Ze względu na występowanie na powierzchni bakteriofagów struktur odpowiedzialnych za rozpoznanie komórek gospodarza wykazują one bardzo dużą specyficznością w stosunku do infekowanych bakterii. Jedną z interesujących alternatyw pojawiających się w obrębie fagoterapii jest wykorzystanie wybranych elementów strukturalnych wirionów fagowych tj. białka, które mogą mieć właściwości zarówno strukturalne (być elementem budulcowym wirionu fagowego) jak i enzymatyczne np. w stosunku do cukrowych osłon komórkowych bakterii czy samych szczepów [3-10].

Celem podjętych przez nasz zespół badań jest poszukiwanie białek bakteriofagowych o potencjalnej zdolności do biodegradacji biofilmu bakteryjnego. Nasze badania skupiają się na bakteriofagu phiYe03-12 oraz phiYe80-18, bakteriofagi te infekują i lizują bakterie *Yersinia enterocolitica* o serotypie O:3 i O:8 coraz częściej identyfikowane z zakażeniami układu pokarmowego występującymi w Europie. Badania finansowane są ze środków NCN Sonata Bis 7 UMO-2017/26/E/NZ1/00249 i stanowią projekt pt. „Badanie funkcji i mechanizmu działania białek ogonka bakteriofagów na przykładzie fagów *Yersinia enterocolitica*”.

Literatura

1. Thomson, N. R. et al. (2006) *PLoS genetics*, 2(12), e206.
2. Fàbrega, A., & Vila, J. (2012) *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 30(1), 24-32.
3. Sabina, Y. et al. (2011). *Journal of pathogens*, 2011.
4. Lin, D. M. et al. (2017) *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics*, 8(3), 162.
5. Sulakvelidze A. et al. (2001) *Antimicrob Agents chemother* 45:649–659.
6. Kucharewicz- Krukowska A., Slopek S., (1987) *Arch. Immunol. Et Therapie Experiment.*35; 553-561.
7. Cislo M. et al. (1987) *Arch. Immunol. Et Therapie Experimental.* 35; 175-183.
8. Slopek S. et al. (1987) *Ach. Immunol. Et Therapie Experimental.* 35; 569-583.
9. Weber-Dabrowska B. et al. (2000) *Arch Immunol. Et Therapie Experimental.*48; 547-551.
10. Donlan R.M. (2009) *Trends in Microbiology.*17, 66-72.

Foodomika: nowa koncepcja badań nad cukrzycą

dr Aleksandra Kuzan¹, mgr inż. Karolina Nowakowska², mgr inż. Kinga Gostomska-Pampuch¹, dr Agnieszka Bronowicka-Szydełko¹

¹Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

Wysoka świadomość społeczeństw państw wysokorozwiniętych sprawia, że ludność ma poważne obawy dotyczące bezpieczeństwa i jakości żywności ze względu na ekonomiczne i nieekologiczne praktyki producentów żywności. W celu kontrolowania jakości pożywienia rozważane jest zastosowanie podejścia obejmującego wiele gałęzi nauki, między innymi proteomikę, metabolomikę, metagenomikę i transkryptomikę w charakteryzowaniu składu produktów spożywczych. W przeciągu kilku ostatnich lat pojawia się w literaturze przedmiotu termin FOODOMIKA. Definiuje się go jako analizy o dużej przepustowości integrujące chemię żywności, chemię analityczną, biochemię, mikrobiologię, biologię molekularną, technologię żywności, nauki kliniczne oraz bioinformatykę. Dzięki wykorzystaniu technologii omicznych badacze mogą kompleksowo porównywać produkty żywnościowe na poziomie molekularnym, analizując ekspresję białka / genu / mikrobiomu / metabolitu, zmiany składników i składu podczas przetwarzania, przechowywania i transportu żywności. Ocena wartości biologicznej żywności oparta jest tu o nowoczesne metody analityczne, m.in. NMR, spektroskopię mas, metody oparte na PCR/qPCR i inne. Najczęściej analizuje się zawartość pestycydów, toksyn bakteryjnych i grzybiczych. Jednym z głównych celów foodomiki jest też badanie związku między spożywaną żywnością a zdrowiem pacjenta.

