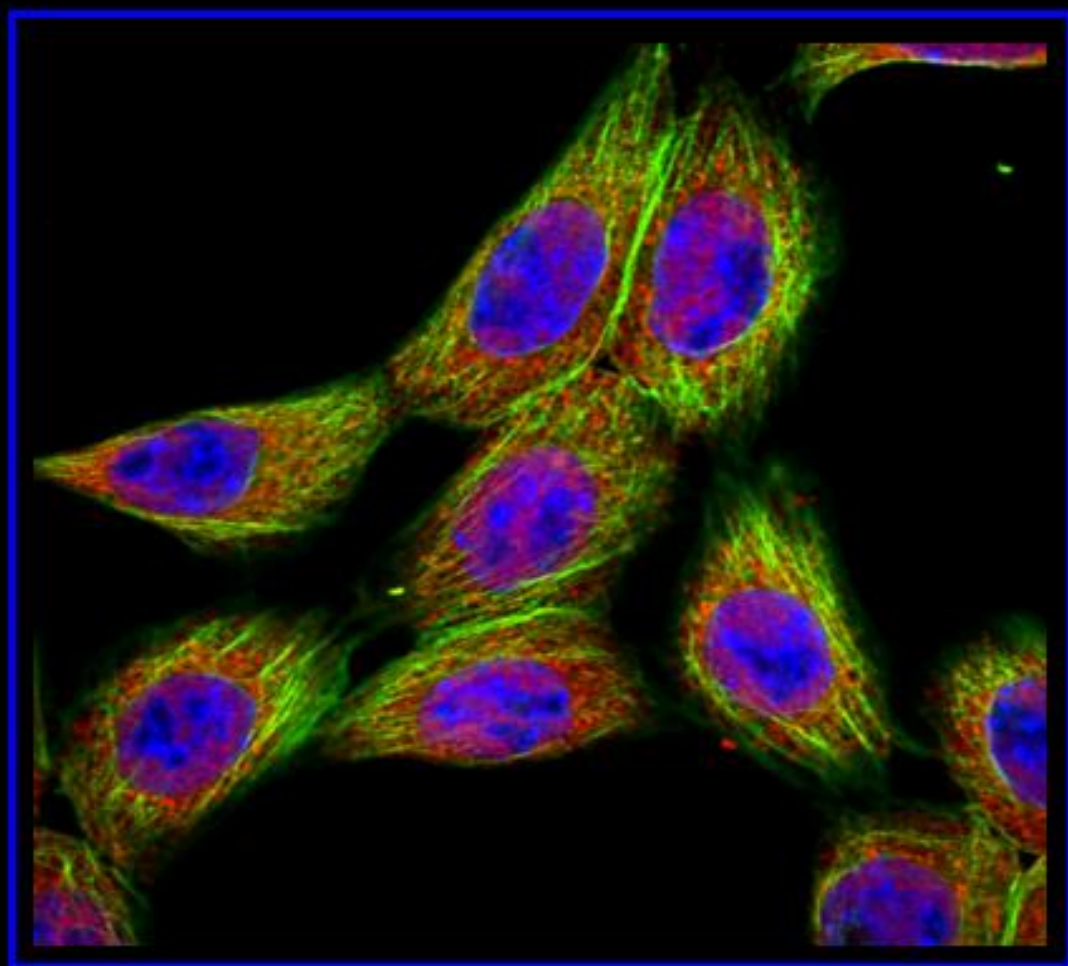


**KOMISJA INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ  
WROCŁAWSKIEGO ODDZIAŁU  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK**

**V SYMPOZJUM**

**WSPÓŁCZESNA MYŚL TECHNICZNA  
W NAUKACH MEDYCZNYCH  
I BIOLOGICZNYCH**



**Wrocław, 20-21 czerwca 2014 r.**

KOMISJA INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ  
WROCŁAWSKIEGO ODDZIAŁU POLSKIEJ AKADEMII NAUK



V SYMPOZJUM

**WSPÓŁCZESNA MYŚL TECHNICZNA  
W NAUKACH  
MEDYCZNYCH I BIOLOGICZNYCH**

**MATERIAŁY KONFERENCYJNE**



**Wrocław, 20-21 czerwca 2014 r.**

Zdjęcie umieszczone na stronie tytułowej przedstawia lokalizację FBPazy (kolor czerwony) oraz szkieletu tubulinowego (zielony) w komórkach raka płaskonabłonkowego oskrzela, KLN-205. Kolor niebieski – jądra komórkowe. Zdjęcie zostało wykonane przez dra Piotra Mamczura z Zakładu Fizjologii Molekularnej Zwierząt Instytutu Biologii Eksperymentalnej Uniwersytetu Wrocławskiego, przy użyciu mikroskopu konfokalnego.

© Copyright by Oddział Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu, Wrocław 2014  
All rights reserved

**ISBN 978-83-934204-5-2**

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

Druk: Wrocławska Drukarnia Naukowa PAN im. St. Kulczyńskiego

## ORGANIZATOR

### KOMISJA INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ WROCŁAWSKIEGO ODDZIAŁU POLSKIEJ AKADEMII NAUK

#### PATRONAT

Prof. dr hab. Andrzej Górski, czł. rzec. PAN  
Wiceprezes Polskiej Akademii Nauk

Prof. dr hab. Andrzej Żelaźniewicz, czł. koresp. PAN  
Prezes Wrocławskiego Oddziału  
Polskiej Akademii Nauk

#### KOMITET ORGANIZACYJNY

przewodniczący:

**dr hab. prof. Dariusz Rakus, UW.**

wiceprzewodnicząca:

**dr hab. inż. prof. Celina Pezowicz, PWr.**

wiceprzewodnicząca:

**prof. dr hab. Urszula Paślawska, UP Wr.**

wiceprzewodnicząca:

**dr hab. prof. Marzenna Podhorska-Okołów, UM Wr.**

sekretarze:

**dr hab. Agnieszka Gizak (UWr.), dr Piotr Mamczur (UWr.)**

#### WSPÓŁORGANIZATORZY

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu,  
Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu,  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu,  
Politechnika Wrocławska,  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,  
Uniwersytet Wrocławski,



Fundacja Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

## **KOMITET NAUKOWY**

prof. dr hab. inż. Romuald Będziński  
prof. dr hab. Tadeusz Bober  
prof. dr hab. Jan Boratyński  
prof. dr hab. Piotr Dzięgiel  
prof. dr hab. inż. Tadeusz Gudra  
prof. dr hab. Włodzimierz Jarmundowicz  
prof. dr hab. Urszula Kaczmarek  
prof. dr hab. Henryk Kasprzak  
prof. dr hab. Alicja Kędzia  
prof. dr hab. Małgorzata Komorowska  
prof. dr hab. Henryk Kozłowski  
prof. dr hab. Krzysztof Kubiak  
prof. dr hab. Jan Kuryszko  
dr inż. Marzena Lachowicz  
prof. dr hab. inż. Marek Langner  
dr hab. inż. Zbigniew Moroń  
prof. dr hab. med. wet. Urszula Paślawska  
dr hab. inż. prof. Celina Pezowicz  
prof. dr hab. inż. lek. med. Halina Podbielska  
dr hab. prof. Marzena Podhorska-Okolów  
prof. dr hab. Norbert Jan Pospieszny  
dr hab. prof. Dariusz Rakus  
prof. dr hab. Alicja Rutkowska-Kucharska  
prof. dr hab. Marek Sąsiadek  
prof. dr hab. Wojciech Witkiewicz  
prof. dr hab. Jerzy Zawadzki

*Szanowni Państwo,*

*Dążeniem Komisji Inżynierii Biomedycznej Wrocławskiego Oddziału PAN jest interdyscyplinarna wymiana poglądów i prezentacja wspólnych obszarów działalności dolnośląskiego środowiska biomedycznego i technicznego. Cel ten jest realizowany również przez przygotowywane przez naszą Komisję Sympozjum.*

*Jest nam niezmiernie miło, że zechcieliście Państwo uczestniczyć w tym wydarzeniu. Mamy nadzieję, że Sympozjum na długo pozostanie w Państwa pamięci, zarówno ze względu na poziom merytoryczny przedstawionych prac, jak i wspólne spotkanie towarzyskie.*

*Dariusz Rakus*

*Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego*

## SPIS TREŚCI:

- Aleksandra Adamowicz, Małgorzata Kwaśniak-Owczarek, Hanna Jańska: 13  
GLOBAL CHANGES IN ARABIDOPSIS TRANSCRIPTOME CAUSED BY  
ALTERATIONS IN MITOCHONDRIAL TRANSLATION
- Magdalena Bajgrowicz, Jerzy Detyna: ABSORBCJA I UWALANIANIE LEKU Z 15  
SOCZEWEK KONTAKTOWYCH O RÓŻNEJ MOCY OPTYCZNEJ
- Borys Borsuk, Dariusz Rakus: CZY KOMÓRKI W HODOWLI *IN VITRO* 17  
POTRZEBUJĄ ŚWIEŻEGO MEDIUM?
- Sylwia Szotek, Joanna Dawidowicz, Magdalena Tomanik, Anna Nikodem, 19  
Natalia Matysiak, Krzysztof Maksymowicz: OBRAZOWANIE TKANEK  
MIĘKKICH Z ZASTOSOWANIEM MIKROTOMOGRFII  
RENTGENOWSKIEJ ( $\mu$ CT) NA PRZYKŁADZIE POWIĘZI SZEROKIEJ UDA  
CZŁOWIEKA
- Wojciech Derkowski, Alicja Kędzia: NEUROMODULACJA POPRZEZ 21  
KOMPUTEROWO REGULOWANY WLEW BAKLOFENU DO KANAŁU  
KRĘGOWEGO, ASPEKTY NEUROANATOMICZNE
- Anna Donesz-Sikorska, Justyna Krzak, Krzysztof Marycz, Jerzy Kaleta: 23  
AKTYWACJA POWIERZCHNI IMPLANTACYJNYCH MATERIAŁÓW  
METALICZNYCH ORGANICZNO-NIEORGANICZNYMI POWŁOKAMI  
FUNKCJONALNYMI OTRZYMYWANymi METODĄ ZOL-ŻEL
- Małgorzata Dorot, Danuta Witkowska, Anna Jarzab, Andrzej Gamian: 25  
OTRZYMYWANIE I CHARAKTERYSTYKA PRZECIWCIAŁ  
MONOKLONALNYCH ROZPOZNAJĄCYCH ANTYGEN PEPTYDOWY
- Dominik Drabik, Magdalena Przybyło, Marek Langner: OCENA 27  
FOTOSTABILNOŚCI SOND FLUORESCENCYJNYCH W BADANIACH  
DYFUZJI LIPOSOMÓW Z WYKORZYSTANIEM FLUORESCENCYJNEJ  
SPEKTROSKOPII KORELACYJNEJ

- Dominika Drulis-Fajdasz, Marcin Wawrzyniak, Jakub Włodarczyk, Jerzy W. 29  
Mozrzyimas, Dariusz Rakus: ZASTOSOWANIE TECHNIK  
ELEKTROFIZJOLOGICZNYCH I MIKROSKOPOWYCH W ANALIZIE  
ZMIAN PLASTYCZNOŚCI SYNAPTYCZNEJ
- Dudek Krzysztof, Wojciech Kędzia, Emilia Kędzia, Alicja Kędzia: 31  
KONSTRUKCJA MODELU MATEMATYCZNEGO WZROSTU STRUKTUR  
ANATOMICZNYCH PŁODU LUDZKIEGO
- Daria Głogocka, Marek Langner: PERSPEKTYWY ZMNIEJSZENIA 33  
TOKSYCZNOŚCI METALOWYCH IMPLANTÓW
- Jędrzej Grzegorzółka, Martyna Biała, Patrycja Wojtyra, Christopher Kobierzycki,  
Bartosz Puła, Mateusz Olbromski, Aleksandra Piotrowska, Janusz Ryś, Marzena 35  
Podhorska-Okolów, Piotr Dzięgiel: IMMUNOHISTOCHEMICZNA ANALIZA  
EKSPRESJI BIAŁEK HSP27 I SNAIL W MASTOPATIACH ORAZ RAKACH  
GRUCZOŁU PIERSIOWEGO
- Karolina Grzeszczuk-Kuć, Jolanta Bujok, Tomasz Walski, Katarzyna Gałęcka, 37  
Małgorzata Komorowska: ZMIANY LICZBY LEUKOCYTÓW ORAZ  
LICZEBNOŚCI ICH POPULACJI PODCZAS HEMODIALIZY
- Beata Hanus-Lorenz, Magda Przybyło, Zygmunt Kazimierzczuk, Paweł Grieb, 39  
Marek Langner: ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI MIKROMECHANICZNYCH  
BŁON LIPIDOWYCH INDUKOWANE INHIBITORAMI KINAZY CK2
- Waldemar Andrzejewski, Krzysztof Kassolik, Karolina Jabłońska, Bartosz Puła, 41  
Katarzyna Ratajczak-Wielgomas, Marzena Podhorska-Okolów, Donata Kurpas,  
Piotr Dzięgiel: WPLYW SYNERGISTYCZNEGO MASAŻU I ĆWICZEŃ  
FIZYCZNYCH NA EKSPRESJĘ CZYNNIKÓW ANGIOGENNYCH W  
ŚCIĘGNACH SZCZURÓW
- Alicja Kazek-Kęsik, Małgorzata Krok-Borkowicz, Joanna Michalska, Elżbieta 43  
Pamuła, Wojciech Simka: MODYFIKACJA POWIERZCHNI STOPU TYTANU  
Ti-13Nb-13Zr METODĄ PLAZMOWEGO UTLENIANIA  
ELEKTROLITYCZNEGO

Alicja Kędzia, Emilia Kędzia, Wojciech Kędzia: ANALIZA ZMIENNOŚCI STRUKTUR KOSTNYCH W OKRESIE PRENATALNYM	45
Alicja Kędzia , Wojciech Kędzia, Grzegorz Mazur, Marek Rybaczuk FRAKTALNA ANALIZA STRUKTUR ANATOMICZNYCH DOŁU TYLNEGO CZASZKI	47
Barbara Kmiecik, Anna Skotny, Sylwia Olsztyńska-Janus: SPEKTROSKOPOWA CHARAKTERYSTYKA STRUKTURY SACCHAROMYCES BOULARDII	49
Barbara Kmiecik, Sylwia Olsztyńska-Janus, Jerzy Detyna, Zdzisław Kielbowicz: CHARAKTERYSTYKA STRUKTUR POSZCZEGÓLNYCH WARSTW SKÓRY ZA POMOCĄ SPEKTROSKOPII FTIR-ATR	51
Barbara Kmiecik, Sylwia Olsztyńska-Janus, Małgorzata Komorowska, Jerzy Detyna, Wiesław Królikowski, Konstanty Szułdrzyński: STRUKTURY LIPIDOWE W UKŁADOWEJ ODPOWIEDZI ZAPALNEJ W KRĄŻENIU POZAUSTROJOWYM	53
Katarzyna Kołodziej REGISTRATION PROCEDURES AND QUALITY STANDARDS USED IN GENERIC DRUGS MANUFACTURE	55
Bogumił Konopka: ONTOLOGIE BIOMEDYCZNE – PRZEGLĄD	57
Mateusz Kowal, Alicja Rutkowska-Kucharska: MOMENT SIŁY ZGINACZY I PROSTOWNIKÓW STAWU BIODROWEGO OSÓB PO AMPUTACJI PROWADZĄCYCH AKTYWNY I NIEAKTYWNY TRYB ŻYCIA	59
Koźlik Maciej, Wójcicki Piotr: OSTEOPLASTYKA WYROSTKA ZĘBODOŁOWEGO Z UŻYCIEM PREPARATU KSENOGENNEGO OSTEOVIT® – BADANIE EKSPERYMENTALNE, DONIESIENIE WSTĘPNE	61
Sebastian Kraszewski CZY ŚCIEŻKA AKTYWNEGO WYCHWYTU GLUKOZY MOŻE BYĆ ROZWIĄZANIEM DLA UKIERUNKOWANYCH TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWYCH?	63

- Konrad Kubicki, Maciej Guziński, Andrzej Kochman, Łukasz Waszczuk, Marek 65  
Sąsiadek: DUAL-ENERGY COMPUTED TOMOGRAPHY IMAGING OF  
METALLIC ORTHOPAEDIC IMPLANTS
- Aleksandra Kuzan, Agnieszka Chwiłkowska, Agnieszka Bronowicka-Szydelko, 67  
Magdalena Kobielarz, Andrzej Gamian: OZNACZANIE PRODUKTÓW  
ZAWANSOWANEJ GLIKACJI W TĘTNICACH
- Marzena Lachowicz, Anna Zięty: WPLYW CZYNNIKÓW MECHANICZNYCH 69  
I ŚRODOWISKOWYCH NA ODPORNOŚĆ KOROZYJNĄ IMPLANTÓW ZE  
STOPU TYTANU Ti6Al4V
- Kamila Środa-Pomianek, Berenika Szczęśniak-Sięga, Wiesław Malinka, Andrzej 71  
Poła, Bartosz Puła, Piotr Dzięgiel, Krystyna Michalak: NOWA POCHODNA  
PIROKSYKAMU O POTENCJALNYM DZIAŁANIU  
PRZECIWNOWOTWOROWYM – BADANIA NA LEKOOPORNYCH  
KOMÓRKACH RAKA JELITA GRUBEGO
- Przemysław Musz: INTELIGENTNY SYSTEM DO DIAGNOSTYKI 73  
TELEMTRYCZNEJ
- Adam Oleszko, Sylwia Olsztyńska-Janus, Małgorzata Komorowska, Wojciech 75  
Witkiewicz: WPLYW PROMIENIOWANIA Z ZAKRESU BLISKIEJ  
PODCZERWIENI I TEMPERATURY NA STRUKTURY II-RZĘDOWE  
FIBRYNOGENU – BADANIA PRZY UŻYCIU SPEKTROSKOPII FTIR-ATR
- Krzysztof J. Opieliński, Elżbieta Tubis, Tadeusz Gudra: FANTOM RUCHU 77  
ZASTAWKI SERCA
- Monika Owczarek, Bartosz Puła, Agnieszka Gomulkiwicz, Piotr Dzięgiel, 79  
Sylwia Borska: WPLYW RESWERATROLU NA KOMÓRKI RAKA  
TRZUSTKI O OBNIŻONEJ AKTYWNOŚCI TOPOIZOMERAZY II
- Magdalena Wojtków, Łukasz Kubaszewski, Jacek Kaczmarczyk, Celina 81  
Pezowicz: WPLYW METODY IMPLANTACJI ŚRUBY  
TRANSPEDIKULARNEJ NA TRWAŁOŚĆ POŁĄCZENIA ŚRUBA-KOŚĆ  
KRZYŻOWA

- Krzysztof Pietryga, Lucie Bacakova, Elżbieta Pamuła: ZMINERALIZOWANE HYDROZELE POLISACHARYDOWE DO LECZENIA UBYTKÓW TKANKI KOSTNEJ 83
- Urszula Posadowska, Monika Brzychczy-Włoch, Elżbieta Pamuła: SYSTEMY MIEJSCOWEGO DOSTARCZANIA WANKOMYCyny DO LECZENIA I ZAPOBIEGANIA INFEKCIOM W UKŁADZIE KOSNTYM 85
- Jan Procek, Marek Langner: WYKORZYSTANIE GRADIENTU JONÓW MIEDZI DO AKTYWNEGO ZAMYKANIA DISULFIRAMU W LIPOSOMACH 87
- Magdalena Przybyło, Dominik Drabik, Maciej Łukawski, Marek Langner: WPŁYW JEDNOWARTOŚCIOWYCH JONÓW NA TRANSPORT WODY PRZEZ BŁONY BIOLOGICZNE 89
- Bartosz Puła, Mateusz Olbromski, Aleksandra Ambicka, Agnieszka Gomułkiewicz, Janusz Ryś, Marzena Podhorska-Okołów, Siew Hwa Ong, Piotr Dzięgiel: BIAŁKO INDUKOWANE PROLAKTYNĄ (PIP) JAKO NOWY MARKER PROGNOSTYCZNY I PREDYKCYJNY INWAZYJNEGO RAKA PRZEWODOWEGO GRUCZOŁU PIERSIOWEGO 91
- Łucja Rumian, Katarzyna Reczyńska, Małgorzata Wrona, Hanna Tiainen, Håvard J. Haugen, Elżbieta Pamuła: WPŁYW TEMPERATURY SPIEKANIE NA MIKROSTRUKTURĘ I WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE PODŁOŻY Z TLENKU TYTANU DO WYPEŁNIANIA UBYTKÓW TKANKI KOSTNEJ 93
- Jerzy Silberring PLAZMOWE ŹRÓDŁA JONÓW I ICH POTENCJALNE ZASTOSOWANIA 95
- Klaudia Szkoda, Celina Pezowicz: METODA ELEMENTÓW SKOŃCZONYCH W OCENIE STABILIZACJI ODCINKA PIERSIOWO-LĘDŹWIOWEGO 97
- Paulina Koszła, Sylwia Szotek, Joanna Dawidowicz, Krzysztof Maksymowicz: WPŁYW WIEKU NA ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH POWIĘZI SZEROKIEJ UDA CZŁOWIEKA 99

Magdalena Tomanik, Anna Nikodem: CHARAKTERYSTYKA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH I STRUKTURALNYCH TKANKI KOSTNEJ GĄBCZASTEJ W JAŁOWEJ MARTWICY LUDZKIEJ NASADY BLIŻSZEJ KOŚCI UDOWEJ	101
Renata Wawrzaszek, Urszula Wawrzaszek: WPLYW NANOCZĄSTECZKOWEGO SREBRA NA WŁAŚCIWOŚCI POLISULFONU	103
Urszula Wawrzaszek, Renata Wawrzaszek: ZASTOSOWANIE BIOMATERIAŁÓW TYTANOWYCH	105
Joanna Weźgowiec, Małgorzata Kotulska, Julita Kulbacka, Jolanta Saczko: THE INFLUENCE OF PHOTODYNAMIC REACTION SUPPORTED BY ELECTROPORATION ON THE SELECTED COMPONENTS OF BREAST CANCER CELLS	107
Janusz Wiśniewski, Agnieszka Gizak, Piotr Mamczur, Dariusz Rakus: JĄDERKOWA LOKALIZACJA FOSFOGLICEROMUTAZY JAKO MARKER PROLIFERACJI KOMÓREK	109
I.M. Wojak-Ćwik, L. Rumian, R. Hess, P. Dobrzynski, St. Möller, M. Schnabelrauch, V. Hintze, D. Scharnweber, E. Pamuła: POROWATE RUSZTOWANIA Z POLI(L-LAKTYDU-CO-GLIKOLIDU) DLA REGENERACJO KOŚCI – CZY BIMODALNE PORY WYKAZUJĄ WPLYWJĄ NA HODOWLĘ MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH?	111
Artur Wrona, Olga Hrydziuszko, Joanna Balbus, Krystian Kubica: ZNACZENIE DIAGNOSTYCZNE I TERAPEUTYCZNE MODELI HOMEOSTAZY CHOLESTEROLU	113



**Aleksandra Adamowicz<sup>1</sup>, Małgorzata Kwaśniak-Owczarek<sup>1</sup>, Hanna Jańska<sup>1</sup>**

## **GLOBAL CHANGES IN *ARABIDOPSIS* TRANSCRIPTOME CAUSED BY ALTERATIONS IN MITOCHONDRIAL TRANSLATION**

Recently we have found that silencing of nuclear *Rps10* gene, encoding S10 protein, a component of the small subunit of mitochondrial ribosome, causes perturbation in status of mitoribosomes which results in significant alterations in protein synthesis (Kwaśniak et al., 2013). To understand how the altered mitochondrial translation affects function of other cellular compartments, the whole cell transcriptomes of two independent hemizygous *rps10* phenotypes, P2 and P3, were examined using *Arabidopsis* DNA microarrays (Affymetrix, ATH1 chips). We found that expression of 3661 and 1287 genes were significantly altered compared to wild type plants, in P2 and P3 phenotypes respectively. 1023 of these genes were commonly affected in both *rps10* phenotypes, among which 616 genes were up-regulated, whereas 407 genes were down-regulated. Commonly affected genes were categorized according to subcellular localization of their products using the *Arabidopsis* database SUBA 3. This clusterization showed that products of those genes are targeted to different cellular compartments including nucleus (20%), cytosol (18%), plasma membrane (16%), chloroplast (14%) and mitochondria (12%). In the next step the affected genes were sorted into functional gene categories using the MapMan tool. Functional clusterization showed that majority of proteins targeted to nucleus are involved in regulation of transcription (23%) and degradation of proteins (8,5%). In cluster containing cytosol-located products of genes majority of them are involved in biotic and abiotic stress response (8,13%) as well as in organization of plant cell and development of plants (6,7%). Furthermore most of gene products belonging to plasma membrane group are involved in transport (23%) and in signaling (18%). In chloroplast-

---

<sup>1</sup> Molecular Biology of The Cell Department, Faculty of Biotechnology, University of Wrocław, F. Joliot-Curie 14A, 50-383 Wrocław

located proteins most of them are involved in regulation of transcription (10%), whereas in mitochondrial group majority of identified proteins (14%) are involved in mitochondrial electron transport chain.

Analysis of microarray data for *rps10* plants gives strong evidence that changes in mitochondrial translation not only has influence on mitochondria but also regulates functioning of other cellular compartments. Presently we focused our attention on alterations in the expression profile of genes encoding proteins located in chloroplasts. The yet unpublished data concerning chloroplast function and expression of chloroplast genome in *rps10* plants will be presented also on this poster.



---

**Magdalena Bajgrowicz<sup>1</sup>, Jerzy Detyna<sup>1</sup>**

## **ABSORBCJA I UWALNIANIE LEKU Z SOCZEWEK KONTAKTOWYCH O RÓŻNEJ MOCY OPTYCZNEJ**

Obecnie 90% leków stosowanych w leczeniu chorób przedniego odcinka gałki ocznej stosuje się w postaci krople do oczu. Metoda ta posiada jednak ogromną wadę. Czas kontaktu leku z powierzchnią rogówki jest bardzo krótki (2 – 5 min). Szacowana ilość leku która w tym czasie jest absorbowana przez rogówkę, to zaledwie 5% podanej dawki. Pozostała część leku spływa wraz z filmem łzowym przez górny i dolny kanalik łzowy do woreczka łzowego, a następnie do przewodu nosowo – łzowego, gdzie jest absorbowana do krwioobiegu, co może wywołać niepożądane skutki uboczne. W związku z powyższym problemem, należy opracować nowy system dostarczania leku, który będzie bardziej wydajny niż krople. Zastosowanie soczewek kontaktowych jako nośników leków budzi duże zainteresowanie naukowców i lekarzy. Soczewka stanowi rezerwar leku na powierzchni oka, przez co lek jest uwalniany wolniej i dłużej pozostaje w kontakcie z powierzchnią rogówki. Obecnie w literaturze można znaleźć wiele artykułów poświęconych tej metodzie, jednak porównanie uzyskanych wyników stwarza trudność, ponieważ grubość badanych soczewek nie jest ujednolicona. W literaturze moc optyczna soczewek używanych do badań waha się od -0,25 do -6,5 dioptrii. Zmiana mocy optycznej wiąże się ze zmianą grubości soczewki i jej objętością, a więc powinna zmienić się również jej możliwość absorpcji leku. Niemożliwym jest porównanie wyników z różnych artykułów bez wiedzy na temat tego jak grubość soczewki wpływa na ilość wchłanianego leku oraz na czas uwalniania.

Celem niniejszej pracy jest zbadanie jaki wpływ ma rodzaju materiału i grubości soczewki na ilość absorbowanego i uwalnianego leku. W badaniu wykorzystano 3 różne materiały obecnie dostępne na rynku: narafilcon A, hilafilcon B i nelfilcon (tabela 1). Dla każdego z wymienionych materiałów wykorzystano soczewki o 3 różnych mocach

---

<sup>1</sup> Politechnika Wrocławska, Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej

optycznych: -0.5, -3 i -6 dioptrii. Lek wykorzystywany w doświadczeniu to cyprofloksacyna - substancja przeciwbakteryjna, wykorzystywana w leczeniu powierzchniowych zakażeń oka oraz w owrzodzeń rogówki. Tradycyjnie lek ten stosuje się w postaci kropli do oczu bądź maści o stężeniu 0,3% (np. Proxacin, Cilax).

<b>materiał</b>	narafilcon A	hilafilcon B	nelfilcon
<b>nazwa</b>	Acuvue True Eye	Softlens Daily	Dailies Aqua Comfort
<b>producent</b>	Johnson&Johnson	Bausch&Lomb	Ciba Vision
<b>uwodnienie</b>	46%	59%	68%

Soczewki były zanurzane w 0,3% roztworze cyprofloksacyny przez 24 godziny. Co pewien określony czas mierzono zmianę stężenia leku w roztworze przy użyciu spektrofotometru, aby uzyskać informacje o ilości zaabsorbowanego leku. Po 24 godzinach soczewki nasączone lekiem zostały umieszczone w roztworze soli fizjologicznej imitującej film łzowy. Ponownie przy użyciu metod spektroskopowych co pewien czas badano stężenie leku w roztworze soli. W efekcie końcowym otrzymano krzywe absorpcji i krzywe uwalniania leku dla 3 różnych materiałów o różnym stopniu uwodnienia oraz dla 3 różnych grubości soczewek. Ustalono, jak grubość soczewki (moc optyczna) wpływa na proces absorpcji oraz uwalniania leku z soczewki.