Wśród licznych projektów badawczych, w które angażuje się foodomikę, szczególnie istotne są te dotyczące problematyki cukrzycy. Jest to jedna z głównych chorób cywilizacyjnych: szacuje się, że 422 milionów osób na całym globie choruje na cukrzycę, z czego 179 milionów, to osoby u których choroba jeszcze nie została zdiagnozowana. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) prognozuje, że do 2030 roku cukrzyca będzie siódmą z najczęstszych przyczyn zgonów na świecie. Etiologia cukrzycy jest mocno związana ze spożywanym pożywieniem, acz wciąż wysledzenie bezpośrednich czynników sprawczych tej choroby i wyeliminowanie ich jest niemożliwe. Jednym z wielu elementów, które wpływają na rozwój cukrzycy są produkty zaawansowanej glikacji (AGE, ang. Advanced glycation end products). Jest to wyjątkowo duża i niejednorodna grupa związków, których analiza zarówno w żywności jak i w osoczu czy innych tkankach jest pod względem metodologicznym dość trudna. Foodomika wnosi do badań nad patomechanizmem i możliwościami leczenia cukrzycy możliwość zdobycia i integracji wielu danych, których analiza może zapewnić ukierunkowane strategie dietetyczne dla pacjentów z cukrzycą.

Literatura

1. Ren X, Li X. Advances in Research on Diabetes by Human Nutriomics. *Int J Mol Sci.* 2019 Oct 29;20(21). pii: E5375. doi: 10.3390/ijms20215375.
2. Andjelković U, Šrajter Gajdošik M, Gašo-Sokač D, Martinović T, Josić D. Foodomics and Food Safety: Where We Are. *Food Technol Biotechnol.* 2017 Sep;55(3):290-307. doi: 10.17113/ftb.55.03.17.5044.
3. Francesco Capozzi, Alessandra Bordoni. **Foodomics**: a new comprehensive approach to food and nutrition. *Genes Nutr.* 2013 Jan; 8(1): 1–4. Published online 2012 Aug 30. doi: 10.1007/s12263-012-0310-x
4. Global report on diabetes. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. © World Health Organization 2016. ISBN 978 92 4 156525.

Zastosowanie innowacyjnej glikokoniugatowej pochodnej metotreksatu i glukozy w selektywnej terapii przeciwnowotworowej

mgr Sebastian Makuch¹, Dr Marta Woźniak¹, Dr Siddarth Agrawal¹, Dr Jerzy Wiśniewski²

¹Katedra i Zakład Patomorfologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

W ciągu ostatnich kilkunastu lat doszło do znacznego progresu w koncepcji przeciwnowotworowej terapii celowanej, jednak skuteczność dotychczasowych leków pozostaje niezadowalająca. W związku z tym, nadal istnieje konieczność odkrycia nowych i bardziej efektywnych leków. W badaniach *in vitro* na liniach nowotworu piersi i jelita wykonano analizę porównawczą wychwytu wolnego metotreksatu oraz związku zawierającego dwie podjednostki strukturalne: glukozę i metotreksat połączone linkerem. Unikalna struktura chemiczna związku pozwala na efektywną akumulację wewnątrzkomórkową dzięki obecności glukozy. Nowy związek wykazuje silne działanie cytotoksyczne nawet w środowisku hipoksji i hipoglikemii, w przeciwieństwie do większości chemioterapeutyków, które nie działają na komórki w tych warunkach.

W badaniach wykorzystano technikę chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas w celu pomiaru wychwytu glikokoniugatu w porównaniu z wolnym metotreksatem. Wyniki potwierdziły, że nowa glikokoniugatowa pochodna metotreksatu i glukozy wykazuje zdecydowanie silniejsze działanie przeciwnowotworowe aniżeli wolny metotreksat oraz jest preferencyjnie akumulowana w komórkach nowotworowych (50-krotnie lepiej niż sam metotreksat).

Ze względu na liczne zalety takie jak selektywność, biodostępność i wysoka skuteczność związku, może on znaleźć szerokie zastosowanie w medycynie i stanowić atrakcyjną alternatywę dla powszechnie stosowanych dotąd metod terapeutycznych.

Analiza metabolomiczna surowicy pacjentów geriatrycznych

Patryk Mitelsztet¹, Woźniak Marta¹, Agrawal Siddarth¹, Jerzy Wiśniewski²

¹ *Katedra i Zakład Patomorfologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

² *Katedra i Zakład Biochemii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu*

Streszczenie

W Polsce ponad połowa polskich seniorów dotkniętych jest co najmniej trzema schorzeniami przewlekłymi. Skutkuje to pogorszeniem sprawności, izolacją od otoczenia, gorszym rokowaniem oraz wyższą śmiertelnością. W związku z powszechnym występowaniem problemu wielochorobowości, postępowanie terapeutyczne jest często utrudnione ze względu na konieczność wdrażania wielopoziomowego leczenia. Mnogość dolegliwości i stanów chorobowych zgłaszanych przez pacjentów stanowi wyzwanie w kompleksowej opiece osób w podeszłym wieku.

W badaniach wykorzystano technikę chromatografii ciekowej sprzężonej ze spektrometrią mas w celu pomiaru stężenia metabolitów zaangażowanych w szlak syntezy tlenu azotu. Dodatkowo wykonane zostaną profile metaboliczne pacjentów celem identyfikacji metabolitów związanych z procesem starzenia, sprawnością fizyczną oraz potencjałem intelektualnym osób w wieku podeszłym. Badanie zostanie przeprowadzone na grupie pacjentów przyjętych do Kliniki Geriatrii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Analizowane dane obejmować będą obciążenia chorobowe, BMI, wybrane wyniki badań biochemicznych oraz obrazowych, aby skorelować z nimi biomarkery metaboliczne. Do badań metabolicznych wykorzystano surowicę pacjentów.

Przewiduje się, że wyniki pracy badawczej umożliwią poznanie związku wielochorobowości z profilem metabolicznym pacjentów, a także przyczynią się do lepszej diagnostyki, wyboru efektywnej terapii oraz monitorowania przebiegu chorób i leczenia, czego skutkiem będzie wzrost długości i jakości życia pacjentów geriatrycznych.

Oddziaływanie nowych związków z grupy flawonoidów z biomolekułami oraz błoną biologiczną i ich cytotoksyczność względem erytrocytów

Karolina Szczecka¹, Angelika Strach¹, Aleksandra Włoch², Paulina Strugała², Agnieszka Krawczyk-Łebek³, Dorota Bonarska-Kujawa², Edyta Kostrzewa-Susłow³

¹Koło naukowe "OrgChem" przy Katedrze Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,

²Katedra Fizyki i Biofizyki, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

³Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,

Streszczenie

Obecnie przedmiotem licznych badań są naturalne związki roślinne – fitozwiązki. Szczególnym zainteresowaniem cieszą się związki polifenolowe, a wśród nich flawonoidy, które charakteryzują się dużym spektrum aktywności biologicznej.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu nowo zsyntetyzowanych związków flawonoidowych takich jak chalkon, flawanon i flawon na cytotoksyczność erytrocytów ssaczych, parametry fizykochemiczne błony lipidowej i białkowo-lipidowej oraz określenie ich oddziaływania z albuminą ludzką.