---

**Borys Borsuk<sup>1</sup>, Dariusz Rakus<sup>1</sup>**

## **CZY KOMÓRKI W HODOWLI *IN VITRO* POTRZEBUJĄ ŚWIEŻEGO MEDIUM?**

W kulturach *in vitro* medium hodowlane stanowi zasadnicze środowisko bytowania komórek. Zawarte są w nim wszystkie substraty energetyczne, aminokwasy, witaminy oraz w znakomitej większości przypadków surowica będąca źródłem głównie szeregu czynników wzrostu. Oczywiście jest, iż podczas intensywnego wzrostu hodowli dochodzi do szybkiego zużycia wszystkich tych substancji. Tym samym do kanonu prowadzenia takich hodowli weszła konieczność regularnego wymieniaania pożywki na świeżą. Ma to na celu przede wszystkim dostarczenie komórkom nowej porcji substratów energetycznych, budulcowych, witamin i innych elementów niezbędnych do wzrostu. Ponadto istotne jest zapewnienie dostępu do szeregu czynników wzrostu zawartych w surowicy, która jest składnikiem większości podłoży hodowlanych. Z drugiej strony wymiana pożywki ma na celu również usunięcie zbędnych i szkodliwych produktów przemiany materii, przede wszystkim produktów przemian aminokwasów.

Ponadto obecnie wiadomo, że dla wielu typów komórek regularne wymiany medium są kluczowe dla przeżycia oraz rozwinięcia właściwej morfologii. Przykładem mogą być komórki progenitorowe szpiku kostnego, które do rozwinięcia właściwej kolonii wymagają poza obecnością odpowiednich komórek towarzyszących dostarczenia świeżej pożywki w odpowiednich odstępach czasu. Z drugiej strony komórki takie jak neurony źle reagują na zmiany medium ze względu na zaburzenie mikrośrodowiska jakie komórki wytwarzają wokół siebie. W tym specyficznym przypadku zachodzi konieczność wymiany tylko części pożywki w celu osiągnięcia kompromisu między dostarczeniem świeżego medium a zachowaniem mikrośrodowiska komórek.

Z drugiej strony w ostatnich latach zgromadzono szereg przesłanek na rzecz korzystnego wpływu na hodowlę medium kondycjonowanego, czyli takiego, w którym bytowały już komórki. W takim przypadku wykazano

---

<sup>1</sup> Zakład Fizjologii Molekularnej Zwierząt, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Wrocławski

między innymi, że kondycjonowane medium astrocytarne chroni neurony przed różnymi czynnikami stresowymi, na przykład hipoksją czy toksycznym wpływem glutaminianu. Wskazuje to na fakt, że medium kondycjonowane mimo, że jest uboższe o zużyte składniki i zanieczyszczone katabolitami, to zawiera ono związki działające ochronnie bądź stymulująco na inne komórki. Innym zagadnieniem jest wpływ medium kondycjonowanego na proliferację, które w zależności od układu może stymulować bądź hamować podziały komórek. W przedstawionym przypadku nacisk położony został na wpływ pożywek astrocytarnej i neuronalnej na wzrost hodowli astrocytarnej.



**Sylwia Szotek<sup>1</sup>, Joanna Dawidowicz<sup>2</sup>, Magdalena Tomanik<sup>1</sup>, Anna Nikodem<sup>1</sup>, Natalia Matysiak<sup>3</sup>, Krzysztof Maksymowicz<sup>4</sup>**

## **OBRAZOWANIE TKANEK MIĘKKICH Z ZASTOSOWANIEM MIKROTOMOGRAFII RENTGENOWSKIEJ ( $\mu$ CT) NA PRZYKŁADZIE POWIĘZI SZEROKIEJ UDA CZŁOWIEKA**

Wysokorozdzielcza tomografia komputerowa ( $\mu$ CT) jest nieinwazyjną metodą badawczą pozwalającą na obrazowanie różnorodnych obiektów przy wykorzystaniu promieniowania rentgenowskiego, uzyskując obrazy o wielkości pixela nawet poniżej 1  $\mu$ m.

Trójwymiarowe modele obiektów tworzone są w oparciu o obrazy rtg rejestrowane w zakresie kąta 0°-360°. Mikrotomografia komputerowa pozwala na badanie obiektów o bardzo zróżnicowanej budowie ze względu na inną przenikalność promieni X poszczególnych struktur. Technika ta, znajduje zastosowanie w obrazowaniu między innymi: tkanki kostnej, owadów, materiałów geologicznych czy mikroelektronicznych. Podkreśla się również przydatność tej metody w precyzyjnym, trójwymiarowym obrazowaniu tkanek miękkich (tj.: tkanka nerwowa, elementy przewodu pokarmowego, naczynia krwionośne, fragmenty układu więzadłowego) [1, 2].

Powięź szeroka uda będąca tkanką miękką, to przykład jednego z wielu elementów systemu powięziowego organizmu. Powięzi stanowią wielowarstwowy labirynt włókien i płaszczyzn tworzących trójwymiarowe układy, stanowiąc osnowę dla mięśni i wszystkich narządów wewnętrznych organizmu. W warunkach fizjologicznych, powięzi przenoszą znaczący odsetek obciążeń mechanicznych generowanych przez mięśnie [3]. Na poziomie histologicznym powięź szeroka to tkanka łączna, w której można wydzielić obszary wyraźnie zbitych regularnie ułożonych włókien kolagenowych. Wysoka zawartość kolagenu zapewnia jej wytrzymałość i sprężystość. Włókna te, jedynie w niewielkim stopniu ulegają przeplataniu i krzyżowaniu a raczej układają się regularnie warstwowo, najczęściej zgodnie z kierunkiem fizjologicznie działających sił [4].

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław

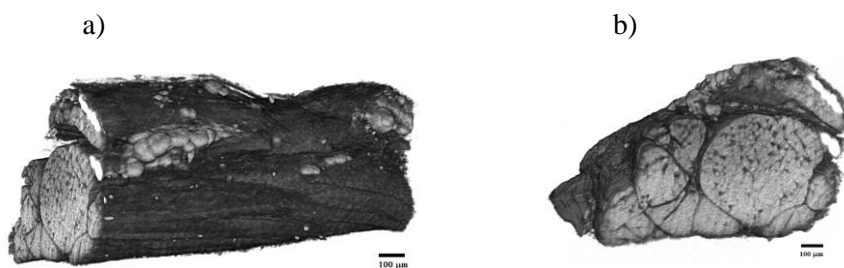
<sup>2</sup> Klinika Weterynaryjna Brynów, Katowice

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Histologii i Embriologii w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

<sup>4</sup> Katedra Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław

Materiał badawczy stanowiły próbki niezmięnionej patologicznie ludzkiej powięzi szerokiej uda pozyskane w trakcie badań sekcyjnych. Niezwłocznie po pobraniu, próbki inkubowano w temperaturze pokojowej przez 12 godzin w 0,1 M roztworze kakodylanu sodu (pH 7,2) po czym w 1% roztworze aldehydu glutarowego oraz w 1% roztworze czterotlenku osmu. Następnie próbki płukano w 0,1M buforze kakodylowym oraz kolejno, dwukrotnie (każdorazowo po 30 minut) w buforze fosforanowym PBS (pH 7,4). Tak przygotowany materiał odwodniono w szeregu alkoholowym, zatopiono w mieszaninie eponów oraz polimeryzowano w temperaturze 60oC przez 48 godzin [2].

W celu bezpośredniej oceny uzyskanych próbek, o wymiarach 12x5x5[mm], wykorzystano mikrotomograf SkyScan1172, Bruker®. Obrazy zostały zarejestrowane z rozdzielczością 0,7µm przy parametrach akwizycji 50kV,200µA oraz rotacji 0,2° w zakresie kąta 0°-180°. Na drodze renderingu otrzymano trójwymiarową reprezentację próbek tkanki miękkiej (Rys.1)



Rys.1. Trójwymiarowe modele próbek powięzi szerokiej uda uzyskane za pomocą mikrotomografu rtg SkyScan 1172, Bruker® w płaszczyznach: wzdłużnej (a) oraz poprzecznej (b)

Zarejestrowane obrazy umożliwiły uwidocznienie warstwowego układu włókien kolagenowych powięzi szerokiej uda. W obrębie poszczególnych warstw, pęczki włókien kolagenowych miały układ równoległy względem siebie, podczas gdy w warstwach sąsiadujących przebiegały pod innym kątem (Rys.1b).

Zaletami zastosowanej metody była łatwość przygotowania materiału badawczego, przestrzenne, wierne odwzorowanie struktury próbki oraz możliwość jej badania bez konieczności cięcia, co jest kluczowe dla rzeczywistej oceny morfologii badanej tkanki miękkiej.

#### LITERATURA

- [1] A. Nikodem, Correlations between structural and mechanical properties of human trabecular femur bone. Acta of Bioengineering and Biomechanics, 14(2), 2012.
- [2] R. Mizutani, Y. Suzuki, X-ray microtomography in biology. Micron, 43, 2012.
- [3] T.W. Findley, Second International Fascia Research Congress. International Journal of Therapeutic Massage & Bodywork: Research, Education & Practice, 2(2), 2009.
- [4] S. Szotek, J. Czogała, K. Ścigała, K. Marycz, K. Maksymowicz, The biomechanical and ultrastructural properties of human fascia lata. Journal of Biomechanics, 45Supp. 1, 2012.

Praca finansowana z grantu MNiSW: N N518 286540



**Wojciech Derkowski<sup>1</sup>, Alicja Kędzia<sup>2</sup>**

## **NEUROMODULACJA POPRZEZ KOMPUTEROWO REGULOWANY WLEW BAKLOFENU DO KANAŁU KRĘGOWEGO, ASPEKTY NEUROANATOMICZNE.**

Neuromodulacja to nowa metoda leczenia stosowana od niedawna w neurologii i neurochirurgii do leczenia chorób układu nerwowego poprzez modyfikację jego czynności. Obejmuje m.in.: SCS (Spinal Cord Stimulation) czyli elektryczną stymulację rdzenia kręgowego [1,2] czy DBS (Deep Brain Stimulation) czyli głęboką stymulację mózgu [2,3,4,5]. W układzie nerwowym oprócz elementów elektrycznych znajdują się liczne elementy biochemiczne (synapsy, neuroprzekaźniki, receptory dla neuromediatorów), które mogą stanowić punkt uchwytu dla leków dostarczanych z zewnątrz. Elementy biochemiczne można także wykorzystać w celu wpływania na działanie układu nerwowego. Wymaga to rozwinięcia technologii, pozwalającej na ciągłe dostarczanie danej substancji w określony punkt układu nerwowego czasem przez wiele lat. Niezbędna jest także precyzyjna regulacja ilości dostarczanej substancji i możliwość zdalnego programowania urządzenia dostarczającego lek. Aby taka metoda leczenia została powszechnie zaakceptowana przez chorych i personel leczący musi być dostatecznie mało kłopotliwa dla pacjenta, regulacja urządzenia powinna być możliwa bez naruszania ciągłości jego powłok ciała tak, by umożliwić choremu maksymalny komfort codziennego funkcjonowania. Należy też rozwiązać problemy ekonomiczne tak, aby stosowane procedury były do udźwignięcia przez płatnika- system ubezpieczenia zdrowotnego.

Dokanałowe leczenie baklofenem (ITB- Intrathecal Baclofen Therapy) jest metodą neuromodulacji poprzez celowane dostarczanie leku. Udało się w tym przypadku spełnić wymagane warunki i wejść do praktyki klinicznej, co stało się możliwe między innymi dzięki globalizacji i likwidacji barier w ostatnich latach, a w konsekwencji współpracy wielu ośrodków na całym świecie i otwarciu wielu rynków

<sup>1</sup> Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu

<sup>2</sup> Akademia Medyczna we Wrocławiu

usług zdrowotnych na produkty tej współpracy. Dokanałowe leczenie baklofenem jest skuteczną metodą leczenia spastyczności kończyn. Umożliwia znaczną redukcję przyjętej dawki leku i osiągnięcie bardziej równomiernego stężenia w punkcie docelowym, czyli w rdzeniu kręgowym. Ze względu na konieczność regulowania przepływu leku niezbędne jest umożliwienie zdalnego programowania pompy dostarczającej baklofen za pomocą urządzenia mikrokomputerowego, co udało się osiągnąć z powodzeniem w obecnie stosowanym systemie [6,7,8]. Spastyczność czyli wzmożone napięcie mięśni typu piramidowego powstaje w schorzeniach połączonych z uszkodzeniem drogi piramidowej (korowo-rdzeniowej); najczęściej może ona być spowodowana urazem rdzenia kręgowego, udarem mózgu, stwardnieniem rozsianym lub urazem głowy, co w sumie dotyka obecnie w Europie około 0,18% populacji. Neuroanatomicznym podłożem spastyczności, czyli wzmożonego napięcia mięśniowego typu piramidowego jest uszkodzenie górnego neuronu drogi piramidowej i w konsekwencji uwolnienie spod jego kontroli odruchowej czynności rdzenia kręgowego. Celem pracy jest przedstawienie nowoczesnego leczenia spastyczności kończyn za pomocą dokanałowego ciągłego, komputerowo regulowanego wlewu roztworu baklofenu oraz neuroanatomicznych aspektów tej metody.

Perspektywy neuromodulacji są obiecujące, o czym świadczy stały wzrost liczby chorych na całym świecie leczonych tymi nowoczesnymi metodami. Analiza danych epidemiologicznych prowadzi jednak do wniosku, że potrzeby w tym zakresie są jeszcze większe.

#### LITERATURA

- [1] Hegarty D. Spinal Cord Stimulation: The Clinical Application of New Technology. *Anesthesiology Research and Practice* Volume 2012 (2012), Article ID 375691.
- [2] Derkowski W, Kędzia A, Stymulatory mózgu i rdzenia kręgowego z uwzględnieniem aspektów neuroanatomicznych. *Komputerowe wspomaganie badań naukowych*. Tom XIX Wrocław 2012.
- [3] Rizzonea M, Lanotteb M et al. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Parkinson's disease: effects of variation in stimulation parameters. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;71:215-219.
- [4] Groiss SJ, Wojtecki L, et al. Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease. *Ther Adv Neurol Disord*. 2009 November; 2(6): 20–28.
- [5] Derkowski W, Kędzia A, Wpływ stymulatora jądra niskowzgórzowego (DBS) na czynność EEG i komputerowo uśredniane wzrokowe potencjały wywołane w chorobie Parkinsona . *Komputerowe wspomaganie badań naukowych*. Tom XVI Wrocław 2009.
- [6] Derkowski W, Kędzia A, Nowoczesne leczenie spastyczności kończyn poprzez komputerowo regulowany wlew baklofenu do kanału kręgowego. *Komputerowe wspomaganie badań naukowych*. Tom XX Wrocław 2014, str. 13-20.
- [7] Medtronic. SynchroMed II. Programmable Infusion System Clinical reference Guide. Medtronic 2007.
- [8] Medtronic. Programator kliniczny N'VISION z oprogramowaniem. Instrukcja obsługi programatora oprogramo oprogramowaniem w wersji A



**Anna Donesz-Sikorska<sup>1</sup>, Justyna Krzak<sup>1</sup>, Krzysztof Marycz<sup>2</sup>, Jerzy Kaleta<sup>1</sup>**

## **AKTYWACJA POWIERZCHNI IMPLANTACYJNYCH MATERIAŁÓW METALICZNYCH ORGANICZNO- NIEORGANICZNYMI POWŁOKAMI FUNKCJONALNYMI OTRZYMYWANymi METODĄ ZOL-ŻEL**

Największą popularnością wśród materiałów implantacyjnych cieszą się austenityczne stale odporne na korozję, które najwcześniej zostały przystosowane do implantowania w organizmie ludzkim.

Stal austenityczna 316L zaliczana jest do stali Cr-Ni-Mo, które są najczęściej stosowanymi biomateriałami metalicznymi. Ograniczenie stosowania tych stali w medycynie wynika z: niewystarczającej odporności na korozję w obecności płynów fizjologicznych, małej odporności na zużycie cierne oraz bioelektrycznego i biomechanicznego niedopasowania [1].

Jedną z obiecujących metod umożliwiających poprawę właściwości fizykochemicznych a tym samym powierzchniowych, oraz biologicznych podłoży implantacyjnych jest funkcjonalizacja powierzchni poprzez zastosowanie powłok tlenkowych otrzymywanych metodą zol-żel. Metoda ta polega na przygotowaniu roztworu koloidalnego prekursora i przeprowadzeniu go w żel w wyniku reakcji hydrolizy i polikondensacji powstałych produktów. Dzięki zastosowaniu metody zol-żel możliwe jest otrzymanie materiałów

o wysokiej czystości i jednorodności, składzie kontrolowanym na poziomie molekularnym, przy czym proces otrzymywania materiału stałego przebiega w temperaturze pokojowej [2].

Celem niniejszej pracy jest prezentacja wybranych powłok funkcjonalizowanych, otrzymanych metodą zol-żel, o potencjale aktywującym powierzchnię do interakcji biologicznej. Jako podłoża zastosowano stal 316L, na które naniesiono powłoki krzemionkowe

---

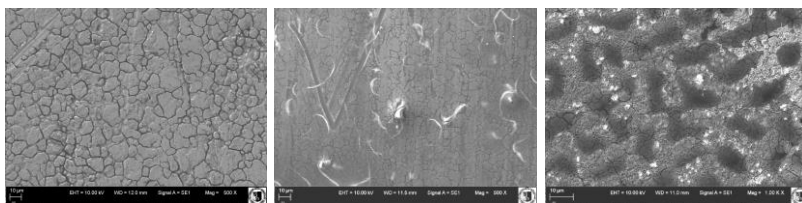
<sup>1</sup> Instytutowa Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wroclawska

<sup>2</sup> Pracownia Mikroskopii Elektronowej Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

domieszkowane (na etapie syntezy) lub funkcjonalizowane związkami farmakologicznie czynnymi (m.in. witaminą C, betametazonem) (Rys.1).

Otrzymane powłoki zostały poddane analizie SEM-EDX w celu określenia morfologii oraz składu chemicznego, a parametry topograficzne powłok wyznaczono za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM). Za pomocą spektroskopii Ramana wykazano obecność charakterystycznych ugrupowań chemicznych dla powłok krzemionkowych oraz obecność drgań charakterystycznych pochodzących od aktywnych substancji. Hydrofilowość oraz typ oddziaływań powierzchniowych ustalono na podstawie pomiaru kąta zwilżania oraz swobodnej energii powierzchniowej. Ocenę bioaktywności otrzymanych materiałów przeprowadzono w testach *in vitro* z wykorzystaniem mezynchmalnych komórek macierzystych pochodzenia tłuszczowego (AdMSCs).

Otrzymane wyniki wskazują na możliwość włączenia do sieci tlenkowej związków aktywnych, przy czym aktywacja możliwa jest na różnym etapie syntezy. Ponadto otrzymane powłoki wykazują potencjał aktywacyjny komercyjnie stosowanego podłoża ze stali 316L, przejawiający się stymulującym wpływem na komórki macierzyste.



Rys. 1. Mikrofotografie SEM powłok SiO<sub>2</sub>: domieszkowanej kwasem L-askorbinowym (B) oraz funkcjonalizowanej betametazonem (C) na podłożu stali 316L (A).

#### LITERATURA

- [1] Disegi JA, Eschbach L. Stainless steel in bone surgery. *Injury, Int. J. Care Injured* 31 (2000) S-D2-6,
- [2] Treccani L. et al. Functionalized ceramics for biomedical, biotechnological and environmental applications, *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 7115–7150.



**Małgorzata Dorot<sup>1</sup>, Danuta Witkowska<sup>1</sup>, Anna Jarzab<sup>1</sup>, Andrzej Gamian<sup>1</sup>**

## **OTRZYMYWANIE I CHARAKTERYSTYKA PRZECIWCIAŁ MONOKLONALNYCH ROZPOZNAJĄCYCH ANTYPEN PEPTYDOWY**

**Wstęp:** Przeciwciała, zwane również immunoglobulinami to jedne z najważniejszych cząsteczek układu odpornościowego należące do grupy białek globularnych. Produkowane są przez wyspecjalizowane limfocyty B w odpowiedzi na immunizację swoistymi antygenami. Związanie przeciwciała z antygenem, stanowi jeden z najważniejszych etapów odpowiedzi układu odpornościowego. Immunoglobuliny zbudowane są z czterech łańcuchów polipeptydowych: dwóch ciężkich oraz dwóch lekkich, połączonych mostkami dwusiarczkowymi oraz wiązaniami niekowalencyjnymi. Wyróżnia się pięć klas przeciwciał: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. O przynależności oraz funkcji przeciwciała do danej klasy decydują różnice w budowie łańcuchów ciężkich. Przeciwciała klasy IgG mają duże znaczenie w odpowiedzi odpornościowej, przede wszystkim ze względu na wysokie powinowactwo względem antygeny oraz ze względu na ich trwałość w ustroju. Antygeny posiadają złożoną strukturę, większość z nich ma wiele różnych epitopów, rozpoznawalnych przez przeciwciała produkowane przez limfocyty B. Przeciwciała, produkowane w odpowiedzi przeciwko różnym epitopom danego antygeny, są nazywane przeciwciałami poliklonalnymi. Przeciwciała monoklonalne to cząsteczki produkowane przez klony pojedynczej komórki wytwarzającej przeciwciała, rozpoznające tylko jeden konkretny epitop. Przeciwciała monoklonalne stały się doskonałym narzędziem w medycynie i znalazły zastosowanie zarówno w diagnostyce laboratoryjnej jak i terapii chorób infekcyjnych, nowotworowych i autoimmunologicznych. Otrzymywanie przeciwciał monoklonalnych opiera się na immunizacji zwierząt określonym antygenem. W kilkanaście dni po immunizacji myszy ze śledziona izoluje się limfocyty, które

<sup>1</sup> Laboratorium Mikrobiologii Lekarskiej, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, R. Weigla 12, 53-114 Wrocław

następnie hybrydyzowane są z komórkami szpiczaka. W kolejnym etapie selekcjonuje się jedynie hybrydy wytwarzające pożądane przeciwciała.

**Cel:** Otrzymanie przeciwciał monoklonalnych rozpoznających antygen peptydowy.

**Materiały i metody:** Mysz szczepu BALB/c immunizowano dootrzewnowo podając 10 µg koniugatu peptydu GLNRYDERYIGC z białkiem nośnikowym (toksoidem tężcowym) z 40 µl adiuwantu MPL zmieszany z PBS w stosunku 1:5. Komórki plazmocytoza SP 2/0 do fuzji pobrano z hodowli będącej w logarytmicznej fazie wzrostu bakterii. Po fuzji komórki hybrydoma hodowano w podłożu RPMI 1640 i obserwowano wzrost klonów pod mikroskopem odwróconym. W celu sprawdzenia aktywności oraz swoistości komórek hybrydoma, wykonywano standardowy test ELISA oraz test ELISA z wykorzystaniem sekwencji peptydowych na pinach polietylenowych. Produkcję przeciwciał z rosnących hybrydoma przeprowadzono *in vitro*, na płytkach 96-dółkowych z warstewką odżywczą, którą stanowiły otrzewnowe makrofagi mysie oraz *in vivo* w postaci wysięków powstających u myszy. Wykonanie testu immunoizotypowania immunoglobulin pozwoliło na określenie klasy otrzymanych przeciwciał.

**Wyniki:** Otrzymano specyficzne przeciwciała klasy IgG skierowane na antygen peptydowy RYDERY.

**Wnioski:** Dzięki zdolności przeciwciał do wiązania się z określonym antygenem obecnym na powierzchni pewnych komórek organizmu lub bakterii, otrzymywanie przeciwciał niesie ze sobą wiele nowych możliwości ich zastosowania w medycynie i diagnostyce. Powstanie kompleksu antygen-przeciwciała powoduje wystąpienie różnych efektów biologicznych, prowadzących do neutralizacji czynnika chorobotwórczego. Wraz z rozwojem technik biotechnologii, biologii molekularnej oraz inżynierii genetycznej stale rosną możliwości zastosowania otrzymywanych przeciwciał monoklonalnych.



**Dominik Drabik<sup>1</sup>, Magdalena Przybyło<sup>1</sup>, Marek Langner<sup>1</sup>**

## **OCENA FOTOSTABILNOŚCI SONDEJ FLUORESCENCYJNYCH W BADANIACH DYFUZJI LIPOSOMÓW Z WYKORZYSTANIEM FLUORESCENCYJNEJ SPEKTROSKOPII KORELACYJNEJ**

Fluorescencyjna Spektroskopia Korelacyjna (FCS) to technika pozwalająca na pomiar współczynników dyfuzji i stężenia oznaczonych fluorescencyjnie molekuł i cząstek. W przeciwieństwie do innych technik, podstawowym parametrem mierzonym jest spontaniczna fluktuacja intensywności emitowanego światła zamiast jego uśrednionej intensywności, będące efektem ruchów termicznych. Czas trwania sygnału fluorescencyjnego zależy od dwóch czynników: czasu ekspozycji na działanie wiązki wzbudzającej i fotofizycznych właściwości fluoroforu. W szczególności „photo-bleaching” fluoroforu, czyli fotochemiczne zniszczenie sondy wywołane ciągłym wystawieniem na działanie światła, wpłynie na czas fluorescencyjnej emisji.

W naszej pracy określamy fotostabilność sond kowalencyjnie przyłączonych do powierzchni liposomu w czasie pomiarów dyfuzji oraz ich stosowalność do badań z wykorzystaniem techniki FCS. Fluorescencyjnie oznaczone liposomy DOPC, ekstrudowane przez filtry poliwęglanowe o średnicy por 50 i 100 nm, zostały najpierw przeanalizowane wykorzystując technikę Dynamicznego Rozpraszania Światła (DLS) w celu uzyskania dokładnych wartości współczynników dyfuzji, średnic średnic liposomów i ich indeks polidispersyjności, w stałej temperaturze. Następnie te same próbki zostały zbadane wykorzystując technikę FCS. W celu zbadania fotostabilności sond powszechnie stosowanych do oznaczania powierzchni liposomów, konieczne jest określenie objętości ogniskowej mikroskopu. Zazwyczaj objętość ogniskowa jest wyznaczana z odrębnych badań sondy o znanym współczynniku dyfuzji w wodzie. Ostatnie badania przedstawione w czasopiśmie podkreślają rozbieżności w wartościach współczynników

---

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska, Wrocław

dla sond. To może doprowadzić do poważnych błędów systemowych w pomiarach FCS. W naszych badaniach efektywna objętość ogniskowa została wyznaczona z pomiarów na FCS z założeniem współczynnika dyfuzji otrzymanego z niezależnych pomiarów techniką DLS. Efektywna objętość ogniskowa jest parametrem technicznym właściwym dla mikroskopu. Jego wartość zależy wyłącznie od technicznych parameterów mikroskopu - jakiegokolwiek odchylenie od jej z góry ustalonej wartości może zostać wykorzystane do oceny fotostabilności sond. Analiza danych została przeprowadzona wykorzystując dwa różne modele krzywych autokorelacyjnych - standardowego trójwymiarowego ruchu Browna cząstek o jednolitych rozmiarach oraz modelu z rozkładem rozmiarów odpowiadającym rozkładowi normalnemu rozwiniętej specjalnie dla populacji liposomów. Dokładne badania zostały przeprowadzone dla liposomów oznaczonych czterema różnymi sondami: Atto632-PE,  $\beta$ -Bodipy-PE, Fluoresceina-PE oraz NBD-PE.



**Dominika Drulis-Fajdasz<sup>1</sup>, Marcin Wawrzyniak<sup>2</sup>, Jakub Włodarczyk<sup>2</sup>, Jerzy W. Mozrzymas<sup>1,3</sup>, Dariusz Rakus<sup>1</sup>**

## **ZASTOSOWANIE TECHNIK ELEKTROFIZJOLOGICZNYCH I MIKROSKOPOWYCH W ANALIZIE ZMIAN PLASTYCZNOŚCI SYNAPTYCZNEJ**

Miniaturyzacja urządzeń pomiarowych, z jednoczesnym zwiększeniem ich czułości oraz stosowanie technik wysokorozdzielczych, umożliwiają coraz dokładniejsze badanie natury procesów biologicznych. Do technik najszybciej rozwijających się w ostatniej dekadzie możemy zaliczyć, obok analizy genu, pomiary elektrofizjologiczne, które w połączeniu z wysokorozdzielczą mikroskopią, dają możliwość dokładniejszego poznania zagadnień związanych z pamięcią i uczeniem się. W naszych badaniach zastosowanie w.w. technik, pozwoliło na zaobserwowanie interesujących zjawisk zmian plastyczności synaptycznej u młodych i starych szczurów. Doniesienia literaturowe wskazują na bardzo ścisłą współpracę pomiędzy komórkami glejowymi (astrocytami) a neuronami. Współdziałanie to szczególnie jest istotne w procesach związanych z tworzeniem śladów pamięciowych i uczeniem się. Zjawiska te analizuje się poprzez stymulację elektrofizjologiczną, która prowadzi do tzw. krótko- lub długo-trwałego wzmocnienia synaptycznego (*STP/LTP – short/long term potentiation*).