Za pomocą metody spektrofotometrycznej określono cytotoksyczność na podstawie procentu hemolizy krwinek czerwonych, po trzech różnych czasach inkubacji. Procent hemolizy był wyznaczany na podstawie uwolnionej z erytrocytów hemoglobiny, który jest proporcjonalny do liczby zhemolizowanych krwinek. Metodą fluorymetryczną przy użyciu dwóch sond fluorescencyjnych takich jak DPH oraz Laurdan określono wpływ zsyntetyzowanych związków na płynność i uporządkowanie błony erytrocytów oraz błony lipidowej utworzonej z fosfatydylocholino jajecznej. Wiązanie flawonoidów z albuminą ludzką przeprowadzono techniką wygaszania naturalnej fluorescencji albuminy z wykorzystaniem równania Sterna-Volmera.

Badania wykazały, że flawonoidy nie wykazały znaczących zmian hemolizy krwinek czerwonych co wskazuje, że związki te nie mają działania cytotoksycznego. Badane związki wpływały zarówno na obszar hydrofilowy jak i hydrofobowy błony białkowo-lipidowej i lipidowej. Powodowały one również wzrost uporządkowania obszaru hydrofilowego obu rodzaju błon, a stopień tych zmian był zależny od struktury badanych związków. Wpływ flawonoidów na obszar hydrofobowy różnił się w zależności od zastosowanego rodzaju błony. W przypadku błony lipidowej wszystkie związki spowodowały zmniejszenie płynności błony, natomiast gdy obiektem badań była błona białkowo-lipidowa flawanon powodował wzrost płynności a chalkon jej spadek. Wykazano również, że wszystkie flawonoidy gaszą naturalną fluorescencję albuminy ludzkiej w wyniku wiązania się z nią poprzez tworzenie kompleksów na drodze wiązań wodorowych i van der Waalsa. Spośród testowanych związków chalkon posiadał największą zdolność wiązania się z albuminą. Tworzone kompleksy z głównym białkiem krwi mogą determinować farmakokinetykę i dystrybucję związków fenolowych w organizmie.

Badania były współfinansowane ze środków na działalność statutową Katedry Fizyki i Biofizyki oraz Katedry Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Oznaczanie wybranych katynonów metodą UHPLC-DAD w dowodach rzeczowych

mgr inż. Anna Świąćka¹, dr Paweł Szpot², dr Marcin Zawadzki²

¹Laboratorium Spektrometrii Mas i Chromatografii, Sieć Badawcza ŁUKASIEWICZ - PORT Polski
Ośrodek Rozwoju Technologii, Wrocław

²Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Dzisiejsze czasy charakteryzują się szerokim dostępem do różnych substancji. Zarówno w sklepach internetowych jak i w stacjonarnych smart shopach zaczęły się pojawiać produkty kolekcjonerskie nazywane dopalaczami. Zawierają one środki psychoaktywne, które oddziałują na ośrodkowy układ nerwowy i powodują liczne zmiany, takie jak: zaburzenia świadomości, poczucie czasu, percepcji. Wywołują szereg oczekiwanych przez użytkowników efektów: pobudzenie, empatia, halucynacje, zwiększone libido, rozluźnienie. Większość obecnych na rynku substancji narkotykowych nie podlega kontroli, a ich przyjmowanie może stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia. Dla toksykologów klinicznych i sądowych priorytetem stało się poszukiwanie metod przesiewowych i celowanych, które pozwolą jak najlepiej oznaczyć i zidentyfikować grupę „nowych narkotyków zmodyfikowanych”. Złożoność tego zagadnienia znajduje odzwierciedlenie w piśmiennictwie, problemy dotyczą analityki i identyfikacji pojawiających się nowych związków, a także ich wpływu na organizm ludzki. Syntetyczne katynony są prężnie rozwijającą się grupą nowych substancji psychoaktywnych (NPS). Rokrocznie rynek narkotykowy zasilają syntetyczne katynony o zmodyfikowanej strukturze wymykające się Ustawie o przeciwdziałaniu narkomanii z dnia 29 lipca 2005 r. (tekst jednolity: Dz. U. z 2019 r. poz. 852). Celem przeprowadzonych badań było opracowanie metody umożliwiającej oznaczanie wybranych syntetycznych katynonów w dowodach rzeczowych. Analiza przygotowanych próbek została przeprowadzona przy użyciu ultra-wysoko sprawnej chromatografii cieczowej z detektorem DAD. Walidacja metody obejmowała sprawdzenie takich parametrów jak: liniowość, precyzja, dokładność, granica oznaczalności oraz odzysk. Liniowość metody badano dla roztworów wzorców katynonów w pięciu stężeniach: 2.5, 5, 10, 25, 50 µg/ml. Współczynnik determinacji (R^2) wynosił od 0.9986 do 0.9999. Precyzja mieściła się w przedziale od 0.29 do 2.0 %. Dokładność metody wynosiła od - 0.18 do 6.0%. Odzysk dla poszczególnych katynonów mieścił się w zakresie od 92.84 do 107 %. Limit oznaczalności metody LLOQ wynosił od 1 µg/ml do 5 µg/ml. Wszystkie parametry metody były wystarczające, żeby uznać, że opracowana metoda jest liniowa, czuła, dokładna i precyzyjna, dlatego z powodzeniem może być wykorzystywana do oznaczania wybranych katynonów w materiale dowodowym.