Pomiary elektrofizjologiczne potencjałów polowych prowadzono na świeżo wyizolowanych skrawkach hipokampalnych szczura, w dwóch grupach wiekowych: dla tzw. młodych szczurów (p30) oraz dla tzw. starych szczurów (p550-700). W czasie pomiarów zastosowano inhibitor fosforylasy glikogenu (BAY), który pośrednio hamuje tzw. astrocytarno-neuronalne czółenko mleczanowe. W ten sposób modulowano poziom wymiany metabolitów pomiędzy komórkami i ograniczono zabezpieczenie energetyczne neuronów podczas indukcji LTP. Jak się okazało, zaburzenie tego procesu nie wpływa na plastyczność

<sup>1</sup> Uniwersytet Wrocławski, pl. Uniwersytecki 1, 50-137 Wrocław

<sup>2</sup> Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marceliego Nenckiego PAN, ul. L. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny, ul L. Pasteura 1, 50-367 Wrocław

krótkotrwałą, czy odpowiedź bazową komórek nerwowych, jednakże jest kluczowe dla długotrwałej plastyczności synaptycznej u młodych szczurów (LTP nie było obserwowane). Zaskakująco ten sam inhibitor, w przypadku szczurów starych, pozytywnie wpływał na zachowanie komórek stymulowanych wysokoczęstotliwościowo. Obserwowano nawet wyższy poziom LTP w obecności BAY niż w preparatach kontrolnych szczurów w tym samym wieku. Analiza sygnałów polowych, uzyskanych podczas stymulacji wysokoczęstotliwościowej, pozwoliła na wnioskowanie, iż inhibitor BAY negatywnie wpływa na komponentę post-synaptyczną zjawiska LTP u młodych szczurów, podczas gdy efektu tego nie ma w przypadku szczurów starych. Aby potwierdzić różnice pomiędzy grupami zwierząt na poziomie komórkowym, przeprowadzono analizę morfologii kolców dendrytycznych i zmian w ich budowie, jakie są indukowane podczas LTP. Badanie przeprowadzono metodą biolistyczną, gdzie skrawki hipokampalne bombardowano kulkami wolframowymi, opłaszczonymi lipofilnym, błonowym barwnikiem fluorescencyjnym DiI przy użyciu Helios GeneGun. Po utrwaleniu skrawków wykonywano zdjęcia drugorzędowych dendrytów na powierzchni neuronów apikalnych pola CA1 formacji hipokampa. Zdjęcia z mikroskopu konfokalnego (SP5) dekonwoluwano w programie Huygens Professional. Kolce dendrytyczne mierzone i analizowane były w programach MacBiophotonic ImageJ i Spine Magic. Uwzględniano: długość kolców, szerokość główki, pole powierzchni całego kolca, stosunek pola powierzchni do długości, długości do szerokości oraz gęstość kolców na dendrycie.

Uzyskane dane potwierdziły, iż zmiany morfologiczne dotyczące dojrzewania kolców dendrytycznych podczas LTP są ograniczone w obecności BAY w grupie młodych szczurów. Co pośrednio może wskazywać na upośledzenie tworzenia trwałych wydajniejszych połączeń synaptycznych. Potwierdzono również zaskakujący pozytywny wpływ BAY na plastyczność długotrwałą u szczurów starych. Obserwowano wzmożenie zmian morfologicznych kolców dendrytycznych, które prowadzą do ich dojrzewania, co może wskazywać na promowanie wydajniejszych procesów odpowiedzi synaptycznej w indukowanym elektrofizjologicznie LTP.

Niniejsze badania są dobrym przykładem, gdzie analizy funkcjonalne są z powodzeniem korelowane z analizami anatomicznymi. Zastosowanie metod wysokorozdzielczych umożliwiło poznanie różnic w fizjologii i morfologii tkanek nerwowych, należących do zmian związanych w procesem starzenia się.



Dudek Krzysztof<sup>1</sup>, Wojciech Kędzia<sup>2</sup>, Emilia Kędzia<sup>3</sup>, Alicja Kędzia<sup>4</sup>

## KONSTRUKCJA MODELU MATEMATYCZNEGO WZROSTU STRUKTUR ANATOMICZNYCH PŁODU LUDZKIEGO

**Wstęp:** Analiza literatury wykazała, że do oceny tempa wzrostu płodów konieczne jest stworzenie najlepszych modeli matematycznych. Jest to zagadnienie słabo opracowane w literaturze.

Celem pracy jest przedstawienie sposobu postępowania prowadzącego do matematycznej analizy zjawiska wzrastania wymiarów struktur anatomicznych człowieka, zakończony estymacją parametrów modelu matematycznego i oceną jego adekwatności.

Generalnie model obiektu fizycznego jest tworzony z wielkości fizycznych opisujących elementarne właściwości obiektu, a więc wielkości trzech rodzajów:

- wielkości wejściowych  $x_1, x_2, \dots, x_j$  (wymuszeń) traktowanych jako przyczyny (np. wiek płodu –  $t$ );
- wielkości wyjściowych  $y_1, y_2, \dots, y_k$  (odpowiedzi) traktowanych jako skutki (wymiary geometryczne struktur anatomicznych płodu –  $W$ );
- wielkości wpływających  $w_1, w_2, \dots, w_l$  opisujących wpływ otoczenia na obiekt modelowany (np. płeć płodu, wysokość i masa ciała matki, rasa).

Wielkości wejściowe i wyjściowe są powiązane równaniem modelu:

$F(x, y, b) = 0$ , gdzie:  $x = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_j]^T$  – wektor wymuszeń (w analizowanym przypadku wektor jednoelementowy  $x_1 = t$  (czas życia płodu, np. w tygodniach);

$y = [y_1 \ y_2 \ \dots \ y_k]^T$  – wektor odpowiedzi (wymiary liniowe wielkości geometrycznych struktur anatomicznych  $W_k$ );  $b = [b_1 \ b_2 \ \dots \ b_m]^T$  – wektor parametrów modelu;  $F = [F_1 \ F_2 \ \dots \ F_k]^T$  – wektor operatorów;  $0 = [0 \ 0 \ \dots \ 0]^T$  – wektor utworzony z  $k$  zer;  $T$  – symbol operacji transponowania macierzy.

Wybór funkcji matematycznej musi odzwierciedlać rzeczywisty przebieg krzywej wzrastania wymiaru  $W$  w kolejnych tygodniach ciąży  $t$ . Do opisu zależności  $W - t$  stosuje się wiele funkcji, jednak najczęściej brane są pod uwagę następujące:

1. Liniowa:  $W = b_0 + b_1 * t$  (model ten zakłada stałe tempo wzrostu wymiaru w całym okresie ciąży);
2. Odcinkowo-liniowa: w modelu tym zależność wymiaru od czasu opisywana jest za pomocą co najmniej dwóch odcinków, o różnym pochyleniu;

<sup>1</sup> Karkonoska Państwowa Szkoła Wyższa w Jeleniej Górze, Wydział Przyrodniczo-Techniczny

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>3</sup> II katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>4</sup> Katedra i Zakład Anatomii Prawidłowej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

3. Wielomianowa: charakterystykę  $W - t$  opisuje się funkcją w postaci wielomianu:  $W = b_0 + b_1*t + b_2*t^2 + \dots + b_n*t^n$ ;
4. Sklejana: model składa się z segmentów, w których krzywe trzeciego stopnia dopasowuje się metodą najmniejszych kwadratów do wyników badań.
5. Logarytmiczna:  $W = b_0 + b_1*\ln(t)$ .
6. Potęgowa: zależność  $W - t$  opisywana jest za pomocą funkcji dwuparametrowej  $W = b_0*t^{b_1}$ .
7. Wykładnicza: funkcja ta określona jest wzorem:  $W = b_0*\exp(b_1*t)$ .
8. Potęgowo-wykładniczej: funkcja ta jest określona wzorem:  $W = b_0*t^{b_1}*\exp(b_2*t)$ .
9. Logistyczna: funkcja określona wzorem  $W = b_0/(1+b_1*\exp(-b_2*t))$ .
10. Model Gompertza: funkcja  $W = b_0*\exp(-b_1*\exp(-b_2*t))$ .
11. Model von Bertalanffy'ego:  $W = b_0*\exp(1-b_1*\exp(-b_2*t))^3$ .

Powyższe funkcje można poddawać dalszej modyfikacji dołączając kolejne człony. Podczas konstruowania modelu matematycznego bardzo pomocna jest graficzna reprezentacja modelu. Pierwszym krokiem powinno być wykonanie diagramu korelacyjnego. Na podstawie wykresu rozrzutu wyników pomiarów  $W - t$  przyjmuje się postać równania, a następnie dobiera wartości parametrów ( $b_0, b_1, b_2, \dots$ ). Wykres taki pozwala również na eliminację wyników wątpliwych, odstających od „chmury” punktów reprezentujących poszczególne płody.

Model matematyczny powinien umożliwiać porównanie wyników badań różnych autorów dotyczące płodów z różnych przedziałów czasowych. Z uwagi na modelowany obiekt (płód ludzki), przy doborze funkcji matematycznej należy uwzględnić następujące czynniki:

- Użyta metoda pomiaru struktury anatomicznej (pomiar USG płodów żywych, pomiar bezpośredni materiału sekcyjnego), rodzaj tkanki (kość, mięsień) oraz rozmiar wpływają istotnie na błędy pomiarowe.
- Model powinien dobrze opisywać wymiary analizowanych struktur anatomicznych w całym badanym okresie, tzn. od 1. do 36. tygodnia życia płodowego (a nawet do 48.). Wszystkie wymiary dla  $t = 1$  powinny być bliskie zeru.
- Model liniowy jest najprostszy i najmniej dokładny. Jednak w przypadku słabej korelacji wymiaru z wiekiem ( $r < 0,25$ ) jego wybór jest uzasadniony. Niezbędne jest jednak sprecyzowanie, dla jakiego okresu życia prenatalnego został skonstruowany. Ekstrapolacja poza badany okres jest niezwykle ryzykowna.
- W przypadku korelacji silniejszych ( $r > 0,25$ ), gdy wykres rozrzutu wskazuje na nieliniowy charakter wzrostu, należy brać pod uwagę funkcje rosnące monotonicznie. Użycie wielomianów uniemożliwia ekstrapolację modelu poza badany okres życia płodów (w skrajnych przypadkach wymiary mogą się zmniejszać).
- Żadna z proponowanych wyżej funkcji wzrostu nie jest uniwersalnym prawem wzrostu. Kształt krzywej wzrostu reprezentuje pewną idealizację tego przebiegu, odnoszącą się do średniego osobnika badanej populacji.
- Badania własne wskazują, że uzyskane w badaniach zależności  $W - t$  udaje się opisać w sposób wystarczająco dokładny za pomocą jednej funkcji matematycznej. Najlepszymi modelami okazywały się modele sigmoidalne (logistyczne, Gompertza i von Bertalanffy'ego).
- Matematyczna analiza zjawiska wzrastania wymiarów struktur anatomicznych człowieka powinna być zakończona estymacją parametrów modelu (b). Estymację tych parametrów dokonuje się minimalizując następującą funkcję celu:  $\sum (l_{i,pom} - l_{i,obl})^2$ ,  
gdzie:  $i$  – numer płodu;  $l_{i,pom}$  – wynik pomiaru;  $l_{i,obl}$  – wynik obliczeń w oparciu o model matematyczny. Obliczenia można wykonać metodą najmniejszych kwadratów lub Marquardta. Autorzy korzystają z pakietu komputerowego STATISTICA.
- Jako kryterium „dobroci” modelu (oceny zgodności wyników pomiarów z obliczeniami) przyjęto współczynnik determinacji  $R^2$ . O ostatecznym wyborze postaci modelu dla struktury anatomicznej płodu decyduje największa wartość  $R^2$ .



**Daria Głogocka<sup>1</sup>, Marek Langner<sup>1</sup>**

## **PERSPEKTYWY ZMNIEJSZENIA TOKSYCZNOŚCI METALOWYCH IMPLANTÓW**

Implanty stosowane w alloplastyce stawu biodrowego czy kolanowego składają się głównie ze stopów metali ciężkich, które charakteryzują się dobrymi właściwościami mechanicznymi. Wskutek fizykochemicznych procesów powierzchniowych, zużycia mechanicznego oraz działania układu immunologicznego dochodzi do uwalniania cząsteczek metali z powierzchni implantu. Stają się one źródłem lokalnej i systemowej toksyczności dla organizmu człowieka [1].

Obecność metali w tkankach otaczających implant może prowadzić do jego obluzowania i konieczności rewizji, co w przypadku osób starszych jest zazwyczaj niemożliwe i skazuje pacjenta na kalectwo. W związku z powyższymi, konieczne staje się zmniejszenie toksyczności metalowych implantów tak, aby wydłużyć czas funkcjonalności metalowego elementu w organizmie człowieka.

Jednym z etapów zabiegu alloplastyki jest odpowiednie osadzenie implantu w trzonie kości długiej. W tym celu wykorzystuje się cement kostny, który wypełnia przestrzeń pomiędzy implantem a tkanką kostną. Cement kostny, ze względu na bezpośrednie sąsiedztwo z implantem i kością, jest krytycznym elementem w przebiegu dyfuzji jonów pierwiastków pochodzących z metalowego implantu do tkanek go otaczających.

W pracy przedstawiono potencjalne rozwiązanie problemu dyfuzji jonów metali z powierzchni implantu do tkanek, wykorzystujące modyfikację składu cementów kostnych.

---

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska, Wrocław

## LITERATURA

[1] J.R. Campbell, M.P. Estey, Metal release from hip prostheses: cobalt and chromium toxicity and the role of the clinical laboratory, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2013, 51(1), 213-220.



**Jędrzej Grzegorzówka<sup>1</sup>, Martyna Biała<sup>1</sup>, Patrycja Wojtyra<sup>1</sup>,  
Christopher Kobierzycki<sup>1</sup>, Bartosz Puła<sup>1,2</sup>, Mateusz Olbromski<sup>1</sup>,  
Aleksandra Piotrowska<sup>1,2</sup>, Janusz Ryś<sup>3</sup>, Marzena Podhorska-  
Okolów<sup>1,2</sup>, Piotr Dziegiel<sup>1,2,4</sup>**

### **IMMUNOHISTOCHEMICZNA ANALIZA EKSPRESJI BIAŁEK HSP27 I SNAIL W MASTOPATIACH ORAZ RAKACH GRUCZOŁU PIERSIOWEGO**

Ekspresja białka szoku termicznego 27 (Hsp27) wzrasta w komórkach narażonych na warunki stresowe. Wykazano, że Hsp27 reguluje ekspresję receptorów hormonów steroidowych oraz homeostazę macierzy zewnątrzkomórkowej. Ponadto jego nadekspresja występuje m.in. w komórkach nowotworowych raków gruczołu piersiowego oraz prostaty i wzrasta wraz ze stopniem złośliwości ww. guzów. Z kolei przejście epithelialno-mezenchymalne (EMT, ang. Epithelial-mesenchymal transition) jest procesem, podczas którego komórki nowotworowe m.in. tracą ekspresję E-kadheryny a zaczynają ekspresjonować białka charakterystyczne dla fenotypu mezenchymalnego (np. N-kadheryna, wimentyna). Ponadto zjawisko EMT zachodzi przy udziale czynnika transkrypcyjnego SNAIL.

Celem pracy było określenie stopnia nasilenia ekspresji Hsp27 oraz SNAIL,

zbadanie ich wzajemnej korelacji oraz związku z danymi kliniczno-patologicznymi w mastopatiach, rakach przewodowych gruczołu piersiowego (IDC) oraz rakach zrazikowych gruczołu piersiowego (ILC).

Do badań użyto 19 mastopatii, 148 przypadków IDC oraz 31 przypadków ILC. Z wykorzystaniem aparatu Dako Autostainer Link 48 przeprowadzono reakcje immunohistochemiczne (IHC).

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu.

<sup>2</sup> Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu

<sup>3</sup> Zakład Patomorfologii Centrum Onkologii Instytutu im. Marii Curie Skłodowskiej w Krakowie

<sup>4</sup> Katedra Fizjoterapii i Terapii Zajęciowej w Medycynie Zachowawczej i Zabiegowej, Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Cytoplazmatyczną ekspresję Hsp27 oceniano za pomocą skali IRS wg Remmele i Stegnera, natomiast jądrową ekspresję SNAIL za pomocą półilościowej, skali uwzględniającej odsetek komórek wykazujących pozytywną reakcję barwną.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała wyższą ekspresję Hsp27 w komórkach IDC oraz ILC w porównaniu do mastopatii (odpowiednio:  $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ). W IDC wykazano słabą dodatnią korelację pomiędzy ekspresją Hsp27 i SNAIL ( $r = 0.241$ ,  $p < 0.01$ ), jak również korelację ekspresji Hsp27 z receptorami estrogenowymi (ER;  $r = 0.26$ ,  $p < 0.01$ ) oraz progesteronowymi (PR;  $r = 0.24$ ,  $p < 0.05$ ). Ponadto, jądrowa ekspresja SNAIL korelowała dodatnio z ekspresją ER ( $r = 0.37$ ,  $p < 0.0001$ ) i PR ( $r = 0.35$ ,  $p < 0.0001$ ).

Wyższa ekspresja Hsp27 w IDC i ILC w porównaniu z mastopatiami może sugerować rolę tego białka w procesie transformacji nowotworowej komórek gruczołu piersiowego. Z kolei zaobserwowana korelacja ekspresji Hsp27 z SNAIL może pośrednio wskazywać na rolę Hsp27 w procesie EMT w IDC.



**Karolina Grzeszczuk-Kuć<sup>1,2</sup>, Jolanta Bujok<sup>2,3</sup>, Tomasz Walski<sup>1,2</sup>,  
Katarzyna Galecka<sup>1,2</sup>, Małgorzata Komorowska<sup>1,2</sup>**

## **ZMIANY LICZBY LEUKOCYTÓW ORAZ LICZEBNOŚCI ICH POPULACJI PODCZAS HEMODIALIZY**

Celem pracy było zbadanie ilościowych zmian leukocytów występujących podczas krążenia pozaustrojowego w sztucznej nerce. Eksperymenty wykonano na modelu zwierzęcym hemodializy (HD). Doświadczenia przeprowadzono przy pomocy urządzenia do hemodializy Fresenius 4008S na owcach stojących w boksach bez poskramiania farmakologicznego. Wykorzystano 6 dorosłych zdrowych osobników płci męskiej mieszczących się w wadze między 55 - 65 kg. Zwierzęta poddawane były zabiegom hemodializy trzy razy w tygodniu, trwającym 4 godziny. Do wykonania HD używano dializatorów polisulfonowych Fresenius F4HPS oraz standardowych linii krwi (AV-Set, Fresenius). Badano zmiany całkowitej liczby leukocytów oraz sporządzano leukogramy w czasie trwania zabiegu oraz między kolejnymi dializami. W celu określenia składu procentowego krwinek białych wykonane zostały rozmazy krwi. Rozmazy wykonywano z krwi żyłnej, pobieranej do próbek z antykoagulantem EDTA. Zróznicowano 5 frakcji leukocytów: monocyty, limfocyty, neutrofile, eozynofile i bazofile. Wyniki uzyskane po ocenie rozmazów wyrażone, jako procent poszczególnych populacji leukocytów przeliczono w stosunku do całkowitej liczby leukocytów we krwi obwodowej dla każdej próbki. Wraz z rozpoczęciem hemodializy dochodzi do istotnych zmian całkowitej liczby leukocytów. Odnotowano średni spadek całkowitej liczby leukocytów o około 20% po 15 minutach zabiegu w stosunku do wartości zmierzonych przed HD. Spadek liczby leukocytów trwający do 15 minut hemodializy, był procesem przejściowym. W 30 minucie HD

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Politechnika Wroclawska

<sup>2</sup> WROVASC – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu

<sup>3</sup> Zakład Fizjologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

liczba leukocytów wracała do wartości początkowej. Pod koniec zabiegu obserwowano około 10% zwiększenie się liczby białych krwinek. Stwierdzono również istotne zmiany leukogramu podczas różnych etapów HD. W ciągu pierwszych 15 minut krążenia pozaustrojowego zauważono u zwierząt zmniejszenie się populacji granulocytów obojętnochłonnych sięgające 20%. W przypadku liczby limfocytów odnotowano nieznaczny ich spadek natomiast w przypadku monocytów i eozynofili wystąpił istotny wzrost. Liczba eozynofili wzrosła prawie dwukrotnie. Po 30 minutach od rozpoczęcia zabiegu liczba neutrofilów wracała do poziomu początkowego. Obserwowano wzrost populacji limfocytów i monocytów, natomiast liczba eozynofili zaczęła stopniowo spadać. Pod koniec hemodializy, po 4 godzinach zabiegu, odnotowano istotny przyrost populacji neutrofilów, eozynofili i monocytów. Liczba limfocytów powracała do stanu początkowego.

Krótkotrwała leukopenia podczas hemodializy jest zjawiskiem, które było obserwowane w trakcie zabiegów z wykorzystaniem membran celulozowych. Wywołane jest ono reakcją układu immunologicznego wynikającą z kontaktu krwi z materiałem niekompatybilnym biologicznie, co powoduje aktywację neutrofilów. Stosowanie bardziej biozgodnych materiałów do produkcji membran dializacyjnych pozwala ograniczyć ten proces lecz nie jest on całkowicie wyeliminowany [1,2,3]. Wykazano, iż kontakt krwi zdrowych owiec z membranami polisulfonowymi skutkuje tymczasowym obniżeniem całkowitej liczby leukocytów, który jest wywołany spadkiem liczby neutrofilów i monocytów. Wzrost liczby eozynofili zaobserwowany pod koniec zabiegu HD wskazuje na wystąpienie reakcji ze strony układu odpornościowego. Zwiększona obecność eozynofili występuje podczas kontaktu krwi z zewnętrznymi czynnikami oraz w reakcjach alergicznych. W przypadku hemodializy jest to odpowiedź na długotrwały kontakt krwi z materiałem słabo kompatybilnym biologicznie.

#### LITERATURA

- [1] L. S. Kaplow, J. A. Goffinet, Profound neutropenia during the early phase of hemodialysis. *J. Am. Med. Assoc.* 203 (1968), pp. 1135-1137.
- [2] P. R. Craddock, J. Ferh, A. P. Dalmasso et al., Hemodialysis leukopenia: pulmonary vascular leukostasis resulting from complement activation by dialyzer cellophane membranes. *J. Clin. Invest.*, 59 (1977), pp. 879-888.
- [3] W. A. Nockher, J. Wiemer, J. E. Scherberich, Haemodialysis monocytopenia: differential sequestration kinetics of CD14, CD16 and CD14 blood monocyte subsets, *Clin Exp Immunol* 2001; 123:49-55

Publikacja jest częścią projektu “Wrovasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo – Naczyniowej”, współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007-2013 realizowanego w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Ośrodku Badawczo-Rozwojowym.



**Beata Hanus-Lorenz<sup>1</sup>, Magda Przybyło<sup>2</sup>, Zygmunt Kazmierczuk<sup>3</sup>,  
Paweł Grieb<sup>3</sup>, Marek Langner<sup>2</sup>**

## **ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI MIKROMECHANICZNYCH BŁON LIPIDOWYCH INDUKOWANE INHIBITORAMI KINAZY CK2**

Aktywność kinaz białkowych CK2 wobec ponad 300 różnych metabolitów sprawia, że są to kluczowe białka biorące udział w procesach regulacji procesów komórkowych. Od specyficzności i intensywności procesów odwróconej fosforylacji zależą szlaki m.in. proliferacji, różnicowania, transformacji nowotworowej czy apoptozy. Kinazy CK2 prezentują wzmożoną aktywność w komórkach nowotworowych, co objawia się zaburzeniami funkcjonowania wielu szlaków sygnałowych i prowadzi do niekontrolowanej proliferacji komórek oraz ich uodpornienia na procesy samobójczej śmierci. Dlatego poprzez inhibicję kinaz CK2 zaangażowanych w mechanizmy supresji apoptozy komórek nowotworowych upatruje się nowych możliwości terapeutycznych w leczeniu. Ponadto niedawno odkryty wpływ kinaz CK2 na stany patologiczne w komórkach nerwowych obserwowanych w chorobach neurodegeneratywnych. Schorzenia układu nerwowego są powiązane z nieprawidłową agregacją białek, w czym mają udział białka błonowe oraz z zaburzeniami metabolizmu lipidów, które wpływają na właściwości mechaniczne błon komórek nerwowych.

Od wielu lat rozwijane są idee zatrzymania procesów fosforylacji poprzez dostarczenie specyficznych inhibitorów kinaz białkowych. Wśród dotychczas znanych inhibitorów CK2 znajdują się m.in. analogi benzimidazolu, benzotriazolu, które lokują się w centrum aktywnym kinaz blokując miejsce wiązania ATP i hamując przekazywanie sygnałów. Hydrofobowy charakter cząsteczek tych inhibitorów wskazuje na powinowactwo do błon lipidowych i wbudowywanie się w dwuwarstwę.

---

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Wroclawska

<sup>2</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wroclawska

<sup>3</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa

Przeprowadzone badania, oparte o metody spektroskopii fluorescencyjnej pozwoliły określić lokalizację molekularną pochodnych benzotriazolu i benzoimidazolu o charakterze inhibitorów kinaz CK2 w dwuwarstwie oraz wykazały wpływ na właściwości mikromechaniczne błon liposomów w układzie modelowym.



**Waldemar Andrzejewski<sup>1,2</sup> Krzysztof Kassolik<sup>1,2</sup>, Karolina Jabłońska<sup>3</sup>, Bartosz Puła<sup>3</sup>, Katarzyna Ratajczak-Wielgomas<sup>3</sup>, Marzena Podhorska-Okolów<sup>3</sup>, Donata Kurpas<sup>2,4</sup>, Piotr Dziegiel<sup>1,3</sup>**

### **WPLYW SYNERGISTYCZNEGO MASAŻU I ĆWICZEŃ FIZYCZNYCH NA EKSPRESJĘ CZYNNIKÓW ANGIOGENNYCH W ŚCIEGNACH SZCZURÓW**

Ściegno jest to włókniste pasmo zbudowane z mocnych i bardzo odpornych włókien kolagenowych zatopionych w niewielkiej ilości istoty podstawowej. Zadaniem ścięgna jest przenoszenie siły skurczu mięśniowego na elementy kostne szkieletu. Obecny stan wiedzy wskazuje, że długotrwałe ćwiczenia fizyczne w dużym stopniu powodują obniżenie liczby i średnicy włókien kolagenowych ścięgien. Taka zmienność struktury ścięgna może być związana z istotnym ryzykiem urazu podczas długotrwałego wysiłku fizycznego. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem morfometrii ultrastrukturalnej wskazują, że wielokrotne odkształcenia mechaniczne (masaż) wpływają na wzrost liczby i średnicy włókien kolagenowych w ścięgnach, rozwój naczyń i zwiększoną aktywność metaboliczną fibroblastów, które są głównymi komórkami odpowiedzialnymi za procesy adaptacyjne w tkance ścięgna. Zmiana metabolizmu ścięgna w odpowiedzi na działanie sił mechanicznych (masażu) przejawia się syntezą różnego typu czynników wzrostu. Kluczowymi czynnikami biorącymi udział w regulacji angiogenezy, proliferacji komórek śródbłonka, chemotaksji oraz różnicowania komórek są między innymi czynniki wzrostu fibroblastów FGF-2, czynniki wzrostu śródbłonka naczyń VEGF-A, czy też marker komórek śródbłonka CD34.

Zasadniczym celem niniejszego eksperymentu było zbadanie wpływu masażu oraz wysiłku fizycznego na ścięgna szczurów z wykorzystaniem technik morfologicznych oraz molekularnych. Eksperyment prowadzony był przez 10 tygodni. W tym czasie 75 szczurów poddawano treningowi biegowemu oraz masażom ścięgien. Badaną populację szczurów

<sup>1</sup> Katedra Fizjoterapii, Akademia Wychowania Fizycznego, Wrocław

<sup>2</sup> Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa, Opole

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>4</sup> Zakład Medycyny Rodzinnej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

podzielono na 3 grupy liczące 25 osobników. Pierwsza grupa (PM) była masowana pięć razy w tygodniu przez 3 tygodnie przed treningiem biegowym. Druga grupa (M) była masowana pięć razy w tygodniu przez cały czas trwania eksperymentu. Trzecia grupa (C) była poddawana treningowi biegowemu przez 10 tygodni bez masażu. Materiał tkankowy do badań pobierano z tylnej nogi kolejno od 5 szczurów z każdej grupy doświadczalnej w dniach 7, 21, 35, 49, i 70. Wycięte fragmenty ścięgna zostały utrwalone w 10% buforowanej formalinie i zatopione w parafinie, jak również w RNAlater oraz zamrożone w  $-80^{\circ}\text{C}$ . Badania immunohistochemiczne wykonano na skrawkach parafinowych ścięgien w celu detekcji antygenów CD34 oraz VEGF-A. Fragmenty ścięgien utrwalonych w RNAlater posłużyły do określenia względnej ekspresji mRNA VEGF-A, CD34 oraz FGF-2 przy użyciu techniki PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond w układzie TaqMan. Z zamrożonych fragmentów ścięgien wyizolowano białko, a następnie za pomocą techniki Western-blot określono densytometrycznie poziom VEGF-A w ścięgnach szczurów z poszczególnych grup badawczych. Analizę statystyczną wykonano w programie Prism 5.0

Badanie histopatologiczne nie wykazało zmian w strukturze analizowanego ścięgna. Analiza reakcji immunohistochemicznych wskazuje na immunoreaktywność VEGF-A w komórkach fibroblastopodobnych oraz CD34 w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych. Istotny wzrost ekspresji mRNA VEGF-A, CD34 i FGF-2 zaobserwowano między innymi w grupie szczurów poddanych masażowi (grupa M) w trzecim tygodniu doświadczenia ( $p < 0.0001$ ). Nieznaczny wzrost ekspresji mRNA VEGF-A i CD34 wykryto w grupie poddanej masażowi przed treningiem (grupa PM) w piątym tygodniu doświadczenia ( $p < 0.05$ ). Brak istotnych zmian w ekspresji badanych czynników zaobserwowano w grupie szczurów poddanych tylko treningowi biegowemu, bez poprzedzającego lub równoczesnego masażu (grupa C). Densytometryczny pomiar VEGF-A wskazuje na istotnie wyższy poziom białka w grupie (M) w trzecim i piątym tygodniu eksperymentu w stosunku do grupy (C) i (PM) ( $p < 0.0001$ ). Ekspresja VEGF-A mRNA silnie koreluje z gęstością optyczną (OD) prążków uzyskanych w technice Western-blot ( $r = 0.53$ ,  $p < 0.0001$ ).

Wyniki badań mogą wskazywać na synergistyczny wpływ jednoczesnego masażu i aktywności fizycznej na ekspresję markerów angiogenezy w ścięgnach szczurów. Może to przyczyniać się do zmniejszenia rozwoju zmian chorobowych w obrębie ścięgien podczas długotrwałych przeciążeń w czasie treningu biegowego.



**Alicja Kazek-Kęsik<sup>1</sup>, Małgorzata Krok-Borkowicz<sup>2</sup>, Joanna Michalska<sup>3</sup>, Elżbieta Pamula<sup>2</sup>, Wojciech Simka<sup>1</sup>**

### **MODYFIKACJA POWIERZCHNI STOPU TYTANU Ti-13Nb-13Zr METODĄ PLAZMOWEGO UTLENIANIA ELEKTROLITYCZNEGO**

Rozwój inżynierii materiałowej oraz rosnące wymagania stawiane implantom, stwarzają konieczność ciągłego ich doskonalenia. Wśród materiałów metalicznych wyróżnić można tytan oraz jego stopy, które charakteryzują się wysoką biotolerancją oraz odpornością na korozję. Właściwości mechaniczne zbliżone do kości posiadają stopy tytanu z fazą  $\beta$ , takie jak Ti-15Mo lub Ti-13Nb-13Zr. W celu zwiększenia ich bioaktywności ich powierzchnię poddaje się modyfikacji. Jedną ze stosowanych metod jest proces plazmowego utleniania elektrolitycznego (PEO). Utworzona w ten sposób warstwa tlenkowa na powierzchni metalu jest porowata i może zawierać wbudowane składniki z roztworu.

Celem prowadzonych badań była modyfikacja powierzchni stopu tytanu Ti-13Nb-13Zr metodą plazmowego utleniania elektrolitycznego. Proces PEO prowadzono w roztworze zawierającym 0.1 M podfosforyn wapnia ( $\text{CaH}_2\text{PO}_2$ ) z dodatkiem 150 g  $\text{dm}^{-3}$  fosforanu wapnia  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (TCP) przy stałej gęstości prądu 150  $\text{mA cm}^{-2}$ . Napięcie zaciskowe podczas procesu PEO ograniczono odpowiednio do 350 i 450 V. Scharakteryzowano mikrostrukturę otrzymanych powłok za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) oraz skład chemiczny z zastosowaniem mikroanalizy rentgenowskiej (EDX). Fosforan wapnia został wbudowany w porowate warstwy tlenkowe utworzone na powierzchni stopu tytanu. Przekrój poprzeczny powłok wskazuje, że są one wielowarstwowe, a ich grubość zależy od zastosowanego napięcia

<sup>1</sup> Katedra Chemii Nieorganicznej, Analitycznej i Elektrochemii, Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska, Gliwice

<sup>2</sup> Katedra Biomateriałów, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica, Kraków

<sup>3</sup> Instytut Nauki o Materiałach, Wydział Inżynierii Materiałowej i Metalurgii, Politechnika Śląska, Katowice

zaciskowego podczas procesu PEO. Wyznaczony został średni współczynnik chropowatości (Ra) oraz kąt zwilżania zmodyfikowanej powierzchni stopu tytanu. Zbadano adhezję otrzymanych warstw na podstawie testu zarysowania, stosując zmienne obciążenie wgłębnika od 0.9 do 100 N na odcinku 7 mm. Przeprowadzono wstępne badania bioaktywności otrzymanych powierzchni z wykorzystaniem komórek osteoblasto-podobnych linii MG-63.



**Alicja Kędzia<sup>1</sup>, Emilia Kędzia<sup>2</sup>, Wojciech Kędzia<sup>3</sup>**

## **ANALIZA ZMIENNOŚCI STRUKTUR KOSTNYCH W OKRESIE PRENATALNYM**

Wstęp: Analiza piśmiennictwa wykazała, że zmienność indywidualna struktur kostnych w okresie prenatalnym była badana wycinkowo, bez zastosowania najnowszych technik informatycznych. Wiąże się to z trudnościami w uzyskaniu unikalnego materiału i barierami technicznymi.

Celem pracy była analiza zmienności struktur kostnych w okresie prenatalnym. Badaniami objęto czaszki wcześniaków oraz płodowe mostki. Prześledzenie piśmiennictwa wykazało, że dotychczas nie była prowadzona analiza fraktalna szwów czaszki u wcześniaków. Materiał obejmował 50 czaszek z kolekcji Katedry i Zakładu Anatomii Prawidłowej we Wrocławiu. Wykonano akwizycję aparatem fotograficznym a następnie opracowano w systemie Image J i Scion for Windows 98. Analizowano fraktalnie szwy czaszki. Szwy czaszkowe cechują się dużą zmiennością, posiadają osobliwą budowę i trudno je opisać innymi metodami. Wymiary fraktalne opisują stopień komplikacji zbioru. Wymiar fraktalny szwów czaszki waha się od 1,58 do 1,7. Najniższy jest w szwie czołowym (sutura metopica) wynosi 1,58, w szwie wieńcowym wynosił 1,66, w szwie węglowym wynosi 1,66. W obrębie szwu węglowego występowały kości wstawne. W obrębie szwów znajdują się naczynia krwionośne, włókna kolagenowe i elastyczne. Szwy czaszkowe są miejscem wzrostu kości, przechodzą szereg przemian w trakcie życia człowieka. Znajomość architektury szwów kostnych jest ważna z punktu widzenia klinicznego, wzrost ciśnienia śródczaszkowego, kraniostenoz. W trakcie porodu pozwalają na dopasowanie się kości czaszki. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, że wymiar fraktalny jest znacznie wyższy niż u

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Anatomii Prawidłowej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>2</sup> II Katedra i Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>3</sup> Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

osób dorosłych. Zastosowanie geometrii fraktalnej do analizy szwów czaszki wykazało, że są one przydatnym narzędziem do oceny stopnia komplikacji szwów. Fraktalna natura szwów czaszki wpływa na ich własności mechaniczne absorbując energię w przypadku urazów czaszki. Nowością w pracy były trzy elementy: unikalny materiał czaszek wcześniaczych, metoda fraktalna, która poza badaniami własnymi nie była stosowana do opracowań stopnia komplikacji szwów, komputerowa analiza obrazu w systemie Image J. Geometria fraktalna stanowi cenne narzędzie do analizy przestrzennych struktur biologicznych. Skomplikowane struktury są obiektem bardzo trudnym do opisu, jednocześnie ten stopień komplikacji ma istotne znaczenie w analizie funkcji spełnianych przez ten układ.

Drugi obszar badań stanowiły płodowe mostki. Analizie statystycznej poddano wyniki pomiaru parametrów geometrycznych mostka 46 płodów ludzkich w wieku od 15. do 27. tygodnia życia płodowego. W materiale sekcyjnym było 29 płodów płci żeńskiej i 17 płci męskiej ze zbiorów Muzeum Anatomii Prawidłowej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Wiek płodów oznaczano na podstawie tablic Scamona-Calkinsa. Dane ilościowe do analizy pozyskano w oparciu o akwizycję fotograficzną i pomiary za pomocą systemu *Scion Image for Windows*. Opcje Scion for Windows pozwalają na skanowanie, edytowanie, dokonanie precyzyjnych pomiarów z dokładnością do 0,01 mm. Kierunek wzrostu mostka jest czaszkowo-ogonowy. Wskaźniki długościowo-szerokościowe rękocyfry mostka, trzonu i poszczególnych segmentów mostka były stałe. Nie obserwuje się dymorfizmu płciowego. Wyrostek mieczykowaty odznaczał się dużą zmiennością kształtu i geometrii - przyjmował kształt stożkowy lub walcopodobny i nieregularnych figur geometrycznych. Zmienność kształtu dotyczyła zakończenia: obłego, widelkowego stożkowego, ukośnego, prostego, szpiczastego. Zmienność była tak duża, że praktycznie każdy wyrostek mieczykowaty był inny. Połączenie rękocyfry i trzonu mostka tworzy kąt wypukły ku przodowi, wskazuje miejsce przyczepu II żebra do mostka i stanowi ważny punkt topograficzny dla lokalizacji narządów wewnętrznych. Kąt mostka jest pomocny przy liczeniu żeber. Przez kąt mostka przechodzi granica między śródpiersem górnym a dolnym. Wyrostek mieczykowaty jest ważnym punktem orientacyjnym a jego połączenie z mostkiem pozwala na lokalizację dolnej granicy serca i ścięgna środkowego przepony. Nowością w pracy było połączenie unikalnej kolekcji płodowej z najnowszymi technikami informatycznymi wykorzystanymi do precyzyjnych pomiarów.



**Alicja Kędzia<sup>1</sup>, Wojciech Kędzia<sup>2</sup>, Grzegorz Mazur<sup>3</sup>, Marek Rybaczuk<sup>4</sup>**

## **FRAKTALNA ANALIZA STRUKTUR ANATOMICZNYCH DOŁU TYLNEGO CZASZKI**

Wstęp. Analiza literatury wykazała brak opisów analizy fraktalnej struktur dołu tylnego czaszki poza własnymi obserwacjami. Rozwój mózdzku był opisywany na podstawie zdjęć z ultraszybkiego MR i usg. Celem pracy była analiza struktur anatomicznych w dole tylnym czaszki, w okresie prenatalnym i w wieku dojrzałym, z przeprowadzeniem analizy fraktalnej. Badania przeprowadzono na 100 płodach z kolekcji Katedry i Zakładu Anatomii Prawidłowej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Wiek płodów obejmował IV do VII miesiąca okresu prenatalnego oraz 50 mózdzków w wieku dojrzałym.

Metody badań zawierały: techniki preparacyjne, antropologiczne, cyfrową analizę obrazu, komputerową analizę obrazu w systemie Image J i Scion for Windows 98, metodę Pickwortha, analizę fraktalną. Stosowano różne przekształcenia liniowe i nieliniowe. Wiek płodów był oznaczany na podstawie wymiaru v-tub, w oparciu o tablice Scamona i Calkinsa.

Za pomocą specjalnie skonstruowanego i opatentowanego urządzenia P 385506 wykonano 100 przekrojów strzałkowych i czołowych preparatów głów, w okresie od IV do VII miesiąca życia płodowego o v-tub od 130-220mm. Wykonano cięcia idealnie gładkie, które pozwoliły na uwidocznienie milimetrych elementów pajęczynówki.

Uwagę zwracał osobliwy kształt dołu tylnego czaszki, który przypominał lejek, wysokie ustawienie namiotu mózdzku. Fraktalnej analizie poddano robak mózdzku, zbiorniki pajęczynówki i naczynia mózdzku. Analiza fraktalna ocenia stopień komplikacji obiektu, a jednocześnie stopień wypełnienia dostępnej przestrzeni badanym obiektem. Wymiar fraktalny podaje w jaki sposób skaluje się obiekt w porównaniu ze skalowaniem przestrzeni. Wymiar fraktalny został obliczony za pomocą trzech niezależnych metod: pojemnościowy, informacyjny, korelacyjny. Do badań obiektów biologicznych najbardziej przydatny okazał się wymiar pojemnościowy typu „box counting”. Następnie dobrano odpowiednie poziomy szarości, przy których był wczytywany obraz. Fraktale charakteryzują się trzema cechami: są opisywane zależnością rekurencyjną, mają cechy samopodobieństwa, ich wymiar nie jest liczbą całkowitą. W badaniach wyznaczono wymiar „box-counting” dla obrazów obiektów otrzymanych różnymi metodami. Wydaje się, że metody te pozwalają na uwidocznienie różnych elementów badanej struktury. Mózdzek rozwija się najdłużej ze

wszystkich struktur mózgowia. Tempo jego rozwoju jest wolniejsze niż mózgu do 5 miesiąca, a intensywne od 19-37 tygodnia życia płodowego. Towarzyszą mu zmiany zachodzące w zbiornikach pajęczynówki, a zwłaszcza zbiornika wielkiego. Wymiar fraktalny mózdzku o v-tub 130 mm wynosi 2,12, a płodu o v-tub 180 2,26. Początkowo obserwujemy spadek wymiaru (wzrost objętościowy), a następnie wzrost wymiaru (rozbudowa powierzchni). Wymiar fraktalny naczyń mózdzku w wieku płodowym wahał się od 1,64-1,75, w wieku dojrzałym był nieco wyższy i wynosił 1,66, a istoty białej 1,74. Te wartości wymiarów świadczą o dużej komplikacji badanej struktury, co jest związane z procesami wymiany i transportu biegnącymi w mózdzku. Analiza fraktalna naczyń pnia w wieku dojrzałym wykazała wymiar pojemnościowy 1,68. W badanym materiale, w 28 przypadkach występowały krwiaki do dołu tylnego czaszki o różnym zasięgu, z przebiegiem do komory IV lub ograniczone do okolicy okołomózdkowej; utrudniało to prowadzenie badań i zarazem świadczyło o występowaniu u płodów przedwcześnie urodzonych rozległych uszkodzeń mózgowia. Zbiorniki dołu tylnego czaszki dzielą się na: cisterna magna-zbiornik wielki, cisterna medullaris-zbiornik rdzeniowy, zbiornik mostu, zbiornik mostowo-mózdkowy. Topografię zbiorników określają przegrody tworzące się w obrębie beleczek pajęczynówki. Posiadają one różną budowę, mogą częściowo lub całkowicie oddzielać poszczególne zbiorniki, wytyczać ich granice. Większość zbiorników okala pień mózgu. W okresie prenatalnym uwagę zwracały koliste, bardzo delikatne konstrukcje rozpięte pomiędzy tylną ścianą dołu tylnego czaszki a mózdzkiem i pniem. Są one charakterystyczne wyłącznie dla okresu prenatalnego. Taka budowa zapewnia lekkość, elastyczność, prawdopodobnie podnosi też wytrzymałość i zapewnia stabilność krążenia płynu mózgowo-rdzeniowego. Przekroje tych struktur mają postać układu stycznych okręgów o różnych średnicach. Opisana konstrukcja dokładnie wypełnia przestrzeń położoną poza strukturami dołu tylnego czaszki i posiada charakter fraktalny. Język fraktali pozwala na porównanie szybkości przemian zachodzących w określonych tkankach. Stopień komplikacji wzrasta w wyższych grupach wiekowych. Istnieje ścisła zależność między intensywnością metabolizmu a stopniem komplikacji.



**Barbara Kmiecik<sup>1</sup>, Anna Skotny<sup>2</sup>, Sylwia Olsztyńska-Janus<sup>3</sup>**

## **SPEKTROSKOPOWA CHARAKTERYSTYKA STRUKTURY SACCHAROMYCES BOULARDII**

Saccharomyces boulardii jest odmianą niepatogennych mikroorganizmów – drożdży. Wchodzi w skład probiotyków i coraz częściej jest ona dodawana do produktów mlecznych, jako środek wspomagający przemianę materii. Saccharomyces boulardii należy do grupy suplementów diety stosowanych w przypadku terapii antybiotykowej i stanach mogących prowadzić do odwodnienia organizmu (biegunki, wymioty). Odbudowuje ona równowagę bakteryjną w przewodzie pokarmowym, uszkodzoną podczas procesów patologicznych. Probiotyki ostatnio są coraz częściej stosowane w terapii zmniejszającej skutki alergii pokarmowej u małych dzieci [1]. Do tej pory zebrano niewiele informacji, które mogłyby scharakteryzować S. boulardii. Badania utrudnia fakt ciągle zachodzących zmian w żywym mikroorganizmie. W ośrodkach naukowych prowadzone są eksperymenty pozwalające określić czasową żywotność analizowanego szczepu. Na jego długość wpływa wiele czynników, m.in. warunki blistrowania (pakowanie w blistry bądź pojemniki) czy przechowywania [2]. Mimo wszelkich starań naukowców, nie został ustalony czas, w którym kończy się pozytywne działanie tego probiotyku. Istnieje prawdopodobieństwo, że czynniki produkcyjne wpływają na żywotność S. boulardii [2]. Skutkować to może wcześniejszym obumarciem drożdży i ich niepoprawnym funkcjonowaniem. Dodatkowo, jako organizm żywy, substancja ta podlega ciągłym zmianom mogącym wpłynąć na jej właściwości lecznicze. Z tego powodu zdecydowano się zanalizować i porównać strukturę dwóch różnych probiotyków zawierających analizowany szczep. W niniejszej pracy wykorzystano informacje uzyskane z badań wykorzystujących spektroskopię ATR-FTIR

<sup>1</sup> Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Geriatrii i Alergologii, Wydział Kształcenia Podyplomowego, Uniwersytet Medyczny

<sup>3</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska

(spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni z transformacją Fouriera) i ramanowską. Otrzymane widma sugerują zmiany strukturalne w analizowanych probiotykach. Prawdopodobnie świadczy to o wpływie procesu produkcyjnego na *S. boulardi*, który może powodować zmiany fizykochemiczne mikroorganizmu. Wyniki te sugerują również, że dostępne na rynku probiotyki zawierające analizowane mikroorganizmy mogą nie pełnić założonej przez farmaceutów funkcji. Z tego powodu obiecującym wydaje się kontynuowanie rozpoczętych badań.

## PODZIĘKOWANIA

Badania były finansowane przez Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu. Do badań wykorzystano przystawkę ATR zakupioną w ramach grantu MNiSW „Wyposażenie aparaturowe Środowiskowego Laboratorium Biooptyki w Instytucie Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej” Nr 6180/IA/119/2012.

## LITERATURA

- [1] Nermes, M., Salminen, S., Isolauri, E., Is there a role for probiotics in the prevention or treatment of food allergy?, *Current Allergy and Asthma Reports*, 2013, 13.6: 622-630.
- [2] Thomas, M. B., Vaidyanathan, M., Radhakrishnan, K., Raichur, A. M., Enhanced viability of Probiotic *Saccharomyces boulardi* encapsulated by layer-by-layer approach in pH responsive Chitosan–Dextran sulfate polyelectrolytes, *Journal of Food Engineering*, 2014, 136, 1-8



**Barbara Kmieci<sup>1</sup>, Sylwia Olsztyńska-Janus<sup>2</sup>, Jerzy Detyna<sup>1</sup>,  
Zdzisław Kielbowicz<sup>3</sup>**

## **CHARAKTERYSTYKA STRUKTUR POSZCZEGÓLNYCH WARSTW SKÓRY ZA POMOCĄ SPEKTROSKOPII FTIR-ATR**

Skóra jest barierą pomiędzy środowiskiem zewnętrznym i wewnętrznym. Składa się z trzech warstw: naskórka (*łac. epidermis*), skóry właściwej (*łac. dermis*) oraz tkanki podskórnej (*łac. hypodermis*). Każda z nich ma inną budowę i pełni inną funkcję w organizmie. Najbardziej zewnętrzną jest warstwa naskórka i pełni rolę swoistej tarczy, która dzięki swojej budowie nie pozwala na wnikanie substancji chemicznych i drobnoustrojów do organizmu człowieka. Następną warstwą jest skóra właściwa. W jej skład wchodzi głównie lipidy i białka (kolagen, elastyna, włókna retikuliny), które prawdopodobnie determinują właściwości mechaniczne skóry (m.in. elastyczność) [1]. Najbardziej wewnętrzną warstwą jest tkanka podskórna, która pełni m.in. rolę termoregulacyjną. Podstawowym jej składnikiem jest tkanka tłuszczowa, która nie pozwala na utratę ciepła.

Celem badań było scharakteryzowanie budowy poszczególnych warstw skóry z wykorzystaniem spektroskopii FTIR-ATR. Pozwoliła ona na porównanie ilościowe i jakościowe składników skóry. Na podstawie uzyskanych widm można ocenić budowę poszczególnych warstw skóry. Różnią się one strukturą białkową i lipidową, co prawdopodobnie determinuje odpowiednie właściwości mechaniczne skóry (wytrzymałość, elastyczność). Naskórek zawiera prawdopodobnie więcej struktur lipidowych, które mogą wpłynąć na funkcjonowanie białek (cytokeratyn). Konformacja biopolimerów obecnych w skórze właściwej ma prawdopodobnie związek z ułożeniem lipidów. W tkance podskórnej stosunek lipidów do białek jest najbardziej wyrównany. Na podstawie wstępnych badań i zanalizowanej literatury można zasugerować,

<sup>1</sup> Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska,

<sup>2</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska

<sup>3</sup> Katedra i Klinika Chirurgii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław

że warstwy skóry muszą jednocześnie ze sobą współpracować i działać samodzielnie. Odmienna struktura każdej z nich, może świadczyć o unikalnej funkcji. Istotne jest poznanie pełnej struktury każdej warstwy skóry wraz z pełnionymi przez nie funkcjami. Tylko wtedy możliwe będzie uzyskanie komplementarnego obrazu skóry, który może być pomocny w diagnostyce chorób skóry.

#### PODZIĘKOWANIA

Badania były finansowane przez Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu. Do badań wykorzystano przystawkę ATR zakupioną w ramach grantu MNiSW „Wyposażenie aparaturowe Środowiskowego Laboratorium Biooptyki w Instytucie Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej” Nr 6180/IA/119/2012. Materiał badawczy pochodził z Zakładu i Kliniki Chirurgii na Uniwersytecie Przyrodniczym.

#### LITERATURA

[1] Ni Annaidh A., Bruyère K., Destrade M., Gilchrist, M. D., Otténio, M., *Characterization of the anisotropic mechanical properties of excised human skin*, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2012, 5.1:139-148.



**Barbara Kmieciak<sup>1</sup>, Sylwia Olsztyńska-Janus<sup>2</sup>, Małgorzata Komorowska<sup>2</sup>, Jerzy Detyna<sup>1</sup>, Wiesław Królikowski<sup>3</sup>, Konstanty Szuldrzyński<sup>3</sup>**

## **STRUKTURY LIPIDOWE W UKŁADOWEJ ODPOWIEDZI ZAPALNEJ W KRĄŻENIU POZAUSTROJOWYM**

W krążeniu pozaustrojowym przepływ krwi przez dreny jest wymuszony przez pompę mechaniczną. Podczas tego procesu do krwi dostarczane są składniki odżywcze oraz następuje jej utlenowanie. Metoda ta jest stosowana w sytuacji, gdy inne środki terapeutyczne zawodzą, a istnieje jeszcze szansa na uratowanie pacjenta (m.in. ostra niewydolność oddechowa). W krążeniu pozaustrojowym stres oksydacyjny jest jedną z pierwszych odpowiedzi organizmu. Do jego powstania dochodzi podczas nagłego uwolnienia reaktywnych form tlenu przez neutrofile i monocyty podczas pierwszego etapu odpowiedzi zapalnej [1]. Powstają wtedy rodniki tlenowe, które prawdopodobnie prowadzą do uszkodzenia wiązań lipidowych. W dalszym etapie powstaje zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (SIRS), który może doprowadzić do powikłań, a w konsekwencji nawet do śmierci organizmu. Naukowcy dążą do udoskonalenia tej procedury, w celu zmniejszenia lub wyeliminowania skutków ubocznych. Po podłączeniu krążenia pozaustrojowego do pacjenta dochodzi do zmian w obrębie składników tkankowych, co może mieć wpływ na funkcjonowanie całego organizmu. Nasze obserwacje sugerują, że struktury lipidowe biorą udział w początkowych procesach zachodzących w organizmie. Podczas tych reakcji dochodzi do zerwania wiązań pomiędzy grupami  $\text{CH}_2$  (tworzącymi wewnętrzną warstwę lipidów), co prowadzi do zwiększenia grup  $\text{CH}_3$  (znajdujących się z warstwie zewnętrznej) [2]. Śledzenie tych procesów może być obrazowane za pomocą metody spektroskopowej

<sup>1</sup> Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska

<sup>2</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska

<sup>3</sup> II Katedra Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków-Balice.

FTIR-ATR (spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia). W analizowanych wynikach po 360 minutach od podłączenia krążenia pozaustrojowego obserwowane jest zmniejszenie pola powierzchni pasm grup  $\text{CH}_2$  przy  $2926\text{cm}^{-1}$ , z jednoczesnym zwiększeniem tego parametru dla grup  $\text{CH}_3$  przy  $2965\text{cm}^{-1}$ . Analizowanie zmian zachodzących w strukturach lipidowych jest utrudnione, ponieważ są one bardzo wrażliwe na czynniki zewnętrzne. Jednakże otrzymane wyniki sugerują jednoznacznie, że odgrywają one znaczącą rolę w początkowych procesach zachodzących po podłączeniu krążenia pozaustrojowego, które mają wpływ na funkcjonowanie całego organizmu.

#### PODZIĘKOWANIA

Badania finansowane były przez Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu. Do badań wykorzystano przystawkę ATR zakupioną w ramach grantu MNiSW „Wyposażenie aparaturowe Środowiskowego Laboratorium Biooptyki w Instytucie Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej” Nr 6180/IA/119/2012. Zabiegi krążenia pozaustrojowego zostały przeprowadzone w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie-Balicach.

#### LITERATURA

- [1] Winterbourn C. C.; Kettle A. J., *Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome*, Antioxidants and Redox Signaling, 2013, 18.6: 642-660.
- [2] Petibois C.; Délérís G., *Evidence that erythrocytes are highly susceptible to exercise oxidative stress: FT-IR spectrometric studies at the molecular level*, Cell Biology International, 2005, 29.8: 709-716.



---

**Katarzyna Kołodziej<sup>1</sup>**

## **REGISTRATION PROCEDURES AND QUALITY STANDARDS USED IN GENERIC DRUGS MANUFACTURE**

A generic drug is identical or equivalent to a brand drug (reference product) in dosage, indication, characteristics and quality. Generic drugs can only be marketed after the patent of the reference product is expired. During development of generics a typical clinical trails (phase I, II and III) can be omitted. Instead, a bioequivalence of the generic to reference drug has to be demonstrated in *in vivo* and *in vitro* tests.

Good Manufacturing Practice (GMP) describes requirements for manufacturing safe, stable and high quality pharmaceutical products.

Active Pharmaceutical Ingredients (API) and finished products have to be manufactured in GMP –certified facilities.

There are four types of registration procedure: national, Mutual Recognition Procedure (MRP), Decentralised Procedure (DCP) and Central Procedure (CP). Registration files have common format: five modules are combined in the Common Technical Document (CTD format) and can be submitted in electronic form to the responsible authority. The registration file is composed of five modules containing information such as: non-clinical and clinical overview (and studies), manufacturing procedures, analytical procedures, quality of primary packaging and complete product information that will be printed in the leaflet and on the box.

---

<sup>1</sup> Pharmamatch B.V., Amsterdam the Netherlands

After the product launch to the market, the registration file require maintenance: all changes in procedures or location of manufacturing and testing, changes in quality of ingredients, and additional safety data have to be included and submitted for authority approval.



---

**Bogumił Konopka<sup>1</sup>**

## **ONTOLOGIE BIOMEDYCZNE – PRZEGLĄD**

Spółeczeństwa w krajach rozwiniętych przechodzą aktualnie transformację w tzw. społeczeństwa informacyjne. Mamy do czynienia z postępującą cyfryzacją każdego aspektu życia w tym opieki zdrowotnej. Strumień danych biomedycznych, generowanych przez zaawansowane metody diagnostyczne i badawcze, stale się powiększa, a jego przetwarzanie stanowi poważne wyzwanie dla lekarzy i naukowców. Do wspierania procesu przetwarzania informacji w badaniach biomedycznych oraz w systemach opieki zdrowotnej coraz częściej wykorzystuje się ontologie. Są to nadzorowane bazy słownictwa pozwalające opisać zebrane dane (uwzględniając ich znaczenie) w sposób zrozumiały zarówno dla ludzi jak i algorytmów komputerowych. Celem niniejszej pracy jest przybliżenie środowisku biomedycznemu zagadnień związanych z ontologiami.