Zastosowanie metod metabolomicznych w lipidomice

Tyszkiewicz N.¹, Pudełko N.¹, Zuber M.², Młynarz P.¹

¹Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Zakład Chemii Bioorganicznej, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

²Uniwersytet Wroclawski, Wydział Chemii, F, Fryderyka Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław

Streszczenie

Intensywny rozwój metod analitycznych, w szczególności spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), przyczynił się do dynamicznego postępu w zakresie nauk -omicznych. Obejmują one badania skupiające się na wyjaśnianiu zasad funkcjonowania organizmu, w oparciu o analizy proteomiczne, transkryptomiczne, genomowe

oraz metabolomiczne. Informacji na temat aktualnego stanu badanego materiału dostarcza metabolomika. Zajmuje się ona pozyskiwaniem i oznaczaniem całego zestawu produktów, powstających na skutek przemian metabolicznych w komórce, tkance lub organizmie. Całość tych niskocząsteczkowych substancji określa się mianem metabolomu. Do jego oznaczenia wykorzystywane są techniki: analityczne, chemometryczne i statystyczne, których połączenie dostarcza cennych informacji na temat korelacji pomiędzy składem chemicznym, a obecnym stanem komórki [1].

Jedną z dyscyplin należących do metabolomiki jest lipidomika. Jej zadaniem jest badanie lipidów, które należą do grupy związków chemicznych charakteryzujących się zróżnicowaną strukturą, a co za tym idzie różnorodnymi funkcjami. Głównym celem lipidomiki jest identyfikacja oraz oznaczenie zmian stężeń w lipidomie badanego układu. Porównanie zbiorów cząsteczek pochodzących z odmiennych próbek, umożliwia poznanie biomarkerów odpowiedzialnych za stan patofizjologiczny komórki i odkrycie nieprawidłowości w szlakach metabolicznych. Zaburzenie homeostazy związków lipidowych przyczynia się do rozwoju wielu chorób np. miażdżycy, cukrzycy czy nowotworów. Aby temu zapobiec ważna jest odpowiednio dobrana dieta, dostosowana do potrzeb organizmu [2]. Zagadnieniami z tego obszaru zajmuje się foodomika.

Na szczególną uwagę naukowców zasługują oleje pochodzenia roślinnego, które można badać wyżej wymienionymi metodami, w celu określenia ich składu. W zależności od występujących kwasów, oleje charakteryzują się różnymi właściwościami prozdrowotnymi. Przykładowo obecność wielonienasyconych kwasów tłuszczowych sprzyja zwiększeniu odporności organizmu oraz obniżeniu ryzyka wystąpienia chorób serca, wątroby i nerek [3]. Oleje uzyskiwane na drodze mechanicznego tłoczenia na zimno stanowią najbogatsze źródło nienasyconych kwasów tłuszczowych. Dobrym przykładem jest olej z pestek granatu, który dzięki zawartości sprzężonych kwasów linolenowych działa antyoksydacyjnie, przeciwzapalnie oraz wpływa na dobrą kondycję skóry[4].