Ontologie pozwalają opisywać wybraną domenę rzeczywistości w ustandaryzowany sposób. Według definicji T. Grubera („Toward Principles for the Design of Ontologies Used for Knowledge Sharing”, *Int. J Hum-Comput St*, 1995) ontologia jest formalnym zapisem współdzielonej przez określone środowisko konceptualizacji domeny. Ontologia składa się z leksykonu precyzyjnie zdefiniowanych terminów oraz relacji. Definicje mogą mieć formę opisów w języku naturalnym lub/i formalnym. Znaczenie każdego terminu zapisane jest w jego definicji oraz w relacjach, którymi połączony jest z innymi terminami. Dzięki temu informacje opisywane przy pomocy ontologii są zrozumiałe dla ludzi i jednocześnie mogą być w sposób relatywnie łatwy przetwarzane przy pomocy algorytmów komputerowych.

Referat jest przeglądem ontologii biomedycznych. Wybór ontologii został przeprowadzony w oparciu o trzy główne kryteria: liczbę wyświetleń danej ontologii w serwisie <http://bioportal.bioontology.org/>, liczbę cytowań w publikacjach oraz potencjalnie duży poziom zainteresowania środowiska medycznego. Przedstawione zostaną m. in.

---

<sup>1</sup> Politechnika Wroclawska, Instytut Inzynierii Biomedycznej i Pomiarowej

baza International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD), SNOMED-CT, Gene Ontology (GO).

ICD jest hierarchiczną strukturą, która grupuje schorzenia w kategorii w oparciu o kryteria opracowane przez Światową Organizację Zdrowia. Głównym celem ICD jest ułatwienie procesu pobierania, gromadzenia oraz analizy danych dotyczących zachorowalności oraz śmiertelności w populacjach. Terminy ICD pozwalają na etykietowanie kodem alfanumerycznym przyczyn kontaktu pacjenta z służbą zdrowia. Kody te są często wykorzystywane w kartach pacjentów do opisu pól typu: „diagnoza”, „przyczyna przyjęcia”.

Inną szeroko wykorzystywaną w medycynie ontologią jest SNOMED-CT®. Jest to zbiór formalnych hierarchii terminów klinicznych, które pozwalają standaryzować dokumentację medyczną w zakresie procedur diagnozowania, leczenia jak również administracji (<http://www.ihtsdo.org/snomed-ct/>).

W dziedzinie nauk biologicznych jedną z najczęściej wykorzystywanych ontologii jest GO. Ontologia GO to kontrolowany słownik terminów, które pozwalają na opis trzech aspektów genów oraz białek. GO składa się z trzech pod-ontologii. Pod-ontologia Biological Process odnosi się do mechanizmów biologicznych, w których białko lub gen uczestniczą. Pod-ontologia Cellular Component pozwala na określenie miejsca, w którym gen lub białko są aktywne. Pod-ontologia Molecular Function opisuje aktywność biochemiczną cząsteczki.

Sukcesy ontologii skłoniły wiele grup badawczych do tworzenia własnych ontologii. W rezultacie zamiast standaryzacji pojęć i unifikacji słownictwa, pojawiła się nowa przeszkoda w integracji i współdzieleniu danych. Aktualnie prowadzone są dwa duże projekty, których celem jest przeciwdziałanie problemowi nadmiernej liczby ontologii. Unified Medical Language System (UMLS) oraz Open Biomedical Ontologies Foundry (OBO Foundry). UMLS stara się łączyć istniejące ontologie w jeden spójny system przez grupowanie terminów pochodzących z różnych źródeł w zbiory opisujące te same koncepcje. Z kolei inicjatywa OBO to próba koordynacji budowy nowych i przebudowy istniejących ontologii. Obie filozofie mają wady i zalety. To, które z rozwiązań jest lepsze i będzie dominować w przyszłości, pozostaje otwartą kwestią.



**Mateusz Kowal<sup>1</sup>, Alicja Rutkowska-Kucharska<sup>2</sup>**

## **MOMENT SIŁY ZGINACZY I PROSTOWNIKÓW STAWU BIODROWEGO OSÓB PO AMPUTACJI PROWADZĄCYCH AKTYWNY I NIEAKTYWNY TRYB ŻYCIA**

Keywords: Physical activity – muscle torque – symmetry – amputation

*Cel:* Celem badań była ocena proporcji i symetrii momentów siły mięśni działających na staw biodrowy kończyny zdrowej i amputowanej osób aktywnie uczestniczących w zajęciach sportowych i nietreningujących.

*Material i Metoda:* Badano 12 osób z amputacją powyżej stawu kolanowego. Grupa badawcza podzielona została na dwie podgrupy. Pierwszą (średnia wieku  $38 \pm 15$  lat, masa ciała  $72 \pm 20$  kg, wysokość ciała  $172 \pm 80$  cm) stanowiły osoby aktywnie uprawiające sport. Drugą (średnia wieku  $44 \pm 17$  lat, masa ciała  $82 \pm 18$  kg, wysokość ciała  $178 \pm 11$  cm) stanowiły osoby nieaktywne fizycznie

Pomiar możliwości siłowo-szybkościowy mięśni działających na staw biodrowych w ruchach zginania i prostowania przeprowadzony został za pomocą Biodex System 4. Pomiar dokonywany był w dwóch prędkościach kątowych:  $60^\circ/s$ ,  $120^\circ/s$ , oraz w warunkach czynności izometrycznej dla kończyny kompletnej i amputowanej.

*Wyniki:* Maksymalny momentu siły zginaczy stawu biodrowego kończyny amputowanej osób aktywnych stanowił 65,3% osób zdrowych i był większy niż w przypadku osób nieaktywnych (55,9%). Podobne wartości uzyskano dla prostowników. Czas osiągnięcia maksymalnego momentu siły mięśni kończyny amputowanej podczas prostowania stawu biodrowego z prędkością  $60^\circ/s$  osób aktywnych wyniósł 400 ms a osób nieaktywnych 900ms, a podczas zginania odpowiednio 400ms i 600ms.

*Wnioski:* Osoby aktywne fizycznie odznaczały się większą dynamiką generowania maksymalnego momentu siły zwłaszcza w ruchach prostowania stawu biodrowego.

<sup>1</sup> Wydział Nauk o Zdrowiu, Katedra Fizjoterapii Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>2</sup> Wydział Wychowania Fizycznego, Katedra Biomechaniki Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

Aktywność fizyczna w pozytywny sposób wpływa na możliwości siłowo-szybkościowe mięśni działających na staw biodrowy osób po amputacji powyżej stawu kolanowego, przyczyniając się do zmniejszenia asymetrii i dysproporcji pomiędzy kończynami



**Kozlik Maciej<sup>1</sup>, Wójcicki Piotr<sup>1</sup>**

**OSTEOPLASTYKA WYROSTKA ZĘBODOŁOWEGO Z  
UŻYCIEM PREPARATU KSENOGENNEGO OSTEOVIT® –  
BADANIE EKSPERYMENTALNE, DONIESIENIE WSTĘPNE**

*Wprowadzenie:*

W Polsce przybywa rocznie od 600 do 800 dzieci z wadą rozszczepową. Pełne nasilenie wady - całkowity rozszczep wargi, wyrostka zębodołowego i podniebienia, jedno- lub obustronny, któremu towarzyszą zaburzenia funkcji oddychania, ssania, połykania, żucia, słuchu i mowy, występuje u przeszło 40% spośród nich. Rekonstrukcje wyrostka zębodołowego w wadzie rozszczepowej - osteoplastykę wtórną, wykonuje się u dzieci w wieku od 9 do 11 lat . Jedynym materiałem stosowanym w celu odtwarzania ciągłości wyrostka zębodołowego są autogenne przeszczepy kości z talerza kości biodrowej. Miarą skuteczności przeprowadzonej operacji jest uzyskanie wystarczającej objętości prawidłowo przebudowanej tkanki kostnej.

*Cel pracy:*

Ocena przydatności preparatu kośćcozastępczego Osteovit® w rekonstrukcji wyrostka zębodołowego u dzieci z rozszczepem wargi, wyrostka zębodołowego i podniebienia w oparciu o wyniki badań eksperymentalnych na modelu zwierzęcym (królik).

*Materiały i metody:*

Badania zostały przeprowadzone na dwudziestu czterech samcach królika rasy New Zealand. Wykorzystywany w badaniu substytut kości - Osteovit® jest naturalnym preparatem kośćcozastępczym uzyskiwanym ze zdemineralizowanej wołowej macierzy kolagenowej. Miejsce wykonania eksperymentu – Katedra Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Uzyskano zgodę na badanie I Lokalnej Komisji Etycznej we Wrocławiu. Badanie przeprowadzono w II etapach:

---

<sup>1</sup> Klinika Chirurgii Plastycznej w Polanicy-Zdroju, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu; maciej.kozlik@gmail.com tel. +48 696026312

### *I etap:*

Zabieg operacyjny wykonano w znieczuleniu ogólnym. U każdego zwierzęcia wytworzono sztuczny, obustronny rozszczep wyrostka zębodołowego, jednocześnie odtwarzając ciągłość wyrostka. Po stronie lewej (kontrolnej) szczelina została wypełniona przeszczepem kości (z usuniętych fragmentów wyrostka zębodołowego). Po stronie prawej szczelina została zaopatrzona preparatem kośćcozastępczym. Rana została zamknięta szwami pojedynczymi, nićmi wchłanianymi.

### *II etap:*

W obrębie grupy 24 zwierząt wydzielono 3 podgrupy zwierząt, które zostały uśpione odpowiednio po 2, 4 i 6 miesiącu od zabiegu operacyjnego przeprowadzonego w etapie I. Śmiertelność okołooperacyjna wyniosła 3 zwierzęta, ostateczna liczebność poszczególnych podgrup: I - 6 zwierząt, II - 7 zwierząt, III - 8 zwierząt.

### *Wyniki:*

U 3 zwierząt (1 zwierzę z każdej grupy) wykonano badania RTG i TK kości czaszki wykazując następującą regenerację wyrostka zębodołowego. W trakcie sekcji zwierząt wykonano ocenę makroskopową oraz dokumentację fotograficzną z dalszymi cyfrowymi pomiarami wysokości odbudowanego wyrostka zębodołowego w operowanej okolicy. Analiza statystyczna otrzymanych danych nie wykazała istotnych statystycznie różnic w grupach pomiędzy zastosowaniem kości własnej i preparatu kośćcozastępczego Osteovit® ( $p > 0,05$ ), co wstępnie może sugerować podobną skuteczność obu materiałów w odbudowie wyrostka zębodołowego. W celu weryfikacji z operowanych fragmentów wyrostka zębodołowego oraz pokrywających tkanek dziąsła zostały pobrane preparaty do badania histopatologicznego oraz immunohistochemicznego do oceny regeneracji kości w zależności od zastosowanego materiału rekonstrukcyjnego – obecnie w trakcie przygotowywania preparatów histologicznych.

Zadanie współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Projekt wsparty finansowo przez Wielkopolską Fundację na Rzecz Rozwoju Nauki i Ochrony Zdrowia oraz firmę Aesculap Chifa Sp. z o. o. oraz materiałowo przez firmę Aesculap Chifa Sp. z o. o. oraz Wrocławskie Centrum Zaopatrzenia Medycznego i Ortopedycznego "Żak-Med."



---

Sebastian Kraszewski<sup>3</sup>

## **Czy ścieżka aktywnego wychwytu glukozy może być rozwiązaniem dla ukierunkowanych terapii przeciwnowotworowych?**

Według Światowej Organizacji Zdrowia, przypadki raka deklarowane są u 7,5 miliona osób rocznie, a wzrost częstości jego występowania jest prognozowany na ponad 11 milionów w 2030 roku. Poszukiwanie nowych, lepszych możliwości leczenia jest nadal konieczne w celu zwiększenia przeżywalności pacjentów z nowotworem. Fakt, że glukoza, i ewentualnie fruktoza, jest jedynym substratem używanym do produkcji energii w silnie rozwiniętych guzach rakowych sugeruje, że błonowe kanały i transportery glukozy mają duży potencjał terapeutyczny w zwalczaniu tej choroby. Napływ glukozy do wnętrza komórek odbywa się przy wykorzystaniu dwóch głównych typów transporterów glukozy: (i) ułatwionego transportu glukozy (pasywne kanały GLUT) i (ii) aktywnego na bazie sodozależnych kotransporterów (aktywnych kanałów SGLT) [1]. Zwiększona ekspresja kanałów SGLT1 na powierzchni komórek rakowych została odkryta w przypadku raka szczęki [2], jelita grubego [3], trzustki [4], jajników [5], a niedawno również raka prostaty [6]. W zdrowych tkankach, ekspresja kanałów SGLT1 jest zasadniczo ograniczona do apikalnej błony enterocytów jelita cienkiego i komórek proksymalnych kanalików nerkowych. Ta ograniczona ekspresja transporterów SGLT1 daje możliwość wykorzystania ich, jako potencjalny cel o wysokiej selektywności wobec komórek nowotworowych, bez znaczącego wpływu na zdrowe tkanki, co może zminimalizować efekty uboczne terapii. Jak dotąd, przemysł farmaceutyczny wykorzystywał już nerkowe kanały SGLT do kontroli stężenia glukozy we krwi u pacjentów z cukrzycą typu II. Kilka specyficznych inhibitorów SGLT jest już w fazie III testów klinicznych [7]. Mimo obiecujących danych, niewiele wiadomo na temat molekularnego mechanizmu oddziaływania tych leków. Proponujemy tutaj bardziej skuteczny sposób polegający najpierw na zrozumieniu

---

<sup>3</sup>Institut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wroclawska, Wrocław

interakcji molekularnych zachodzących z kotransporterami typu SGLT, a następnie na wykorzystaniu komputerowo wspomaganego projektowania leków. Jest to uważane za istotne, zwłaszcza, że oddziaływania lek/cel biorące pod uwagę transportery błonowe są analizowane tak poważnie przez agencje regulacyjne na świecie, jak żaden inny rodzaj potencjalnych interakcji lek/cel.

#### LITERATURA

- [1] F. Q. Zhao and A. F. Keating, *Curr. Genomics*, 2007, **8**, 113-128.
- [2] Y. Hanabata, Y. Nakajima, K. Morita, K. Kayamori and K. Omura, *Odontology*, 2012, **100**, 156-163.
- [3] G. F. Guo, Y. C. Cai, B. Zhang, R. H. Xu, H. J. Qiu, L. P. Xia, W. Q. Jiang, P. L. Hu, X. X. Chen, F. F. Zhou and F. Wang, *Med. Oncol.*, 2011, **28**, S197-S203.
- [4] V. F. Casneuf, P. Fonteyne, N. Van Damme, P. Demetter, P. Pauwels, B. de Hemptinne, M. De Vos, C. Van de Wiele and M. Peeters, *Cancer Invest.*, 2008, **26**, 852-859.
- [5] B. Q. Lai, Y. B. Xiao, H. W. Pu, Q. H. Cao, H. L. Jing and X. S. Liu, *Arch. Gynecol. Obstet.*, 2012, **285**, 1455-1461.
- [6] A. Blessing, L. Xu, G. Gao, L. R. Bollu, J. Ren, H. Li, X. Wu, F. Su, W.-C. Huang, M.-C. Hung, L. Huo, G. S. Palapattu and Z. Weihua, *J. Cancer Sci. Ther.*, 2012, **4**, 306-312.
- [7] E. C. Chao and R. R. Henry, *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2010, **9**, 551-559.

### **Can active glucose uptake pathway be a solution for targeted anticancer therapies?**

According to the World Health Organization, cancer claims around 7.5 million lives a year and its incidences are predicted to rise to over 11 million in 2030. The search for new and better treatment options remains necessary to enhance the overall survival rates of cancer patients. The fact that glucose, and possibly fructose, is the only utilizable substrate available for energy production to ischemic cancers, suggests that membrane glucose channels and transporters have great therapeutic potential in combating this disease. Influx of glucose into cells is carried out by two main classes of glucose transporters: the facilitative glucose transporters (GLUTs) and the active sodium/glucose co-transporters (SGLTs). Increased expressions of SGLT1 have been found in oral, colorectal, pancreatic, ovarian, and very recently discovered in prostate cancers. In healthy tissues, SGLT1 expression is found essentially restricted to the apical membranes of enterocytes from small intestine and cells from renal proximal tubules. This restrained expression of SGLT1 transporters gives the opportunity to exploit them as a potential target, with a high selectivity toward cancer cells, without significant alternation of the healthy tissues, potentially minimizing side effects. Indeed, the pharmaceutical industry has already targeted human renal SGLTs to control blood glucose concentrations in patients with type II diabetes. A number of specific SGLT inhibitors are in phase III clinical trials. Despite promising clinical data, little is known about molecular level effect of those drugs. The more effective way proposed here is to first understand molecular interactions occurring within the SGLT transporters, and then to employ the computer-aided drug design. This is considered to be important, especially since drug-drug interactions concerning membrane transporters are taken as seriously as any other kind of potential drug-drug interaction by regulatory agencies worldwide.



---

**Konrad Kubicki<sup>1</sup>, Maciej Guziński<sup>1</sup>, Andrzej Kochman<sup>2</sup>, Łukasz Waszczuk<sup>1</sup>, Marek Sasiadek<sup>1</sup>**

## **DUAL-ENERGY COMPUTED TOMOGRAPHY IMAGING OF METALLIC ORTHOPAEDIC IMPLANTS**

*Key words:* Dual-energy computed tomography, metal implant imaging, joint replacement

Although the idea of dual-energy computed tomography (DECT) is known from the very beginning of the computed tomography era, because of technical difficulties, it was only after 2005 first commercially available DECT scanners came into use. Over the last years DECT has been introduced in various branches of medicine, such as: urology, neuroradiology and vascular imaging. Another field in which DECT could be a breakthrough technology is the imaging of prosthetic joints and other metal implants. The main disadvantage of the plain CT imaging of orthopaedic implants are metal artifacts, which degrade evaluation of adjacent tissues. One of the ways to overcome these artifacts is the use of DECT modality with integrated metal artifact reduction software.

The purpose of this paper is to provide information on the physical principles of DECT, on its clinical applications (with emphasis on imaging of metal implants), and to present our experience in using this innovative technology.

Thanks to its capability of reducing metal artifacts, DECT is an useful tool for postoperative imaging of orthopaedic implants. To properly use this modality, it is important to recognize appropriate indications (pathological soft-tissue reactions, bilateral joint replacement, suspected hardware misplacement). In such cases, DECT can provide important clinical information with only a slight increase in the radiation dose compared to the plain CT. It is necessary to emphasize the need to

---

<sup>1</sup> Department of General Radiology, Interventional Radiology and Neuroradiology, Wrocław Medical University, Wrocław, Poland

<sup>2</sup> Department of Orthopaedics, Hospital of the Ministry of Interior, Wrocław

develop proper diagnostic algorithms, as well as the need for further interdisciplinary work on the improvement of the metal artifact reduction software and on DECT technology itself.



**Aleksandra Kuzan<sup>1</sup>, Agnieszka Chwilkowska<sup>1</sup>, Agnieszka Bronowicka-Szydelko<sup>1</sup>, Magdalena Kobielarz<sup>2,3</sup>, Andrzej Gamian<sup>1,4</sup>**

## OZNACZANIE PRODUKTÓW ZAWANSOWANEJ GLIKACJI W TĘTNICACH

### *Wstęp*

Końcowe produkty zaawansowanej glikacji (ang. advanced glycation end-products, AGE) stanowią heterogenną grupę związków powstających na skutek reakcji cukru redukującego (glukozy, fruktozy itp.) lub związków karbonylowych (tj.  $\alpha$ -oksoaldehidów krótko łańcuchowych) z białkami, lipidami bądź kwasami nukleinowymi, przy czym reakcja ta, jak rzadko która w organizmie nie jest katalizowana przez żaden enzym, a zachodzi samorzutnie i jest uważana za jeden z procesów degeneracyjnych. Reakcja ta w warunkach fizjologicznych zachodzi bardzo wolno, stąd modyfikacji takiej ulegają wyłącznie białka z bardzo długim okresem półtrwania. Wiadomym jest, że białkami najtrwalszymi i najpowszechniej występującymi w organizmie są białka macierzy zewnątrzkomórkowej tj. kolagen i elastyna i to one są najbardziej narażone na tego typu modyfikacje [Reddy, 2004]. Narządy zbudowane w dużym stopniu z tkanki łącznej (np. naczynia krwionośne), której komponenty białkowe ulegały intensywnie glikacji mają znacznie zmienione właściwości biomechaniczne przez to, że pomiędzy poszczególnymi cząsteczkami powstają wiązania krzyżowe, nadające większą sztywność tkance [Kuzan, i wsp., 2012B].

AGE mają duże znaczenie diagnostyczne, głównie w cukrzycy. Powszechnie oznaczanym parametrem jest glikowana hemoglobina (HbA<sub>1c</sub>). Postuluje się również, że poziom AGE i intensywność glikacji koreluje również z innymi zaburzeniami metabolicznymi i schorzeniami, tj. chorobą Alzheimera czy miażdżycą. Metodami, którymi oznacza się wspomniane AGE są zarówno wysokosprawną chromatografię cieczową, chromatografię powinowactwa jak i testy immunoenzymatyczne. Obecnie stosowane, komercyjnie dostępne są przeciwciała anti-AGE nakierowane na produkty powstałe w wyniku reakcji monosacharydu i  $\alpha$ -oksoaldehydu z białkami. Przeciwciała anti-AGE stosowane przez nasz zespół rozpoznają inny typ epitopu. Celem przedstawionej pracy jest analiza ilości tej klasy związków AGE w materiale jakim są tętnice uzyskane post mortem i próba odpowiedzi na pytanie czy ilość tych związków jest związana ze stopniem zaawansowania miażdżycy.

### *Materiały i metody*

Materiałem badawczym było 20 wycinków tętnic osób zmarłych śmiercią nagłą. Z części materiału wykonano preparaty parafinowe i przeprowadzano na nich barwienia immunohistochemiczne. Część materiału homogenizowano i przeprowadzano serię doświadczeń Dot blot z użyciem aparatu szcliniwego. W przypadku obu doświadczeń wykorzystywano mysie przeciwciała monoklonalne anti-AGE uzyskane w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN.

### *Wyniki*

AGE w postaci antygeny, na który było skierowane przeciwciało występują w ścianach tętnic, generalnie we wszystkich warstwach, acz zazwyczaj w większej koncentracji w wewnętrznej warstwie (intimie, medii) niż zewnętrznej (adventitia). Wśród próbek są widoczne różnice. Część preparatów wybarwia się intensywnie w metodzie immunohistochemicznej, co sugeruje, że badanych związków jest tam stosunkowo dużo, podczas gdy niektóre preparaty praktycznie nie są wybarwione. Analiza porównawcza stopnia nasilenia reakcji barwnej z histologiczną oceną stanu tkanki nie pozwoliła na zaobserwowanie związku ze stopniem zaawansowania miażdżycy czy typem blaszki miażdżycowej. Również analiza metodą Dot blot nie wykazała związku ilości AGE z postępem choroby.

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

<sup>2</sup> Zakład Inżynierii Biomedycznej i Mechaniki Eksperymentalnej, Politechnika Wrocławska

<sup>3</sup> Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy

<sup>4</sup> Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

### *Dyskusja*

Oznaczanie AGE w organizmie sprawia trudności ze względu na strukturalną heterogenność i ich występowanie w ustroju w niewielkich ilościach. Poszczególne metody różnią się między sobą specyficznością i czułością, są obciążone różnego rodzaju ograniczeniami. Szczególnie trudnym do analizy typem materiału są tkanki twarde tj. ściany naczyń krwionośnych. Bardzo istotnym jest jednak aby podjąć się analizy tego typu materiału, gdyż tylko w ten sposób można wysnuć wnioski na temat zmian w strukturze białek o bardzo długim okresie półtrwania, tj. jak kolagen czy elastyna.

W literaturze przedmiotu można znaleźć prace potwierdzające, że glikacja ma znaczące znaczenie w patomechanizmie miażdżycy. Wykazano, że u osób z cukrzycą AGE są zlokalizowane w zmianach miażdżycowych, w warstwach tłuszczowych, w komórkach mięśni gładkich i makrofagach [Stitt i wsp, 1997]. Badania prowadzone przez Stitt i wsp. wykazały, że istnieje korelacja między stężeniem AGE w tkankach, a stopniem zaawansowania miażdżycy [Stitt i wsp, 1997], co wskazuje na istnienie mechanizmów, dzięki którym produkty AGE mogą przyczyniać się do progresji zmian miażdżycowych.

Opisane w niniejszej pracy wyniki trudno porównywać z innymi, gdyż oznaczano tu innego rodzaju produkty niż jest to spotykane w literaturze. Wykorzystany tu materiał koresponduje z tkankami, które analizowano inną metodą - immunoenzymatycznym testem hamowania, z użyciem tych samych przeciwciał [Kuzan, i wsp. 2012 A]. Wydaje się, że porównywane metody są co najmniej tak samo skuteczne. Metoda Dot blot wydaje się mieć dodatkowo te zalety, że jest szybsza i ma mniej etapów, zmniejsza się więc prawdopodobieństwo popełnienia błędu metodycznego, przez to wzrasta wiarygodność wyników. Dzięki użyciu aparatu szczelinowego na błonę nanoszone są w precyzyjny sposób większe ilości materiału, co decyduje o wyższości tej metody nad metodą Western blot. Metoda immunohistochemiczna pozostaje techniką jakościową pozwalającą na identyfikację lokalizacji antygeny w tkance.

Żadna z metod opartych na przeciwciałach monoklonalnych przeciwko białkom zmodyfikowanym przez cukier redukujący nie wykazuje jednoznacznie związku ilości zaawansowanych produktów glikacji ze stopniem zaawansowania miażdżycy. Nie wyklucza się jednak, że takiego związku nie ma, aby móc jednoznacznie powziąć wniosek w tej kwestii należy przebadać większą ilość próbek. Prawdopodobnym jest, że na ilość AGE wpływa tak wiele czynników (poziom glukozy we krwi, intensywność stresu oksydacyjnego, czynniki genetyczne i wiele innych), że nie istnieje możliwość wykazania bezpośredniego związku między AGE i patologicznymi zmianami w tętnicach pobranych post mortem.

### *Podsumowanie*

Analiza ilości produktów zaawansowanej glikacji w tętnicach jest istotną kwestią, która być może pozwoli na pełniejsze poznanie patomechanizmu miażdżycy. Przedstawione w niniejszej pracy wyniki pokazują, że metoda Dot blot umożliwia wiarygodne oznaczanie zawartości AGE w tkankach twardych. Równoległe do analizy ilościowej niezbędnym jest wykonywanie analizy jakościowej, przy czym w opisywanej sytuacji nieoceniona jest metoda immunohistochemiczna. Aktualnie brak jednoznacznej odpowiedzi na pytanie czy istnieje korelacja między ilością białek zmodyfikowanych przez sacharyd redukujący a stopniem zaawansowania miażdżycy, stąd wniosek o konieczności kontynuowania badań.

### *Literatura:*

- Kuzan A, Bronowicka-Szydelko A, Chwiłkowska A, Maksymowicz K, Gamian A, Kobielarz M, Pezowicz C.: Wykrywanie obecności końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGE) w tętnicach z różnym stopniem zaawansowania zmian miażdżycowych. Interdyscyplinarność badań naukowych 2012, praca zbiorowa; pod red. Jarosława Szreka; Wrocław : Ofic. Wydaw. Politechniki Wrocławskiej, 2012A; s.112-115. ISBN 978-83-7493-677-4.
- Kuzan A, Chwiłkowska A, Kobielarz M, Pezowicz C, Gamian A. Glycation of extracellular matrix proteins and its role in atherosclerosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2012B Oct 29;66:804-9.
- Reddy GK. AGE-related cross-linking of collagen is associated with aortic wall matrix stiffness in the pathogenesis of drug-induced diabetes in rats. *Microvasc Res*. 2004;68(2):132-42.
- Stitt AW, He C, Friedman S, Scher L, Rossi P, Ong L, Founds H., Li YM, Bucala R, Vlassara H. Elevated AGE-modified ApoB in sera of euglycemic, normolipidemic patients with atherosclerosis: relationship to tissue AGEs. *Mol Med* 3:617-627, 1997.

Publikacja jest częścią projektu "Wrovasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo – Naczyniowej", współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007-2013 realizowanego w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Ośrodku Badawczo-Rozwojowym.



**Marzena Lachowicz<sup>1</sup>, Anna Zięty<sup>2</sup>**

## **WPLYW CZYNNIKÓW MECHANICZNYCH I ŚRODOWISKOWYCH NA ODPORNOŚĆ KOROZYJNĄ IMPLANTÓW ZE STOPU TYTANU Ti6Al4V**

### **1. WPROWADZENIE**

Obecnie największym zainteresowaniem wśród biomateriałów metalicznych cieszy się tytan i jego stopy, a w szczególności stop Ti6Al4V. W trakcie jego wytwarzania, jak i w trakcie użytkowania (poprzez tarcie lub odkształcanie materiału), może dojść do lokalnego niszczenia samorzutnie powstającej warstwy pasywnej TiO<sub>2</sub>. Takie uszkodzenie powierzchni materiału prowadzi do reakcji elektrochemicznych, wskutek czego jony wchodzące w skład stopu zostają uwolnione do otoczenia implantu [1]. Doniesienia literaturowe wskazują również, że na odporność korozyjną istotny wpływ mają warunki środowiskowe, do których należą: stopień zakwaszenia organizmu czy przyjmowanie stałych leków.

### **2. WPLYW MECHANICZNYCH MIKROUSZKODZEŃ NA ODPORNOŚĆ KOROZYJNĄ IMPLANTU**

W ramach badań prowadzonych w pracy [2] wykazano istotny, negatywny wpływ powstawania mikrouszkodzeń na powierzchni implantu metalicznego wykonanego ze stopu Ti6Al4V. Próbkę z lokalnie zniszczoną warstwą pasywną charakteryzowały się w roztworze Ringera przesuniętą w kierunku wartości bardziej ujemnych wartości potencjału korozyjnego (średnia wartość potencjału  $E_o = -394,8 \text{ mV}$ ) w porównaniu do próbek ze spasywowaną powierzchnią ( $E_o = -284,6 \text{ mV}$ ). Próbkę pasywowaną wykazywały o około rząd niższe wartości gęstości prądów. Dla próbek z samorzutnie powstałą warstwą pasywną, średnia wartość gęstości prądu korozji wyznaczona metodą Sterna była około 10-krotnie niższa niż dla materiału bez warstwy pasywnej. Obserwowano dla nich również łagodniejszy przebieg krzywych polaryzacyjnych w początkowym zakresie krzywych anodowych.

<sup>1</sup>Katedra Materiałoznawstwa, Wytrzymałości i Spawalnictwa, Politechnika Wrocławska, Członek Komisji IB Oddziału PAN we Wrocławiu

<sup>2</sup>Katedra Mechaniki i Inżynierii Materiałowej, Politechnika Wrocławska

### 3. WPŁYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA ODPORNOŚĆ KOROZYJNĄ IMPLANTU

W przedstawionej pracy wykonano pomiary stałoprądowe na stopie tytanu Ti6Al4V w samym roztworze Ringera (pH=6,5), roztworze Ringera z glukozą (pH=6,2) i z kwasem askorbinowym (pH=3,5). Dzięki temu, dokonano oceny ich wpływu na odporność korozyjną stopu. Badania elektrochemiczne wykazały charakterystyczny przebieg krzywej dla większości biomateriałów metalicznych. Aktywny obszar pasywacji materiału mieścił się w zakresie od potencjału Flade'go równego około 0,3V do potencjału przebicia o wartości 1,22 V. Wartości potencjałów  $E_{kor}$  dla wszystkich przypadków wzrastały wraz z obniżeniem się pH środowiska korozyjnego. Największe różnice zauważono pomiędzy próbką eksponowaną w samym roztworze Ringera, a w roztworze z dodatkiem kwasu askorbinowego ( $E_{kor} = -90$  mV).

### 4. PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wskazują, że zarówno lokalne uszkodzenia warstwy pasywnej, jak i zaburzenia w pH środowiska biologicznego wpływają na odporność korozyjną implantów wykonanych ze stopu Ti6Al4V. Uszkodzenia warstwy pasywnej obniżają właściwości elektrochemiczne stopu, do momentu odbudowania się warstwy pasywnej. Zakwaszenie środowiska wskutek obecności w roztworze Ringera kwasu askorbinowego wpływa pozytywnie na odporność korozyjną Ti6Al4V (najwyższa wartość  $E_{kor}$ , przy najniższej wartości  $i_{kor}$ ).

### LITERATURA

[1] Łaskawiec, J., Michalik R., Zagadnienia teoretyczne i aplikacyjne w implantach. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2002.

[2] Sławczewa Maria, Lachowicz Marzena: Wpływ uszkodzenia warstwy pasywnej stopu Ti6Al4V na jego odporność korozyjną. Materiały konferencyjne II Sympozjum Współczesna Myśl Techniczna w Naukach Medycznych i Biologicznych.



**Kamila Środa-Pomianek<sup>1</sup>, Berenika Szczęśniak-Sięga<sup>2</sup>, Wiesław Malinka<sup>1</sup>, Andrzej Pola<sup>1</sup>, Bartosz Pula<sup>3</sup>, Piotr Dzięgiel<sup>3</sup>, Krystyna Michalak<sup>1</sup>**

### **NOWA POCHODNA PIROKSYKAMU O POTENCJALNYM DZIAŁANIU PRZECIWNOWOTWOROWYM – BADANIA NA LEKOOPORNYCH KOMÓRKACH RAKA JELITA GRUBEGO**

Leczenie chorób nowotworowych metodą chemioterapii nie zawsze jest skuteczne, a istotnym czynnikiem związanym z niepowodzeniem terapii farmakologicznej jest rozwój oporności wielolekowej MDR (ang. multidrug resistance) na stosowane leki przeciwnowotworowe. W ciągu ostatnich lat pojawiło się wiele doniesień na temat przeciwnowotworowego potencjału niektórych powszechnie stosowanych leków nie-onkologicznych, takich jak niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ). Ponadto, niesteroidowe leki przeciwzapalne mogą zmniejszać ryzyko występowania nowotworów, w tym raka piersi, okrężnicy, płuc i żołądka. Uzyskanie nowych aktywnych związków o działaniu przeciwnowotworowym, które dodatkowo wykazywałyby zdolność do odwracania oporności wielolekowej, stanowiłoby ważny etap badań w dziedzinie chemioterapii chorób nowotworowych.

Piroksykam jest jednym z niesteroidowych leków przeciwzapalnych z grupy oksykamów. Lek ten znajduje zastosowanie m.in. w łagodzeniu objawów reumatoidalnego zapalenia stawów, działa również jako środek przeciwbólowy. Niesteroidowe leki przeciwzapalne są inhibitorami cyklooksygenazy, w tym cyklooksygenazy 2 (COX-2), enzymu, którego zwiększoną ekspresję obserwuje się w większości guzów litych.

Głównym celem badań było zaprojektowanie i synteza związków, które cechowałaby nie tylko zdolność do inhibicji aktywności COX-2, ale także do redukcji oporności wielolekowej MDR. Zaprojektowano tak strukturę związków, że do cząsteczki piroksykamu została wprowadzona arylopiperazyna w połączeniu z grupą karbonylową. Uzyskana pochodna piroksykamu wykazuje zdolność do hamowania wzrostu komórek raka

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biofizyki, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>2</sup> Katedra Chemii Leków, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>3</sup> Katedra Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

jelita grubego linii LoVo i LoVo/Dx, odpowiednio wrażliwych i opornych na doksorubicynę. W obu liniach komórkowych określono poziom ekspresji białek oporności wielolekowej i poziom odpowiadającego im mRNA. Badania zostały wykonane odpowiednio metodą immunodetekcji i PCR, podobnie jak doświadczenia mające na celu określenie poziomu ekspresji niektórych białek związanych z apoptozą i poziomu ekspresji cyklooksygenazy 2. Analiza ekspresji na poziomie białka wykazała, że badana pochodna piroksykamu obniża ekspresję transportera wielolekowego ABCB1 (P-gp), jak również antyapoptotycznego białka Bcl-2 oraz powoduje wzrost ekspresji proapoptotycznego białka Bax. Zaobserwowano, że związek ten obniża też poziom ekspresji cyklooksygenazy 2. Doświadczenia z wykorzystaniem cytometrii przepływowej umożliwiły ocenę zmian aktywności funkcjonalnej transportera ABCB1 w obecności nowosyntezy pochodnej piroksykamu. Uzyskane wyniki wskazują, że związek ten wykazuje cechy działania przeciwnowotworowego w przypadku testowanych linii raka jelita grubego.

Zastosowanie komputerowych metod modelowania molekularnego (HF/6-31G\*) pozwoliło na opisanie elektronowych i strukturalnych parametrów budowy cząsteczkowej nowej pochodnej. W dalszych badaniach właściwości kwantowo-mechaniczne zostaną skorelowane z aktywnością biologiczną (zmianą fenotypu MDR) na odpowiednio licznej grupie związków z grupy pochodnych niesteroidowych leków przeciwnowotworowych (badania QSAR).



---

**Przemysław Musz<sup>1</sup>**

## **INTELIgENTNY SYSTEM DO DIAGNOSTYKI TELEMETRYCZNEJ**

Szeroko rozpowszechniona aparatura do diagnostyki pacjentów, przyjmowanych na szpitalnych oddziałach ratunkowych (SOR), w większości przypadków pozwala na wykonanie pomiarów podstawowych parametrów życiowych, głównie układu krążenia (ciśnienie krwi – nieinwazyjny pomiar NIBP, EKG o pełnej lub zmniejszonej liczbie odprawień, saturacja krwi oraz tętno – SpO<sub>2</sub>), akcji oddechowej, a niejednokrotnie także parametrów gazometrycznych (kapnografia). Tego typu wielofunkcyjne urządzenia są często wykonywane w formie przenośnej (walizkowej), z dodaną funkcją defibrylacji, co umożliwia stosowanie ich przez wyjazdowe zespoły ratunkowe (załogi ambulansów, helikopterów medycznych, a także jednostki pogotowia górskiego i wodnego) [1]. Najczęściej jednak, przed dokonaniem właściwej diagnostyki wieloparametrowej, ratownicy wykonują podstawowe testy, mające na celu ocenę najistotniejszych funkcji życiowych poszkodowanej osoby (akcję serca i akcję oddechową, przytomność, perfuzję obwodową, etc.).

W przypadku zdarzeń masowych, pierwszym istotnym etapem akcji ratunkowej jest jednak ocena przybliżonej ilości rannych o różnych stopniach obrażeń oraz segregacja ich według ogólnie przyjętych algorytmów triażu ratunkowego, m.in. algorytmu START [2]. Ranni, po wykonaniu wstępnej diagnostyki, są klasyfikowani do grup, oznaczanych trzema kolorami (zielonym, żółtym oraz czerwonym), lub – w przypadkach nie rokujących – czarno-białą szachownicą.

Podstawowym problemem tej techniki, używającej najczęściej oznakowanych kolorystycznie opasek, jest brak reakcji na zmienny stan pacjentów, którzy zostali już wcześniej oznakowani w toku akcji ratunkowej. Do tej pory znane były – oprócz rozwiązań w pełni pasywnych – także opaski świecące, zbudowane w oparciu o energooszczędne diody LED. Nie były natomiast znane rozwiązania,

---

<sup>1</sup> Politechnika Wroclawska

pozwalające na ciągły monitoring stanu poszkodowanych i reakcję na ewentualne pogorszenie lub ustanie danych funkcji życiowych.

Proponowane rozwiązanie polega na zastosowaniu przyklejanych bezpośrednio na skórę pacjenta urządzeń telemedycznych, wyposażonych w czujniki parametrów fizjologicznych (m.in. pulsoksymetr [3], wzmacniacz EEG oraz akcelerometr), procesor przetwarzający dane, zasilacz akumulatorowy lub bateryjny oraz sygnalizator świetlny lub świetlno-dźwiękowy. Zadaniem urządzenia jest bezprzerwowo monitoring stanu pacjenta oraz raportowanie (za pomocą barwy i modulacji świecenia diod LED dużej mocy) bieżącego stanu ofiary. Ponadto, możliwy jest przekaz informacji raportowych bezpośrednio do centrali (zainstalowanej w wozie/helikopterze ratunkowym lub przenośnej), dzięki czemu koordynator akcji ratunkowej może otrzymywać w czasie rzeczywistym informacje na temat aktualnej ilości ofiar, zaklasyfikowanych do danej grupy priorytetu.

System został opracowany przez autora w 2012 roku i obecnie trwają prace nad uruchomieniem prototypu urządzenia.

#### LITERATURA

[1] *LIFEPAK 15 Monitor/Defibrillator Brochure for EMS*, dostępne w internecie: [http://www.physio-](http://www.physio-control.com/uploadedFiles/Physio85/Contents/Emergency_Medical_Care/Products/Broc_hures/LP15_Prehospital_Brochure_3301019_D.pdf)

[control.com/uploadedFiles/Physio85/Contents/Emergency\\_Medical\\_Care/Products/Broc\\_hures/LP15\\_Prehospital\\_Brochure\\_3301019\\_D.pdf](http://www.physio-control.com/uploadedFiles/Physio85/Contents/Emergency_Medical_Care/Products/Broc_hures/LP15_Prehospital_Brochure_3301019_D.pdf), dostęp: 17.04.2014

[2] U.S. Department of Health & Human Services, *START Adult Triage Algorithm*, dostępne w internecie: <http://chemm.nlm.nih.gov/startadult.htm>, dostęp: 17.04.2014

[3] Li, K., & Warren, S. (2012). *A wireless reflectance pulse oximeter with digital baseline control for unfiltered photoplethysmograms*, dostępne w internecie: <http://krex.ksu.edu>, dostęp 17.04.2014



**Adam Oleszko<sup>1,2</sup>, Sylwia Olsztyńska-Janus<sup>1</sup>, Małgorzata Komorowska<sup>1,2</sup>, Wojciech Witkiewicz<sup>2</sup>**

### **WPLYW PROMIENIOWANIA Z ZAKRESU BLISKIEJ PODCZERWIENI I TEMPERATURY NA STRUKTURY II- RZĘDOWE FIBRYNOGENU – BADANIA PRZY UŻYCIU SPEKTROSKOPII FTIR-ATR**

Struktura białek ma wpływ na ich właściwości adsorpcyjne. Każda zmiana konformacyjna białek może oddziaływać na właściwości powierzchniowe. Jednym z czynników modyfikujących struktury II-rzędowy białek w roztworach wodnych jest promieniowanie z zakresu bliskiej podczerwieni (NIR, ang. Near Infrared). Z literatury [1] wynika, że działanie NIR na czystą wodę ma wpływ na wartość jej iloczynu jonowego, zwiększając prawdopodobieństwo transferu jonów  $H^+$  wzdłuż wiązania wodorowego między dwiema cząsteczkami wody. Proces ten nie jest związany ze zmianą temperatury i nie ustaje bezpośrednio po zakończeniu naświetlania. Jeśli naświetlaniu poddany zostanie wodny roztwór białka, wówczas na skutek wzmożonego transferu jonów  $H^+$  między nim a cząsteczkami wody, może ulec zmianie przestrzennej rozkład ładunków cząsteczki białka, a w konsekwencji jego struktura. W przeprowadzonych wcześniej badaniach w naszym zespole dowiedziono, że naświetlanie krwi przepływającej przez dializator powoduje zmniejszoną adsorpcję białek osocza i tworzenie skrzepów na powierzchni dializatora. Jednym z białek krwi jest fibrynogen, który bierze udział w procesie krzepnięcia. Celem badań było zatem sprawdzenie, czy obserwowany efekt ma związek ze zmianami struktur II-rzędowych fibryno genu podczas naświetlania promieniowaniem NIR.

Materiałem badawczym był fibrynogen w buforowanym roztworze soli PBS. Przygotowany roztwór został poddany działaniu temperatury w zakresie 30–80°C) przed i po naświetlaniu promieniowaniem NIR przy użyciu filtru o długości fali 900–1300 nm (parametry naświetlania: czas

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Politechnika Wrocławska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

<sup>2</sup> Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, ul. Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław

0, 5, 15, 30, 60 minut, moc 10 mW/cm<sup>2</sup>). Przeanalizowano wpływ czasu naświetlania NIR oraz temperatury na zmiany ilościowe struktur II-rzędowych białka oraz zachodzący proces denaturacji. Badania spektroskopowe przy użyciu metody ATR wykazały denaturację fibrynogenu w temperaturze około 60°C, co jest zgodne z danymi literaturowymi [2]. Po jej przekroczeniu nie obserwowano dalszych zmian w strukturach II-rzędowych. Mniejsze zmiany strukturalne zaobserwowano pod wpływem naświetlania promieniowaniem NIR.

Autorzy sugerują, że modyfikacja struktury fibrynogenu pod wpływem promieniowania NIR może prowadzić do zmiany właściwości adsorpcyjnych, dzięki czemu obserwuje się mniejsze osadzanie się skrzepów na powierzchni drenów, na przykład w układzie krążenia pozaustrojowego. Taki kierunek rozwoju naszych badań niesie za sobą aspekty ekonomiczne, a promieniowanie NIR wydaje się mieć ochronne działanie na składniki krwi przepływające przez elementy układów krążenia pozaustrojowego.

#### PODZIĘKOWANIA

Publikacja jest częścią projektu “Wrovasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo – Naczyniowej”, współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007-2013 realizowanego w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Ośrodku Badawczo-Rozwojowym. Do badań wykorzystano przystawkę ATR zakupioną w ramach grantu MNiSW „Wyposażenie aparaturowe Środowiskowego Laboratorium Biooptyki w Instytucie Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej” Nr 6180/IA/119/2012.

#### LITERATURA

- [1] W. Natzle, B. Moore, D. Goodall, W. Frisch, J. Holzwarth, Dissociative ionization of water induced by single-photon vibrational excitation, *The Journal of Physical Chemistry*, 85, 1981, 2882-2884.
- [2] Y. Chen, H. Mao, X. Zhang, Y. Gong, N. Zhao, Thermal conformational changes of bovine fibrinogen by differential scanning calorimetry and circular dichroism, *International Journal of Biological Macromolecules*, 26, 1999, 129-134.



**Krzysztof J. Opieliński<sup>1</sup>, Elżbieta Tubis<sup>1</sup>, Tadeusz Gudra<sup>1</sup>**

## **FANTOM RUCHU ZASTAWKI SERCA**

Uwidocznienie struktur wewnątrz-sercowych, ocena ich zmian anatomicznych i czynnościowych umożliwia dokładne określenie postaci i stopnia wady oraz zaawansowania jej następstw hemodynamicznych. W większości przypadków nabytych wad serca, echokardiografia wnosi informacje wystarczające do podjęcia decyzji o leczeniu zachowawczym bądź operacyjnym, bez konieczności wykonywania cewnikowania serca. Coraz więcej klinik operuje również wrodzone wady serca na podstawie rozpoznania echokardiograficznego. Warunkiem koniecznym jest jednak aparatura wysokiej jakości i duże doświadczenie zespołu badającego. Prawidłowe wykonanie badania echokardiograficznego i jego interpretacja wymaga dokładnej znajomości echokardiograficznej anatomii serca w wielu przekrojach i opanowania techniki badawczej. Optymalny obraz różnych struktur wewnątrz-sercowych uzyskuje się dzięki odpowiednim projekcjom, które określają miejsce przyłożenia głowicy oraz płaszczyznę uzyskiwanego przekroju serca. Ich znajomość i umiejętność poszukiwania poszczególnych patologii w różnych ujęciach jest niezbędnym warunkiem uzyskania wiarygodnych wyników.

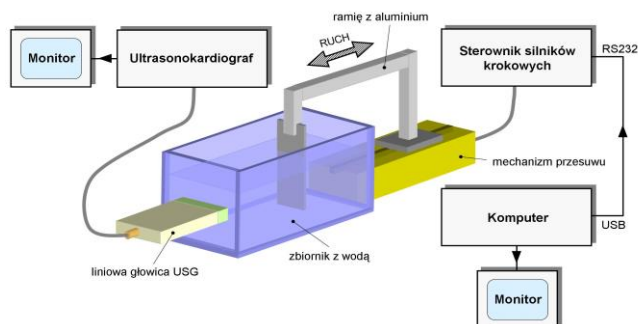
W ramach niniejszych badań opracowano sterowany komputerowo fantom ruchu zastawki serca umożliwiający ultrasonokardiograficzne obrazowanie pracy zastawki. Na podstawie echokardiogramów w prezentacji M zamieszczonych w literaturze, stworzono przykładową bazę wzorców ruchu zastawki w czasie dla serca zdrowego oraz z różnymi wadami. Wzorce te przetworzone zostały za pomocą oprogramowania komputerowego na odpowiednie komendy, które sterują mechanizmem przesuwu z silnikiem krokowym nadającym ruch płytce i przesuwaną ją o zadane wartości wychyleń z ustalonymi prędkościami. Płytke umieszczono w naczyniu z wodą. Do ścianki naczynia przykładając można głowicę dowolnego ultrasonokardiografu. Za pomocą takiej ultradźwiękowej wizualizacji uzyskiwany jest echokardiogram będący odwzorowaniem zadanego ruchu zastawki serca. Opracowane oprogramowanie umożliwia również szybkie wprowadzanie dowolnych, nowych wzorców ruchu pozwalających na modelowanie zmian chorobowych. W niniejszej pracy ograniczono się do odwzorowania ruchu zastawki mitralnej.

Fantom ruchu zastawki serca składa się z trzech podstawowych elementów: komputera osobistego, sterownika wraz z mechanizmem przesuwu liniowego, cienkościennego zbiornika na wodę ze szkła lub pleksi (rys.1). Sterownik steruje pracą liniowego mechanizmu przesuwu, który porusza w przód i w tył przymocowane do niego sztywne ramię wykonane z aluminium, na którym umocowana jest prostokątna płytka. Płytka zanurzona jest w szklanym naczyniu z wodą. Liniowa głowica USG mocowana jest za pomocą specjalnego uniwersalnego uchwytu przy ścianie zbiornika, a

<sup>1</sup> Katedra Akustyki i Multimediów, Wydział Elektroniki, Politechnika Wrocławska, Wyb. Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław; krzysztof.opielinski@pwr.edu.pl

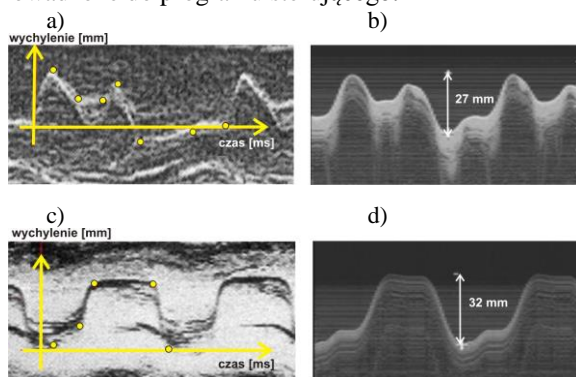
jej powierzchnia sprzęgana jest akustycznie z powierzchnią ścianki za pomocą żelu. Sterowanie parametrami ruchu płytki realizowane jest z poziomu programu komputerowego.

Do wyznaczenia funkcji ruchu fantomu wykorzystano wzorcowe echokardiogramy jednowymiarowe w projekcji przymostkowej obrazujące oś długą lewej komory serca. Fantom ruchu zastawki serca przetestowano za pomocą posiadanego ultrasonokardiografu Hitachi-Picker LS 2400, przykładając głowicę liniową o częstotliwości pracy 3.5 MHz do ścianki naczynia za pośrednictwem żelu sprzęgającego i rejestrując echogramy w prezentacji M, odpowiadające ruchom płytki.



Rys.1. Budowa fantomu ruchu zastawki serca.

Optymalizacja wyników polegała na sprecyzowaniu parametrów ruchu płytki i materiału, z jakiego jest ona wykonana. Na rys.2 zestawiono pochodzące z literatury, wzorcowe echokardiogramy w prezentacji M zastawki mitralnej serca z echokardiogramami uzyskanymi za pomocą sterowanego komputerowo fantomu. Na echokardiogramach wzorcowych naniesiono wyznaczone funkcje ruchu, które zostały wprowadzone do programu sterującego.



Rys.2. Obraz USG w prezentacji M: ruchu zastawki mitralnej w zdrowym sercu (a), symulacji tego ruchu za pomocą płytki z gumy (b), ruchu zastawki mitralnej z cianym żwężeniem (c), symulacji tego ruchu za pomocą płytki z pleksi (d).

Opracowany fantom umożliwia zapoznanie się z dynamiką ruchu zastawek serca oraz wizualizację w czasie rzeczywistym echokardiogramów odwzorowanych z rzeczywistych badań zastawki serca za pomocą dowolnego, używanego w danej placówce medycznej aparatu USG z prezentacją M, dzięki czemu może służyć kształceniu przyszłych kardiologów.



**Monika Owczarek<sup>1</sup>, Bartosz Puła<sup>1</sup>, Agnieszka Gomulkiewicz<sup>1</sup>, Piotr Dzięgiel<sup>1</sup>, Sylwia Borska<sup>1</sup>**

## **Wpływ Resweratrolu na komórki raka trzustki o obniżonej aktywności topoisomerazy II**

Stale aktualnym problemem w terapii nowotworów jest oporność wielolekowa. Niewrażliwość na stosowane leki spowodowane jest istnieniem różnych mechanizmów, jakie wykształciły komórki w wyniku mutacji. Do klasycznych zaliczyć należy m.in. istnienie pomp transmembranowych z rodziny ABC odpowiedzialnych za usuwanie leków na zewnątrz komórki. Zaś wśród nietypowych mechanizmów na szczególną uwagę zasługuje obniżony poziom topoisomerazy typu II (Topo II) - enzymu, który katalizuje topologiczne modyfikacje DNA. Aktywność biologiczna tego białka opiera się na usuwaniu węzłów i rozluźnianiu splecionej struktury heterochromatyny przez naprzemienne cięcie wiązań fosfodiesterowych, przemieszczanie jednej dwuniciowej helisy względem drugiej i ponowną ligację wiązań. Topo II jest więc niezbędna wtedy, gdy komórka przygotowuje się do podziału i wymaga niesplątanej matrycy DNA. Zaburzenia tego procesu prowadzą do śmierci komórki, dlatego też stale trwają poszukiwania specyficznych inhibitorów hamujących aktywność Topo II. Wiele badań wykazało jednak, że również obniżony poziom ekspresji genu kodującego Topo II i zmniejszona ilość białka enzymatycznego w komórkach, może powodować oporność na leczenie. Dzieje się tak dlatego, ponieważ Topo II stanowi molekularny cel dla niektórych leków cytostatycznych.

Wzrastająca liczba literatury naukowej na temat resweratrolu dowodzi istnienia aktywności przeciwnowotworowej tej substancji względem różnych typów chorób nowotworowych, m.in. raka trzustki. Resweratrol może działać na komórki nowotworowe poprzez różne mechanizmy, w tym wpływ na enzymy mające istotne znaczenie dla zjawiska oporności na chemioterapię.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii

W badaniach *in vitro* wykorzystano linie EPP85-181: P (ang. parental, niewykazująca oporności), RDB (ang. resistant to daunorubicin, oporna na daunorubicynę - DB, oporność klasyczna) oraz RNOV (ang. resistant to novantron, oporna na novantron/mitoksantron - MTX, oporność nietypowa). Stosując kolorymetryczny test cytotoksyczności z sulforodaminą B (SRB), zbadano wpływ obecności różnych stężeń resweratrolu na zdolność proliferacji hodowli. Spośród uzyskanych wyników wybrano te stężenia polifenolu, które w istotny statystycznie sposób wpływały na obniżenie ilości komórek, tj. 30  $\mu\text{M}$  i 50  $\mu\text{M}$ . Wyznaczone stężenia resweratrolu zostały połączone w różnych kombinacjach z DB i MTX i tak hodowane linie posłużyły do określenia zmian ekspresji genów kodujących dwie izoformy Topo II (Topo2A, Topo2B) pod wpływem substancji cytotoksycznych. W tym celu wykonano Real-Time PCR, a następnie dla potwierdzenia uzyskanych wyników na poziomie białka zastosowano badanie Western Blot.

Wykazano, iż ekspresja genów kodujących enzym zmieniała się pod wpływem resweratrolu. Wyniki dla linii kontrolnej EPP85-181P potwierdziły hamujący wpływ cytostatyków na ekspresję Topo2A i Topo2B. Natomiast w linii EPP85-181RNOV, której oporność oparta jest na bardzo niskim poziomie Topo II, zanotowano zwiększenie ilości tego białka w przypadku obu występujących izoform oraz wzrost ekspresji genów, które je kodują. Podobne wyniki uzyskano w linii EPP85-181RDB, której oporność na leczenie związana jest głównie z podwyższoną aktywnością P-glikoproteiny, co może świadczyć o istnieniu dodatkowego mechanizmu blokującego działanie cytostatyku w tej linii.

Wzrost ilości Topo II pod wpływem resweratrolu w komórkach linii o nietypowym mechanizmie oporności polegającym na bardzo niskiej aktywności tego enzymu daje szansę na skuteczność leczenia. W tym przypadku wyższy poziom Topo II zwiększa ilość obiektów dla chemioterapeutyków hamujących jego aktywność, głównie z grupy antracyklin. Dlatego też resweratrol może być brany pod uwagę, jako substancja obniżająca oporność komórek nowotworowych.



**Magdalena Wojtków<sup>1</sup>, Łukasz Kubaszewski<sup>2</sup>, Jacek Kaczmarczyk<sup>2</sup>,  
Celina Pezowicz<sup>1,\*</sup>**

### **Wpływ metody implantacji śruby transpedikularnej na trwałość połączenia śruba-kość krzyżowa**

Najpoważniejszym powikłaniem występującym przy stabilizacji kręgosłupa za pomocą implantów jest utrata połączenia pomiędzy śrubą

a kością, co skutkuje obluzowaniem się śruby i wtórną destabilizacją kolumny kręgosłupa. Na poziomie połączenia lędźwiowo-krzyżowego stosowana jest standardowa technika wprowadzania śrub transpedikularnych, która w wielu przypadkach kończy się niepowodzeniem w postaci obluzowania się śruby w tkance kostnej. Ma to swoje podstawy w budowie anatomicznej kości krzyżowej jak i dużą rozbieżność interpretacji miejsca wprowadzania śruby w polu operacyjnym. Dlatego też opracowano nową metodę wprowadzania śrub transpedikularnych w obręb kręgu S1. W metodzie tej jednoznacznie określono miejsce wprowadzenia śruby. Jej trajektoria przebiega przez obszar tkanki kostnej gąbczastej o największej gęstości w kręgu- usytuowana jest na przedłużeniu osi wyrostka stawowego. Dodatkowo dzięki wykonaniu osteotomii warstwy korowej wyrostka stawowego w celu uzyskania miejsca wprowadzenia śruby, uzyskuje się dodatkowe podparcie implantu od dołu. Podparcie to stanowi podwójna warstwa korowa tworząca dolny biegun wyrostka stawowego kręgu S1 [1].