Literatura

1. Markuszewski M., *Metabolomika: analizy metabolomiczne w oparciu o elektroforezę kapilarną*, Katedra i Zakład Biofarmacji i Farmakodynamiki, Gdańsk 2006
2. Jurowski K. i in., *Lipidomika – interdyscyplinarna dziedzina z zakresu nauk life science*, Dokonania Młodych Naukowców (3), 2/2014, ISSN:2300-4436
3. Szczypka M., *Wykorzystanie olejów roślinnych*, Zeszyty Naukowe PWSZ Legnica, nr 30(1)/2019
4. Kalina M., *Użycie podejścia metabolomicznego w lipidomice*

Abstrakty prezentacji ustnych

Anotacja lipofilnych metabolitów *Candida albicans* przy użyciu znakowania ^{13}C i ^{15}N .

**Mariusz A. Bromke¹, Jerzy Wiśniewski¹, Jakub Suchodolski², Anna Krasowska²,
Mateusz Skrzypecki³, Witold Dyrka³**

1 Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu; 2 Zakład Biotransformacji, Uniwersytet Wrocławski; 3 Katedra Inżynierii Biomedycznej, Politechnika Wrocławska

Streszczenie

Candida albicans to powszechnie występujący drożdżak stanowiący część ludzkiego mikrobiomu skóry, jamy ustnej czy pochwy. Jest uważany za saprobiont lub patogen fakultatywny. Przy braku lub zmniejszonej odporności (np. cukrzyca, rak, AIDS lub podawanie niektórych leków), kolonizacja *Candida albicans* może gwałtownie wzrosnąć, co następnie przejawia się jako grzybica (kandydoza). Najczęściej stosowanymi środkami przeciwgrzybiczymi do leczenia kandydozy są związki, które zakłócają syntezę ściany komórkowej grzyba lub jego błony komórkowej. Przykładowo, flukonazol, podobnie jak inne pochodne triazolowe, hamuje 14-alfa-demetylazę układu cytochromu P450 komórki grzyba, co zatrzymuje konwersję lanosterolu do ergosterolu. Zaburzenie składu steroli w błonie komórkowej hamuje wzrost patogenu.

Lipidomika pozwala na badanie różnic w zawartościach wielu związków lipidowych. Zastosowanie lipidomiki w eksploracji zmian poziomu metabolitów w ekstraktach *C. albicans*, można wesprzeć przez wytworzenie biblioteki związków występujących w danym organizmie. W tym celu wyhodowaliśmy komórki *C. albicans* na minimalnym syntetycznym podłożu o określonym składzie, oraz na wariantach tego podłoża zawierających U- ^{13}C -glukozę oraz $^{15}\text{NH}_3\text{Cl}$ jako jedyne źródła węgla lub azotu. Przy całkowitej inkorporacji izotopów w materię organiczną komórek *C. albicans* dochodzi do zwiększenia się masy cząsteczkowej związków o ilość ciężkich atomów w cząsteczce. Pomiar różnic masy związków organicznych wyekstrahowanych z komórek drożdżaka wzrastającego na pożywce zawierającej naturalny skład izotopowy oraz na bogatej w ^{13}C i ^{15}N , pozwala wyliczyć liczbę atomów danego pierwiastka w badanej substancji.

Niniejsza prezentacja referuje wyniki poszukiwania i katalogowania związków lipidowych w komórkach *C. albicans*. Badanie opiera się na dokładnym pomiarze masy związków oraz połączeniu informacji o ilości atomów C i N w cząsteczkach. Pozwala nam to na lepszą anotację nieznanych pików w analizie lipidomicznej opartej na LC-MS. Nasza anotacja lipidów przez porównanie widm masowych została wsparta przez zastosowanie specjalnie przygotowanego do tego celu oprogramowania.