Celem prezentowanej pracy jest porównanie trwałości połączenia śruba-kość krzyżowa w teście na wrywanie dla metody standardowej oraz metody nowej.

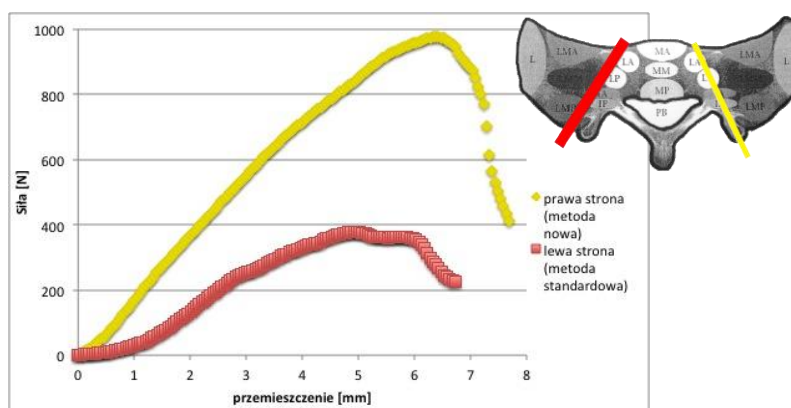
Badania przeprowadzono na 6 preparatach kości krzyżowej (materiał sekcyjny, wiek 71÷85 lat, 2 kobiety, 4 mężczyzn). W kręgu S1 tego samego preparatu wprowadzono śruby transpedikularne (śruba SOCORE firmy Novaspine, materiał Ti6Al4V, średnica 6 mm) z wykorzystaniem

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wroclawska, ul. Łukasiewicza 7/9, 50-371 Wrocław

\*email: celina.pezowicz@pwr.wroc.pl

<sup>2</sup> Klinika Ortopedii i Traumatologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Ortopedyczno-Rehabilitacyjny Szpital Kliniczny nr 4 w Poznaniu.

standardowej techniki implantacji (lewa strona kręgu) i nowej (prawa strona kręgu). Badania przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej MTS 858 MiniBionix. W pierwszym etapie śruba obciążana była cykliczną siłą działającą prostopadle do jej osi długiej a następnie realizowano wyrwanie. Test na wyrwanie polegał na obciążeniu śruby siłą działającą wzdłuż jej osi, z prędkością 2 mm/min, aż do momentu wyrwania śruby z kości. Przykładową charakterystykę zmiany siły w funkcji przemieszczenia przedstawiono na rys. 1.



Rys.1. Przykładowy przebieg charakterystyk zmiany siły w funkcji przemieszczenia dla śrub transpedikularnych zaimplantowanych metodą standardową oraz metodą nową

Średnia siła wyrwania uzyskana dla śrub wprowadzonych z wykorzystaniem techniki standardowej wyniosła  $498 \pm 200$  N, natomiast z zastosowaniem nowej metody  $1444 \pm 532$  N (różnice istotne statystycznie  $p < 0,05$ ). Średnie przemieszczenie śruby (do momentu utraty połączenia między kością a śrubą) dla metody standardowej wyniosło  $4,42 \pm 1,24$  mm, dla metody nowej  $5,59 \pm 1,52$  mm.

Otrzymane wyniki potwierdzają, iż zastosowanie nowej metody wprowadzenia śrub transpedikularnych znacząco zwiększa trwałość połączenia między śrubą a podłożem kostnym, a zarazem stabilność implantacji. Skutkiem tego jest mniejsze ryzyko wystąpienia powikłań związanych z obłuzowaniem się śrub transpedikularnych zaimplantowanych pacjentom.

#### LITERATURA

Ł. Kubaszewski, J. Kaczmarczyk, A. Nowakowski, A modified technique of placing transpedicular screw into the S1 vertebrae-surgical technique note, Pol. Orthop. Traumat., 2013, 78:101-104.



**Krzysztof Pietryga<sup>1,\*</sup>, Lucie Bacakova<sup>2</sup>, Elżbieta Pamuła<sup>1</sup>**

## **ZMINERALIZOWANE HYDROZELE POLISACHARYDOWE DO LECZENIA UBYTKÓW TKANKI KOSTNEJ**

Enzymatyczna metoda mineralizacji hydrożeli jest obiecującym sposobem uzyskiwania rusztowań do odbudowy tkanki kostnej. Polega ona na inkubacji w roztworze glicerofosforanu wapnia (CaGP) hydrożeli wzbogaconych w enzym (np. fosfatazę alkaliczną - ALP), co sprawia, że na powierzchni jak i wewnątrz hydrożeli pojawiają się wydzielena fazy mineralnej (fosforany wapnia - CaP). Dzięki obecności CaP materiał jest sztywny i bardziej odpowiedni do odbudowy tkanki kostnej. W niniejszej pracy próbki hydrożeli gumy gellan (GG) z dodatkiem 0,5 mg/ml ALP poddano procesowi mineralizacji enzymatycznej w 0,1 M CaGP przez 1 i 7 dni.

W celu oceny ilości fazy CaP wyznaczony został procent suchej masy próbek. Rozlokowanie fazy mineralnej obserwowano na obrazach mikroskopowych. Wykonano ponadto testy mechaniczne. Na materiałach hodowano komórki osteoblastopodobne (MG-63) przez 1, 4 i 7 dni. Żywotność komórek określano przy pomocy testu MTS i life/dead. Dzięki mineralizacji otrzymano sztywne hydrożele GG z dużym udziałem fazy mineralnej. Wzrost komórek miał miejsce na wszystkich typach materiałów, jednak nie stwierdzono istotnych różnic w tempie ich proliferacji. Zarówno na żelach zmineralizowanych jak i bez mineralizacji komórki wykazywały ograniczoną adhezję. Przyczyną tego było wymywanie CaP z powierzchniowej warstwy materiału, przez co komórki bezpośrednio kontaktowały się z hydrożelem a nie ze sztywną, bardziej korzystną dla nich fazą mineralną.

---

<sup>1</sup> AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Biomaterials, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland, \*pietryga@agh.edu.pl

<sup>2</sup> Academy of Sciences of the Czech Republic, Institute of Physiology Department of Biomaterials and Tissue Engineering, Videnska 1083, CZ-14220 Prague 4 - Krc Czech Republic

Wykazano, że proces wymywania fazy mineralnej można ograniczyć przez zmianę stężenia żelu, co dobrze rokuje w kontekście wykorzystania opracowywanych materiałów do odbudowy ubytków tkanki kostnej.

Praca została sfinansowana z badań statutowych AGH (11.11.160.256).



**Urszula Posadowska<sup>1\*</sup>, Monika Brzychez-Wloch<sup>2</sup>, Elżbieta Pamuła<sup>1</sup>**

## **SYSTEMY MIEJSCOWEGO DOSTARCZANIA WANKOMYCYN DO LECZENIA I ZAPOBIEGANIA INFEKCIOM W UKŁADZIE KOSTNYM**

Niemal 5% interwencji chirurgicznych w układzie kostnym wiąże się z zainfekowaniem miejsca operowanego szczepami gronkowców. W efekcie dochodzi do rozwoju stanu zapalnego (osteomyelitis), martwicy kości oraz nadkażenia okolicznych tkanek miękkich. Zakażeniom zapobiega się przez długotrwałe podawanie wysokich dawek antybiotyków. Ogólnoustrojowa terapia poza uciążliwością i często niską skutecznością daje wiele skutków ubocznych (oto-, nefrotoksyczność, rozwój alergii, dolegliwości ze strony układu pokarmowego). Korzystnym rozwiązaniem jest opracowanie metody modyfikacji powierzchni implantów kostnych, tak by wraz z nimi dostarczać antybiotyk (preferencyjnie jako system dostarczania leku) i w ten sposób zapobiegać zakażeniom. Wankomycyna ze względu na szerokie spectrum działania przeciw gronkowcom, w tym szczepom wielolekoopornym, oraz synergizm z gentamycyną jest skutecznym i wydajnym antybiotykiem w leczeniu zakażeń kostnych. Lek ten może być jednak stosowany jedynie dożylnie z uwagi na niską biodostępność. W niniejszej pracy opracowano sposób otrzymywania nanocząstek z kopolimeru

L-laktydu z glikolidem (PLGA) z wankomycyną. Oceniono ich rozmiar, potencjał zeta, określono parametry solubilizacji oraz profil uwalniania leku. Zbadano też cytozgodność w kontakcie z komórkami kostnymi

MG-63. Aktywność biologiczną opracowanych systemów potwierdzono metodą Kirby-Bauera na dwóch szczepach gronkowców (szczep referencyjny *Staphylococcus aureus* 24167 DSM oraz metacylinooporny szczep kliniczny MRSA wyizolowany od pacjenta z zakażenia kości). Uzyskane wyniki wskazują, że nanocząstki z wankomycyną mogą stanowić obiecujące rozwiązanie w leczeniu oraz

<sup>1</sup> AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland; \*uposadow@agh.edu.pl

<sup>2</sup> Jagiellonian University, Medical College, Department of Microbiology, ul. Czysta 18, 31-121 Kraków, Poland

zapobieganiu zakażeniom kostnym towarzyszącym zabiegom chirurgicznym.

Praca została sfinansowana ze środków NCN (2012/05/B/ST8/00129).



**Jan Procek<sup>1</sup>, Marek Langner<sup>1</sup>**

## **WYKORZYSTANIE GRADIENTU JONÓW MIEDZI DO AKTYWNEGO ZAMYKANIA DISULFIRAMU W LIPOSOMACH**

Disulfiram jest lekiem z grupy ditiokarbaminianów stosowanym w leczeniu chronicznego alkoholizmu, dla którego wykazano potencjalne działanie przeciwnowotworowe [1].

Badania *in vitro* na nowotworowych liniach komórkowych wykazały, że działanie przeciwnowotworowe disulfiramu może zostać wzmocnione poprzez jednoczesne podawanie jonów metali (np.  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ) lub przez zastosowanie gotowych kompleksów [2]. Niestety, disulfiram i jego metalo-kompleksy cechują się niską rozpuszczalnością, a wyższa skuteczność przeciwnowotworowa kompleksów skutkuje również wyższą aktywnością przeciw białkom obecnym w krwi, co powoduje szybkie usuwanie leku z krwioobiegu. Potencjalnym rozwiązaniem jest zastosowanie liposomów jako nośnika oddzielnie dla disulfiramu oraz dla jonów miedzi [3]. Jednakże, biernie zamykanie disulfiramu w dwuwarstwach lipidowych cechuje się niską wydajnością, która wynosi około 4,5mol% w stosunku do lipidu [Procek, Langner, nieopublikowane], co stwarza konieczność znalezienia innej metody enkapsulacji. Proponowanym rozwiązaniem jest wykorzystanie jonów miedzi do aktywnego zamykania disulfiramu w liposomach. W metodzie tej wykorzystuje się w niej różnicę w stężeniach jonów miedzi wewnątrz i na zewnątrz liposomów do wytrącania kompleksów wewnątrz liposomów. Dotychczas metoda ta została z powodzeniem użyta tylko do zamykania leków dobrze rozpuszczalnych w wodzie m.in. doksorubicyny, mitoksantronu czy topotekanu [4-6].

Przedmiotem badań było sprawdzenie użyteczności tej metody aktywnego zamykania disulfiramu, leku praktycznie nierozpuszczalnego w wodzie oraz optymalizacja warunków eksperymentu. W pierwszym etapie określono maksymalną ilość jonów miedzi możliwą do zamknięcia w wnętrzu 100nm liposomów oraz stabilność wytworzonego gradientu. W kolejnym etapie wybrany został najlepszy rozpuszczalnik dla

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska, Wrocław

disulfiramu i przeprowadzony został proces aktywnego ładowania. Następnie oceniano stabilność wytworzonych agregatów oraz zmierzono zawartość kompleksu w liposomach wykorzystując metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

#### LITERATURA

- [1] D. Chen, Q. C. Cui, H. Yang, Q. P. Dou; *Cancer Res* 2006;66:10425-10433.
- [2] Cen, D. Z.; Brayton, D.; Shahandeh, B.; Meyskens, F. L.; Farmer, P. J. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 6914– 6920
- [3] W. Wang; 2012; WO 2012076897 A1
- [4] A. S. Taggar, J. Alnajim, M. Anantha, A. Thomas, M. Webb, E Ramsay, M. B. Bally; *Journal of Controlled Release* 114 (2006) 78–88
- [5] T. Tagami, J. P. May, M. J. Ernsting, S. D. Li; *Journal of Controlled Release* 161 (2012) 142–149
- [6] C. Li, J. Cui, Y. Li, C. Wang, Y. Li, L. Zhang, L. Zhang, W. Guo, J. Wang, H. Zhang, Y. Hao, Y. Wang; *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 34 (2008) 333–344



**Magdalena Przybyło<sup>1</sup>, Dominik Drabik<sup>1</sup>, Maciej Łukawski<sup>1</sup>, Marek Langner<sup>1</sup>**

## **WPLYW JEDNOWARTOŚCIOWYCH JONÓW NA TRANSPORT WODY PRZEZ BŁONY BIOLOGICZNE**

W układach biologicznych hydrofobowe bariery oddzielają od siebie różnorodne przestrzenie wodne. Bariery te są tworzone przez błony biologiczne, zbudowane z dwuwarstwy lipidowej. Stanowią strukturę wspierającą dla białek, umożliwiając ich przestrzenną organizację i właściwe ustawienie, kluczowe dla wykonywanego zadania.

Dwuwarstwy lipidowe zanurzone w wodzie mogą być traktowane jako dwufazowy układ, oddzielony interfazami. Interfazy te stanowią obszary przejściowe, których właściwości są ściśle związane ze składem zarówno fazy wodnej jak i dwuwarstwy lipidowej. Struktura i dynamika interfazy może mieć wpływ na zachowanie rdzenia dwuwarstwy lipidowej, co wpływa na zmiany w parametrach takich jak osmotycznie generowany przepływ wody. Dobrze znany jest wpływ składu dwuwarstwy lipidowej na zjawiska takie jak transport wody w poprzek błony, natomiast rola fazy wodnej nie została dotychczas w pełni scharakteryzowana.

Jony obecne w fazie wodnej mają różny wpływ na struktury biologiczne. Najbardziej ogólnie można podzielić jony na dwa rodzaje, chaotropy i kosmotropy. Chaotropy silnie oddziałują z dwuwarstwą lipidową, podczas gdy kosmotropy mają na nią niewielki wpływ.

W pracy określono zależność osmotycznie indukowanego transportu wody od rodzaju i ilości jonów obecnych w fazie wodnej, dwufazowego układu jednowarstwowych liposomów w roztworach wodnych. Jako metodę pomiarową wykorzystano detektor światła rozproszonego z zatrzymanym przepływem (stopped-flow), która wykazuje dużą czułość na zmiany właściwości optycznych dwuwarstwy lipidowej, związanych bezpośrednio z obecnością jonów w interfazie. W doświadczeniach wykazano brak zmian współczynnika przepuszczalności dwuwarstwy lipidowej dla wody w obecności jonów o różnej sile

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Wydział Podstawowych Problemów Techniki, Politechnika Wrocławska, Wrocław

oddziaływania z dwuwarstwą, oraz przy zmieniających się stężeniach tych jonów. Oznacza to, że skład fazy wodnej, w której znajdują się dwuwarstwy lipidowe, nie wpływa na zdolność osmotycznie generowanego przepływu wody w poprzek błony.



**Bartosz Puła<sup>1\*</sup>, Mateusz Olbromski<sup>1\*</sup>, Aleksandra Ambicka<sup>2</sup>,  
Agnieszka Gomulkiewicz<sup>1</sup>, Janusz Ryś<sup>2</sup>, Marzena Podhorska-  
Okolów<sup>1</sup>, Siew Hwa Ong<sup>3</sup>, Piotr Dzięgiel<sup>1,4</sup>**

**BIAŁKO INDUKOWANE PROLAKTYNĄ (PIP) JAKO NOWY  
MARKER PROGNOSTYCZNY I PREDYKCYJNY  
INWAZYJNEGO RAKA PRZEWODOWEGO GRUCZOŁU  
PIERSIOWEGO**

Rak gruczołu piersiowego stanowi jeden z najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych kobiet. Głównym typem histologicznym tego nowotworu jest inwazyjny rak przewodowy (IDC, invasive ductal carcinoma), którego terapia polega w większości przypadków na resekcji chirurgicznej zmiany połączonej z adjuwantową chemio- i radioterapią. Pomimo znacznych postępów w leczeniu IDC, jego efekty te pozostają nadal mało zadowalające.

W Katedrze i Zakładzie Histologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, we współpracy z Acumen Research Laboratories (Singapur) oraz Wrocławskim Centrum Badań EiT+ podjęto próbę identyfikacji nowych markerów predykcyjnych pozwalających na optymalizację chemioterapii IDC. Przeprowadzono badanie (z wykorzystaniem techniki mikromacierzy) mające na celu określenie ekspresji transkryptów w grupie 28 pacjentek z IDC, spośród których 14 odpowiedziało na leczenie adjuwantowe (responders), a pozostałe 14 nie (non-responders). W wyniku przeprowadzonych eksperymentów wytypowano jeden gen kodujący – PIP (prolactin inducible protein – białko indukowane prolaktyną), którego ekspresja różniła się istotnie pomiędzy ww. badanymi grupami. Wykorzystując technikę real-time PCR zweryfikowano otrzymane rezultaty, potwierdzając wyższą ekspresję

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu;  
\*równorzędni pierwsi autorzy

<sup>2</sup> Zakład Patologii Nowotworów, Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie,  
Oddział w Krakowie

<sup>3</sup> Acumen Research Laboratories, NUS Incubation Center, Singapur

<sup>4</sup> Katedra Fizjoterapii i Terapii Zajęciowej w Medycynie Zachowawczej i  
Zabiegowej, Akademia Wychowania Fizycznego we Wrocławiu

mRNA PIP w grupie pacjentek "responder" w porównaniu do grupy "non-responder" ( $p<0.01$ ).

PIP to glikoproteina o masie 15 kDa i właściwościach proteazy aspartylowej. Występuje zarówno w komórkach prawidłowych jak również w nowotworowych, szczególnie tych wykazujących cechy różnicowania apokrynowego. Rola tej glikoproteiny w organizmie jest mało poznana, jednak w związku z występowaniem PIP w różnych wydzielinach ustrojowych (mleko, ślina, nasienie) postulowana jest jej rola w hamowaniu wzrostu bakterii, formowaniu szkliwa czy procesie zapłodnienia. Ekspresję PIP zaobserwowano także w komórkach IDC. Spośród badanych podtypów tych raków, najniższą ekspresję PIP wykazano w tzw. przypadkach potrójnie ujemnych (triple negative, brak ekspresji receptorów estrogenowych - ER, progesteronowych - PR oraz HER2), które charakteryzują się najmniej korzystnym przebiegiem klinicznym.

W przeprowadzonych przez nas badaniach pilotażowych na grupie 28 przypadków IDC, niski poziom ekspresji mRNA PIP związany był z fenotypem ER- ( $p=0.05$ ) oraz potrójnie ujemnym ( $p<0.05$ ). Ponadto, wysoki poziom ekspresji mRNA PIP korelował z dłuższym czasem przeżycia wolnym od wznowy ( $p<0.01$ ) oraz wolnym od przerzutów ( $p<0.05$ ). Wstępne wyniki badań potwierdzono na grupie 120 przypadków IDC z wykorzystaniem techniki real-time PCR. Zaobserwowano, że niski poziom ekspresji mRNA PIP związany był z brakiem ekspresji ER ( $p<0.0001$ ), PR ( $p<0.0001$ ) oraz fenotypem potrójnie ujemnym ( $p<0.0001$ ) w analizowanej grupie przypadków. Ponadto, potwierdzono znaczenie wysokiego poziomu ekspresji mRNA PIP, jako dobrego czynnika prognostycznego przeżycia wolnego od wznowy ( $p<0.0001$ ) oraz wolnego od przerzutów ( $p<0.001$ ).

Otrzymane wyniki wskazują na potencjalną rolę PIP w progresji IDC oraz w zjawisku chemooporności. Ponadto, poziom ekspresji mRNA PIP stanowić może nowy czynnik prognostyczny oraz predykcyjny tego nowotworu złośliwego.

„Badania sfinansowane zostały ze środków Wrocławskiego Centrum Badań EIT+ w ramach realizacji projektu „Biotechnologie i zaawansowane technologie medyczne” – BioMed (POIG.01.01.02-02-003/08) finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego”



**Łucja Rumian<sup>1</sup>, Katarzyna Reczyńska<sup>2</sup>, Małgorzata Wrona<sup>2</sup>, Hanna Tiainen<sup>3</sup>, Håvard J. Haugen<sup>3</sup>, Elżbieta Pamuła<sup>1</sup>**

## **WPLYW TEMPERATURY SPIEKANIA NA MIKROSTRUKTURĘ I WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE PODŁOŻY Z TLENKU TYTANU DO WYPEŁNIANIA UBYTKÓW TKANKI KOSTNEJ**

Dużym wyzwaniem w technologii ceramicznych materiałów kości-zastępczych jest otrzymanie spieków o akceptowalnej wytrzymałości i dużej porowatości. Jedną z metod pozwalających na uzyskanie takich materiałów jest zaprojektowanie ich mikrostruktury poprzez odpowiedni dobór parametrów procesu spiekania.

Tlenek tytanu (IV) ( $\text{TiO}_2$ ) jest materiałem biozgodnym i nieresorbowalnym tworzącym bezpośrednie połączenie z tkanką kostną. Celem niniejszej pracy było wytworzenie wysokoporowatych rusztowań z  $\text{TiO}_2$  metodą odwzorowania matrycy polimerowej przy wykorzystaniu swobodnego, dwustopniowego spiekania. Badano wpływ temperatur obu etapów spiekania na mikrostrukturę (za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej oraz mikrotomografii komputerowej) oraz właściwości mechaniczne wytworzonych podłoży.

Uzyskano wysokoporowate rusztowania (porowatość całkowita niemal 90%) o owalnych porach wielkości 400  $\mu\text{m}$ , a ich mikrostruktura była podobna do mikrostruktury kości gąbczastej. Najwyższą wytrzymałość na ściskanie uzyskano spiekając próbki przez 1 h w temperaturze 1500°C w pierwszym etapie spiekania oraz przez 20 h w 1200°C w drugim etapie.

---

<sup>1</sup> Department of Biomaterials, Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and Technology, al. Mickiewicza 30, 30-059 Krakow, Poland

<sup>2</sup> Faculty of Electrical Engineering, Automatics, Computer Science and Biomedical Engineering, AGH University of Science and Technology, al. Mickiewicza 30, 30-059 Krakow, Poland

<sup>3</sup> Department of Biomaterials, Institute for Clinical Dentistry, University of Oslo, PO Box 1109 Blindern, 0317 Oslo, Norway

Wykazano silnie negatywną korelację pomiędzy porowatością a silnie pozytywną korelację pomiędzy gęstością liniową a wytrzymałością na ściskanie badanych rusztowań.

Praca została sfinansowana ze środków NCN (2013/09/N/ST8/00309).



**Jerzy Silberring<sup>1</sup>**

## **PLAZMOWE ŹRÓDŁA JONÓW I ICH POTENCJALNE ZASTOSOWANIA**

Plazmowe źródła jonów, pracujące pod ciśnieniem atmosferycznym, są obiecującym narzędziem służącym do szybkiej i bezpośredniej analizy narkotyków. Niskotemperaturowe źródła, jak m.in. FAPA (Flowing Atmospheric Pressure Afterglow) i DBDI (Dielectric Barrier Discharge Ionization), umożliwiają ponadto połączenie ich z technikami chromatografii cieczowej, chromatografii gazowej oraz z metodą elektrochemicznej symulacji metabolizmu i mogą stanowić alternatywę dla technik GC/MS oraz APCI. Zalety plazmowych technik jonizacji to prostota obsługi, szybki czas analiz, a przede wszystkim możliwość wprowadzania próbek w postaci ciekłej, stałej i gazowej. Dodatkowo, przedstawione zostaną możliwości analizy niebezpiecznych związków, wychwyconych przez absorbent, przechowywanych w nim, a następnie zdesorbowanych termicznie w źródle jonów. W trakcie wykładu przedstawione zostaną wybrane aplikacje omawianych źródeł oraz omówione potencjalne zastosowania.

Praca finansowana częściowo w ramach projektu EuroNanoMed "META" Nr 5/ EuroNanoMed/2012 oraz Narodowego Centrum Nauki Nr DEC-2012/07/N/ST4/01837. Przeprowadzona została analiza wpływu

---

<sup>1 1</sup> Katedra Biochemii i Neurobiologii WIMiC; Akademia Górniczo-Hutnicza, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

systemu stabilizacji na stan odkształceń i przemieszczeń odcinka przejściowego piersiowo-lędźwiowego kręgosłupa.



**Klaudia Szkoda<sup>1</sup>, Celina Pezowicz<sup>2</sup>**

## **METODA ELEMENTÓW SKOŃCZONYCH W OCENIE STABILIZACJI ODCINKA PIERSIOWO-LĘDŹWIOWEGO**

Kręgosłup, będąc głównym narządem ruchu, poddawany jest zmiennym obciążeniom, jak i przeciążeniom prowadzącym często do urazów i uszkodzeń mechanicznych, które współcześnie coraz częściej spowodowane są wypadkami lokomocyjnymi czy upadkami z wysokości.

Leczenie uszkodzonego odcinka kręgosłupa jest procesem bardzo skomplikowanym, wynikającym głównie ze złożonej budowy oraz występowania wielu połączeń stawowych i więzadłowych. Zazwyczaj oparte jest na stosowaniu technicznych środków poprawy stabilności w postaci implantów.

Odcinki piersiowy oraz lędźwiowy różnią się od siebie zarówno ruchomością jak i budową, co wpływa na skomplikowaną strukturę przejście pomiędzy nimi, zwiększając tym samym niestabilność tego połączenia.

Celem pracy była ocena zmian jakie zachodzą w odcinku przejściowym piersiowo-lędźwiowym kręgosłupa na skutek wprowadzenia systemu stabilizacji.

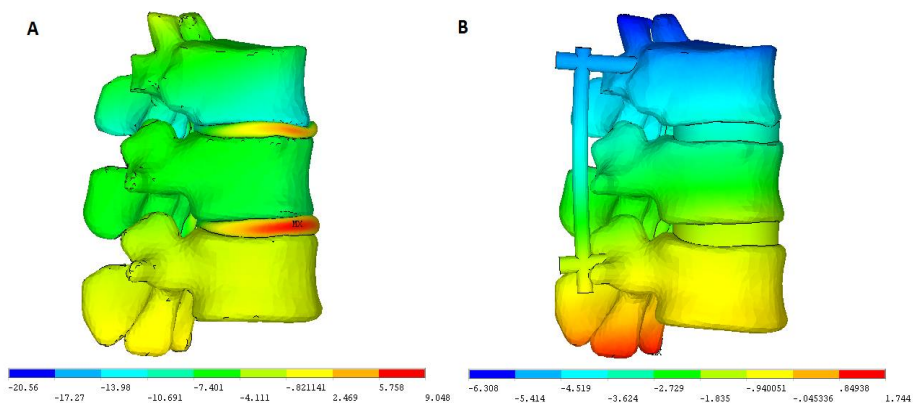
Materiałem wykorzystanym do stworzenia modelu numerycznego odcinka piersiowo-lędźwiowego kręgosłupa były obrazy, wykonane za pomocą tomografii komputerowej dorosłego mężczyzny. Model segmentu Th11-Th12-L1 stworzony został w kilku etapach przy użyciu programów takich jak: Mimics, MeshLab, AutoMesher oraz Ansys. W budowie modelu wyróżniono podział na kręgi (zbudowane z tkanki zbitnej i gąbczastej), krążki międzykręgowe (pierścień włóknisty i jądro miazdzyste) oraz połączenia na wyrostkach stawowych. W celu dyskretyzacji modelu wykorzystane materiały przyjęte zostały jako materiały izotropowe. Symulacje numeryczne przeprowadzone zostały dla dwóch układów: poprawnego fizjologicznie oraz po wprowadzeniu

<sup>1</sup> Studenckie Międzywydziałowe Koło Biomechaników, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wroclawska, Wrocław

<sup>2</sup> Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wroclawska, Wrocław

stabilizatora - rys.1, podczas działania osiowej siły ściskającej o wartości 600N.

Przeprowadzona została analiza wpływu systemu stabilizacji na stan odkształceń i przemieszczeń odcinka przejściowego piersiowo-lędźwiowego kręgosłupa.



Analizując otrzymane wyniki możemy stwierdzić, iż wprowadzenie stabilizacji transpedikuralnej kręgosłupa powoduje zwiększenie sztywności układu. Rozpatrując rozkład przemieszczeń zauważono różnice w przenoszeniu obciążeń między modelem poprawnym fizjologicznie a modelem stabilizowanym. Zaobserwowane wartości przemieszczeń były mniejsze około 8-krotnie w przypadku układu z wprowadzonym stabilizatorem. Można zauważyć, że największym odkształceniom pod wpływem osiowego ściskania ulega krążek międzykręgowy. Rozpatrując rozkład odkształceń również zauważono różnice w przenoszeniu obciążeń przez oba badane układy.



**Paulina Koszła<sup>1</sup>, Sylwia Szotek<sup>2</sup>, Joanna Dawidowicz<sup>3</sup>, Krzysztof Maksymowicz<sup>4</sup>**

## **WPLYW WIEKU NA ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH POWIĘZI SZEROKIEJ UDA CZŁOWIEKA**

Powięź to łącznotkankowa struktura włóknista otaczająca poszczególne mięśnie oraz narządy wewnętrzne. Wraz z mięśniami i ścięgnami pełni w organizmie głównie funkcję mechaniczną. Mięśnie kurczą się i rozciągają w różnym zakresie w zależności od wykonywanego ruchu. Podobnie zachowują się powięzi podążając za ruchem sąsiadującej tkanki mięśniowej. Z tego względu powinny one posiadać odpowiednio dużą wytrzymałość na rozciąganie oraz sprężystość [2].

Do badań zastosowano preparaty sekcyjne (n=15) uzyskane z niezmienionej chorobowo powięzi szerokiej uda mężczyzn, będących w różnym wieku (od 18 do 69 lat). Za pomocą testów jednoosiowego rozciągania, z zastosowaniem maszyny wytrzymałościowej MTS Synergie 100®, określono podstawowe właściwości mechaniczne badanego materiału. Prędkość rozciągania zadana w trakcie testów wynosiła 5mm/min, natomiast długość pomiarowa próbki 15mm (odległość między uchwytami). Doświadczalnie ustalono liczbę cykli wstępnych równą trzy. Podczas badania uwzględniono kierunek wycięcia próbek, w stosunku do ułożenia włókien kolagenowych oraz wiek dawców [3].

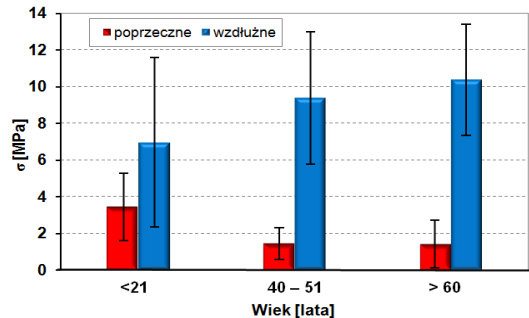
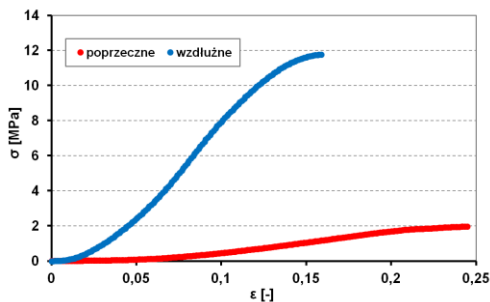
Uzyskane wyniki były opracowywane w formie charakterystyk: siła – przemieszczenie oraz naprężenie – odkształcenie (Rys.1). Miały one charakter nieliniowy. Następnie określono wartości parametrów, tj.: współczynnik sztywności, wytrzymałość na rozciąganie i odkształcenie oraz moduł Younga.

<sup>1</sup> Międzywydziałowe Koło Biomechaników, Politechnika Wrocławska, Wrocław

<sup>2</sup> Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław

<sup>3</sup> Klinika Weterynaryjna Brynów, Katowice

<sup>4</sup> Katedra Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław



W oparciu o otrzymane wyniki zaobserwowano, że uzyskane wartości są znacząco wyższe dla próbek wyciętych w kierunku wzdłużnym niż poprzecznym do kierunku ułożenia włókien kolagenowych (Rys.1b). Wykazano w ten sposób anizotropowy charakter tkanki powięziowej. Na podstawie sporządzonych wykresów interakcji pomiędzy poszczególnymi parametrami mechanicznym, a wiekiem, zauważono, że w zależności od wieku próbki wykazały zróżnicowane zachowanie. Nie zaobserwowano jednak, w oparciu o badaną liczbę próbek, istotnych tendencji do wzrostu bądź spadku wartości wyznaczanego parametru wraz ze zmianą wieku (poza wartością współczynnika sztywności).

Otrzymane wyniki będą w przyszłości dobrym odniesieniem do badań przeprowadzanych na próbkach powięzi ze zmianami patologicznymi. Mogą również pomóc w ocenie stanu zdrowia pacjentów, identyfikacji istniejących dysfunkcji oraz znaleźć zastosowanie w transplantologii.

#### LITERATURA

- [1] L. Stecco, Manipulacja powięzi w zespołach bólowych układu ruchu. Wyd. Odnowa, Szczecin 2010.
- [2] T.W. Findley, Second International Fascia Research Congress. International Journal of Therapeutic Massage & Bodywork: Research, Education & Practice, 2(2), 2009.
- [3] S. Szotek, J. Czogała, K. Ściagała, K. Marycz, K. Maksymowicz, The biomechanical and ultrastructural properties of human fascia lata. Journal of Biomechanics, 45Supp. 1, 2012.

Praca finansowana z grantu MNiSW: N N518 286540



**Magdalena Tomanik<sup>1</sup>, Anna Nikodem<sup>1</sup>**

## **CHARAKTERYSTYKA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH I STRUKTURALNYCH TKANKI KOSTNEJ GĄBCZASTEJ W JAŁOWEJ MARTWICY LUDZKIEJ NASADY BLIŻSZEJ KOŚCI UDOWEJ**

Staw biodrowy, jest jednym z największych oraz najbardziej obciążanych stawów w organizmie, jako stawu kulisty umożliwia wykonywanie ruchu w szerokim zakresie. Aby zmniejszyć tarcie pomiędzy współpracującymi kośćmi powierzchnie stawowe pokryte są warstwą tkanki chrzęstnej, która dodatkowo amortyzuje nacisk jakie jest wywierany na tkankę kostną w obrębie głowy kości udowej.

Tkanka kostną będąc strukturą żywą, charakteryzuje się dynamicznymi procesami biologicznymi które aby zapewnić prawidłowe funkcjonowania oraz rozwoju kości potrzebują substancji odżywczych dostarczanych w krwi poprzez układ krwionośny. Staw biodrowy posiada ubogą sieć naczyń krwionośnych przez, jeśli któreś z nich zostanie uszkodzenie tkanka kostna nie jest wystarczająco odżywiona. Długotrwałe zaburzenia w przepływie krwi będą powodować osłabienie kości prowadząc do powstawania obszarów ze zmianami martwiczymi (osteonekroza) oraz wywołując przewlekły stan zapalny w stawie.

Pierwsze zmiany osteonekrozy obserwowane są w obszarze podchrzęstnym, gdzie działające siły są największe. Niedożywienie tkanki kostnej powoduje pojawienie się w strukturze obszarów mocno zresorbowanych przez co dochodzi do zapadnięcia się tkanki chrzęstnej oraz jej rozwarstwiania. Nieprawidłowe funkcjonowanie stawu wywołuje przewlekły stan zapalny któremu towarzyszy ból jak również powoduje znaczne zmniejszenie zakresu ruchomości. Jałowa martwica kości w odróżnieniu od choroby zwyrodnieniowej częściej obserwowana jest u osób młodych. Istnieje wiele przyczyn wywołujących zaburzenia ukrwienia w nasadzie bliższej kości udowej, często do uszkodzenia naczyń krwionośnych dochodzi na skutek przebytego urazu stawu biodrowego jak również po długoterminowej terapii korytkosteroidami.

---

<sup>1</sup> Katedra Inżynierii Biomedycznej, Mechatroniki i Teorii Mechanizmów, Wydział Mechaniczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław

Materiał badawczy stanowiły ludzkie nasady bliższe kości udowych pobrane od pacjentów Klinicznego Szpitala Akademickiego we Wrocławiu, którzy zostali poddani alloplastyce stawu biodrowego. Do badań histomorfometrycznych oraz mechanicznych przygotowano sześćcienne próbki ( $n=10$ ) o wymiarach  $10 \times 10 \times 10$  [mm], z obszarów w których nie występowały zmiany osteonekrotyczne. Materiał biologiczny do czasu badań przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}$ .

Do wyznaczenia parametrów strukturalnych tkanki kostnej wykorzystano wysokiej rozdzielczości mikrotomograf rtg SkyScan1172, Bruker®, za pomocą którego zarejestrowano obrazy o rozdzielczości  $13,5 \mu\text{m}$  ( $84 \text{kV}$ ,  $128 \mu\text{A}$ ), które pozwoliły na stworzenie przestrzennych modeli próbek. W procesie rekonstrukcji (renderingu powierzchniowego) uzyskano przekroje w płaszczyźnie prostopadłej do osi szyjki kości udowej, które umożliwiły wyznaczenie parametrów 3D takich jak Tb.Th, Tb.N, SMI oraz DA.

W teście jednoosiowego statycznego ściskania wyznaczono wartości modułu Younga dla trzech ortogonalnych kierunków ( $E_1$   $E_2$   $E_3$ ) na podstawie których określono właściwości kierunkowe tkanki kostnej (DMA). Badania przeprowadzono w zakresie sprężystym do wartości siły odpowiadającej 1% odkształcenia, ze wstępnym obciążeniem równym 10N oraz z prędkość odkształceń równą  $0,01 \text{ s}^{-1}$ .



**Renata Wawrzaszek<sup>1</sup>, Urszula Wawrzaszek<sup>2</sup>**

## **Wpływ NANOCZĄSTECzkOWEGO SREBRA NA WŁĄściWOŚCI POLISULFONU**

Medycyna zaczyna korzystać z rozwiązań proponowanych przez nanotechnologię wykorzystując techniki i sposoby tworzenia struktur z których co najmniej jeden z zaprojektowanych wymiarów nie przekracza 100nm. Wykorzystanie nanotechnologii w medycynie może przynieść wiele korzyści, pomóc w rozwiązaniu dotychczasowych problemów, z którymi borykają się w dzisiejszych czasach badacze. Należy jednak pamiętać że nowości medyczne inspirowane tą dynamicznie rozwijającą się dziedziną technologii oprócz tego, że niosą ze sobą wiele dóbr muszą być wolne od wszelkich zagrożeń.

Celem pracy było stworzenie materiału implantacyjnego dla chirurgii kostnej (protezy więzadeł), który będzie wytrzymały- aby zapewnić długoterminową funkcjonalność i utrzymanie efektu estetycznego. Wadą wielu stosowanych obecnie implantów są niedoskonałości materiałów stosowanych do ich produkcji, zwłaszcza pod względem biologicznej tolerancji, co wywołuje w różnych jej strefach niefizjologiczne obciążenia i przeciążenia, patologiczne reakcje ustroju na uwalnianie cząstek z powierzchni kontaktowych implantów.

Tematyka badawcza obejmowała przygotowanie próbek polisulfonu z dodatkiem nanosrebra (wielkość średnicy cząstek srebra 50nm i 70nm, otrzymanego technologią zol żel), które wprowadzono do matrycy polimerowej w ilościach od 0.3%,0.5%,1%,2%. Nanocząstki srebra są aglomeratami o wymiarach 1 do 100nm w połączeniu z matrycą polimerową tworzą nanokompozyty, które być może w przyszłości zostaną wykorzystane w wielu gałęziach medycyny. Z ostatnich publikacji wynika że cząstki nanosrebra zwalczają selektywnie komórki rakowe bez ingerencji chirurgicznej, są jednym ze składników używanym przy produkcji leków. Nano srebro cechuje się właściwościami bakteriobójczymi, wirusobójczymi a także grzybobójczymi. Nanosrebro

<sup>1</sup> Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

<sup>2</sup> Zakład Inżynierii Powierzchni, Katalizy i Korozji. Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, Wrocław

nie kumuluje się w organizmie i zostaje wydalone wraz z potem, moczem i kałem. Według literatury medycznej nanosrebro jest naturalnym antybiotykiem. Jony srebra posiadają ogromną zdolność utleniania w badaniach naukowych nie zanotowano rozwoju szczepów bakterii, które byłyby odporne na działanie srebra.

Badania degradacji nanokopozytu prowadzono przez sześć miesięcy w wieloelektrolitowym płynie izotonicznym Ringera (skład 1l roztworu zawiera: substancje o stężeniu: chlorek sodu - 8,60 g/l, chlorek potasu- 0,30 g/l, chlorek wapnia 0,48 g/l, jony o stężeniu:  $\text{Na}^+$  147,16mmol/l,  $\text{K}^+$  4,02mmol/l,  $\text{Ca}^{+2}$  2,19 mmol/l,  $\text{Cl}^-$  155,56 mmol/l) w temperaturze 37°C stosunek objętości roztworu do masy próbki był większy niż 30:1.

Wyniki badań mechanicznych (wytrzymałość na rozciąganie, moduł sprężystości i twardość) wykazują że w materiale nie nastąpiła zmiana parametrów wytrzymałościowych w stosunku do próbek wyjściowych, określenie zmian powierzchniowych oznaczone poprzez wykonanie pomiarów kąta zwilżania, badania termodynamiczne (TG, DSC) i metoda spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni FT-IR nie wykazały by dodatki nanosrebra wprowadzone metodą wtłoczenia do matrycy polimerowej spowodowały zmiany w strukturze. Nanokompozyt w roztworze, który symuluje środowisko żywego organizmu-roztworze Ringera zachowuje się stabilnie, nie powoduje zmian wartości pH wyniki badań są zgodne z wymaganiami normy ISO 10993-12. Badane próbki polisulfonu z dodatkiem nanosrebra są trwałe i zachowują się bardzo stabilnie w środowisku płynu fizjologicznego.

#### LITERATURA:

[1]Marambio C. J, Hoek E.M: A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment *Journal of Nanoparticle Research* June 2010, Volume 12, 1531-1551

[2]Chaloupka K, Malam Y, Seifalian A M: Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications *Science Direct*, November 2010, Pages 580–588

[3]Chen X· Schluesener H.J Nanosilver: A nanoparticle in medical application *Toxicology Letters* Volume 176, January 2008, Pages 1–12

[4]Kalishwaralal K, BarathManiKanth S, Kumar Pandian S, Deepak V Silver nano -A trove for retinal therapies *Journal of Controlled Release* Volume 145, 14 July 2010, Pages 76–90

[5]Christenson E.M, Anseth K.S, Jeroen J.J.P., Chan C.K, Ercan B, Jansen J.A, Cato T. Laurencin C.T, Wan J. L, Murugan R, Nair L.S, Ramakrishna S, Tuan R.S, Webster T.J,



---

**Urszula Wawrzaszek<sup>1</sup>, Renata Wawrzaszek<sup>2</sup>**

## **ZASTOSOWANIE BIOMATERIAŁÓW TYTANOWYCH**

Tytan i jego stopy znalazły bardzo szerokie zastosowanie w niektórych dziedzinach medycyny: stomatologia, laryngologia, chirurgia szczękowa, chirurgia plastyczna, traumatologia oraz ortopedia. Z tytanu i jego stopów wykonuje się płytki do osteosyntezy kończyn, czaszki i twarzy, implanty dla kardiochirurgii (elementy sztucznego serca, zastawki, elementy rozruszników serca), śruby, wkręty, gwoździe, kostne stabilizatory kręgosłupa, klamry, płytki i śruby do osteosyntezy. Protezy tytanowe są o wiele lżejsze od chromo-kobaltowych i wykonanych ze złota.

Tytan cechuje się dobrą odpornością na korozję wżerową, międzykrystaliczną, naprężeniową oraz chemiczną (porównywalny do platyny), dobrą biogodnością (najwyższą biotolerancją wśród biomateriałów metalicznych), jest przeznaczony do zastosowań w których niewymagana jest duża wytrzymałość oraz odporność na zużycie przez tarcie, charakteryzuje się korzystnym stosunkiem wytrzymałości na rozciąganie do granicy plastyczności w porównaniu do stali austenicznych i stopów kobaltu, posiada najniższy ciężar właściwy i moduł Younga. Właściwości tribologiczne są uzależnione od składu chemicznego i fazowego powłoki. Zużycie powierzchni implantu tytanowego decyduje o reaktywności produktów korozji ze środowiskiem tkanek i płynów ustrojowych w roztworze soli fizjologicznej, charakteryzuje się wysoką skłonnością do tworzenia warstwy pasywnej, można go formować w każdy żądany kształt. Doskonała odporność na degradację elektrochemiczną, lekkość, niskie przewodnictwo cieplne. Nie wywołuje negatywnej reakcji ze strony tkanek (w małym stopniu wchłaniany przez tkanki). Stymuluje różnicowanie osteoklastów i działa na ich aktywność. Nie bierze udziału w reakcjach metabolicznych. Nie jest ferromagnetyczny, może być stosowany u pacjentów poddawanych badaniom z wykorzystaniem MRI (magnetycznego rezonansu

---

<sup>1</sup> Zakład Inżynierii Powierzchni, Katalizy i Korozji. Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, Wrocław

<sup>2</sup> Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

jądrowego). Korzystnymi właściwościami tytanu są: brak odczynów alergicznych, brak toksyczności.

Struktura czystego tytanu pod względem morfologii zależy od technologii przeróbki plastycznej i cieplnej. Stopy tytanu stosowane w bioinżynierii możemy podzielić na trzy grupy: stopy jednofazowe  $\alpha$ , stopy dwufazowe  $\alpha+\beta$  i stopy jednofazowe  $\beta$ . Najszerze zastosowanie znalazł stop dwufazowy Ti-6Al-4V. Stopy tytanu do produkcji implantów w medycynie poddaje się przeróbce plastycznej, która polega na kuciu na gorąco w temperaturze 750-1000°C i 700-900°C w pierwszym etapie stopień odkształcenia plastycznego wynosi 20-30% w drugim etapie 50-70%, następnie przeprowadza się wyżarzanie. Kształtowniki a także blachy stosowane, jako materiały wyjściowe otrzymuje się w procesie walcowania, tytanowe biomateriały otrzymuje się również na drodze metalurgii proszków. Powierzchnie modyfikowanych implantów tytanowych powinny wykazywać: wytrzymałość i funkcjonalność, grubość niewpływającą na zmianę parametrów geometrycznych i mechanicznych, być odporne na proces sterylizacji.

Metody modyfikacji powierzchniowej implantów metalicznych podzielić można na:

- fizyko-chemiczne powodujące zmianę składu chemicznego powierzchni istniejącej oraz zmieniające właściwości fizyczne (odporność na zużycie przez tarcie, odporność korozyjną, topografię powierzchni)
- biochemiczne polegające na wytwarzaniu i przyłączaniu związków organicznych ułatwiających wiązanie do powierzchni białek

#### LITERATURA:

1. J. Kirkpatrick, K. Peters, M. I. Hermanns, F. Bittinger, V. Krump-Konvalinkova, S. Fuchs and R. E. Unger, *Itbm-Rbm* 26 (2005) 192
2. Eglin, S. Ali, C. C. Perry, *J. Biomed. Mater. Res.* 69 (2004) 718
3. T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi And T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.* 27 (1990) 721
4. K. Tsuru, M. Kokubo, S. Hayakawa, C. Ohtusuki and A. Osaka, *J. Ceram. Soc. Jpn* 109 (2001) 412
5. J. A. Hubbell, *Current Opin. Biotech.* 10 (1999) 123
6. T. Kokubo, Eds. Ducheyne, T. Kokubo and Van Blitterswijk, *Pub. Read Healthcare Commun.* (1992) 31
7. F. Likibi, Assad, P. Jarzem., M.A. Leroux, Ch. Coillard, G. Chabot, Ch. Rivard: Osseointegration study of porous nitinol versus titanium orthopaedic implants. *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.* 14, 2004, 209–213.
8. A. Bylica A., J. Sieniawski J.: *Tytan i jego stopy*. Warszawa: PWN 1985



**Joanna Weźgowiec<sup>1</sup>, Małgorzata Kotulska<sup>1</sup>, Julita Kulbacka<sup>2</sup>, Jolanta Saczko<sup>2</sup>**

## **THE INFLUENCE OF PHOTODYNAMIC REACTION SUPPORTED BY ELECTROPORATION ON THE SELECTED COMPONENTS OF BREAST CANCER CELLS**

### Introduction

Electroporation is based on the effect of electric field on the cell membrane. When cell membrane is subjected to external electric field of high intensity, the loss of its continuity appears. Thus, electroporation is used as a method of improving the efficiency of drug delivery into cells. The benefits resulting from the creation of additional pathways of molecular transport into cells involve the possibility of the application of new compounds, the reduction of exposure time and drug dose. It results in the improvement of the treatment efficiency and reduction of undesirable side effects.

### Aim of the study

The aim of the study was to investigate in vitro the cytotoxic effects of two photosensitive agents in human breast cancer cells subjected to photodynamic reaction supported by electroporation. The study evaluated the possibility of using electroporation for facilitating transport of photodynamically active compounds to cancer cells. In addition, an attempt was made to explain which cellular components were affected by the treatment.

### Material and methods

The study was performed on the model of two human breast adenocarcinoma cell lines: MCF-7/WT - sensitive to doxorubicin and MCF-7/DX - resistant to doxorubicin. Electroporation was used to enhance photodynamic reaction based on the action of two compounds: Photofrin (clinically used photosensitizer) and the cyanine IR-775 (commercial photosensitive compound that has not been used in photodynamic therapy, however, our own preliminary studies indicate its potential in this field). There were delivered 8 rectangular electrical pulses to the cell suspension (different values of amplitude, pulse duration of 100  $\mu$ s, frequency of 1 Hz). The cellular responses were investigated by spectrophotometric methods enabling evaluation of changes of membrane integrity (measurement of extracellular lactate dehydrogenase), the activity of enzymes involved in metabolism (MTT and XTT assays) and the ability of proteins synthesis (SRB assay).

### Results

The results showed that electroporation alone was not toxic for cells but significantly increased effectiveness of the studied photosensitizers. The decrease of mitochondrial activity, membrane integrity and protein synthesis after photodynamic reaction

---

<sup>1</sup> Institute of Biomedical Engineering and Instrumentation, Wrocław University of Technology

<sup>2</sup> Department of Medical Biochemistry, Wrocław Medical University

supported by electroporation was observed. It suggests that electropermeabilization of the cell membrane facilitated molecular transport of selected compounds into the two types of breast adenocarcinoma cells.

#### Conclusions

The combination of photodynamic reaction with electroporation increased the phototoxic effect of the treatment. Electroporation may be considered as an attractive delivery system for photosensitizers, enabling application of new compounds and reduction of drug dose and exposure time in comparison to the standard parameters used in photodynamic therapy.

#### Acknowledgements

This work was supported by COST Action TD1104, National Science Centre, grant No. 2011/01/D/NZ4/01255 (J. Kulbacka) and grant No. 328/2013 for BioNanopore Students Association from Wrocław University of Technology.

#### References:

- Kee S.T., Gehl J., Lee E.W., Clinical aspects of electroporation, Springer, New York 2011
- Kotulska M., Kulbacka J., Saczko J., Advances in Photodynamic Therapy Assisted by Electroporation, *Curr Drug Metab* 2013, 14(3): 309-18
- Mir L.M., Orłowski S., Mechanisms of electrochemotherapy, *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 35(1): 107-118
- Rols M.P., Electropermeabilization, a physical method for the delivery of therapeutic molecules into cells, *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, 1758: 423 – 428
- Saczko J., Nowak M., Skolucka N., Kulbacka J., Kotulska M., The effects of the electro-photodynamic in vitro treatment on human lung adenocarcinoma cells, *Bioelectrochemistry*, 2010, 79: 90–94
- Weźgowiec J., Deryło M.B., Teissie J., Orío J., Rols M.P., Kulbacka J., Saczko J., Kotulska M., Electric field-assisted delivery of Photofrin to human breast carcinoma cells, *Journal of Membrane Biology*, Springer, 2013, 246(10): 725-35
- Weźgowiec J., Kotulska M., Saczko J., Deryło M.B., Teissie J., Rols M.P., Orío J., Garbiec A., Kulbacka J., Cyanines in photodynamic reaction assisted by reversible electroporation - in vitro study on human breast carcinoma cells, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Elsevier, 2013, 10: 490-502

## **WPLYW REAKCJI FOTODYNAMICZNEJ WSPOMAGANEJ ELEKTROPORACJĄ NA WYBRANE ELEMENTY SKŁADOWE KOMÓREK RAKA PIERSI**

Celem pracy było zbadanie w warunkach in vitro efektów działania dwóch substancji światłoczułych na ludzkie komórki raka piersi poddane reakcji fotodynamicznej wspomaganej elektroporacją. Oceniana była możliwość zastosowania elektroporacji do ułatwiania transportu Photofrinu oraz cyjaniny IR-775 do ludzkich komórek gruczołakoraka gruczołu sutkowego. Podjęto również próbę wyjaśnienia, na które elementy komórek oddziałuje reakcja fotodynamiczna wspomagana elektroporacją. Uzyskane wyniki pokazują, że sama elektroporacja nie była toksyczna dla komórek raka piersi, ale zwiększyła efektywność badanych fotouczulaczy. Zaobserwowano zmniejszenie aktywności mitochondriów, integralności błony komórkowej oraz zdolności do syntezy białek w komórkach poddanych reakcji fotodynamicznej wspomaganej elektroporacją.



**Janusz Wiśniewski<sup>1</sup>, Agnieszka Gizak, Piotr Mameczur, Dariusz Rakus**

### **JĄDERKOWA LOKALIZACJA FOSFOGLICEROMUTAZY JAKO MARKER PROLIFERACJI KOMÓREK**

Badania ostatnich lat pokazują, że ewolucyjnie stare enzymy metabolizmu węglowodanów zlokalizowane są nie tylko w cytoplazmie, ale również w innych elementach komórki takich jak mitochondria, jądro komórkowe czy jąderka. Mogą tam pełnić funkcje niezwiązane bezpośrednio z ich aktywnością enzymatyczną włączając w to regulację proliferacji i różnicowania komórek. Jednym z takich enzymów jest fosfogliceromutaza (PGAM) – glikolityczny enzym katalizujący przemianę 3-fosfoglicerynianu do 2-fosfoglicerynianu. Badania proteomiczne pozwoliły stwierdzić jej obecność w jąderkach, jednak rola jaką mogłaby pełnić PGAM w tej strukturze komórki pozostawała niewyjaśniona. Przedstawione tutaj wyniki rzucają nowe światło na funkcje tego enzymu w jąderkach i pokazują, że PGAM być zaangażowana w transkrypcję rybosomalnego RNA.

W trakcie badań odkryliśmy, że PGAM lokalizuje w jąderkach komórek posiadających zdolność do proliferacji. Usunięcie surowicy z medium hodowlanego, co powoduje zahamowanie proliferacji komórek, powoduje wycofanie PGAM z jąderek. Reedycja surowicy lub dodanie do medium insuliny lub/i IGF-1 powoduje powrót PGAM do jąderek. Powrót PGAM do jąderek jest blokowany przez zahamowanie aktywności kinazy fosfatydyloinozytolu, białka zaangażowanego w przekazywanie sygnału w szlaku insuliny/IGF-1, co potwierdza że jąderkowa lokalizacja PGAM jest związana z wysoką aktywnością metaboliczną/wzrostową komórki.

Wyniki badań immunocytochemicznych pokazujące jąderkową lokalizację PGAM potwierdziliśmy poprzez analizę przeprowadzoną przy pomocy spektrometrii mas (MS) białek pochodzących z jąderek wyizolowanych z komórek proliferujących. Badania MS nie wykazały obecności PGAM w jąderkach komórek niedzielących się.

---

<sup>1</sup> Zakład Fizjologii Molekularnej Zwierząt, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Wrocławski

Badania nasze pokazują także, że PGAM tworzy w jąderkach stosunkowo trwałe kompleksy z innymi białkami jąderkowymi i/lub RNA. Po transfekcji komórek znakowaną fluorescencyjnie PGAM zaobserwowaliśmy fluorescencję pochodzącą ze zmodyfikowanej PGAM dopiero po uprzednim trawieniu komórek RNAzą.

Powyższe wyniki pokazują związek pomiędzy jąderkową lokalizacją PGAM a syntezą rRNA i zdolnością komórek do podziałów i wzrostu.



I.M. Wojak-Ćwik<sup>1,2\*</sup>, L. Rumian<sup>2</sup>, R. Hess<sup>1</sup>, P. Dobrzynski<sup>3</sup>, St. Möller<sup>4</sup>, M. Schnabelrauch<sup>4</sup>, V. Hintze<sup>1</sup>, D. Scharnweber<sup>1</sup>, E. Pamuła<sup>2</sup>

**POROWATE RUSZTOWANIA Z POLI(L-LAKTYDU-CO-GLIKOLIDU) DLA REGENERACJO KOŚCI – CZY BIMODALNE PORY WYKAZUJĄ WPŁYWJĄ NA HODOWLĘ MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH?**

Regeneracja tkanki kostnej opierająca się na założeniach inżynierii tkankowej powinna być bardziej skuteczna jeśli rusztowanie będzie miało mikrostrukturę jak najbardziej zbliżoną do substancji międzykomórkowej kości, ale też dostarczy sygnałów molekularnych, które nakierują komórki macierzyste i skłonią je do adhezji oraz różnicowania osteogennego. W niniejszej pracy zaprojektowano rusztowania z kopolimeru L-laktydu z glikolidem (PLGA) o bimodalnym rozkładzie porów oraz zmodyfikowano je organicznymi komponentami substancji międzykomórkowej: kolagenem i wysoko siarczanowym kwasem hialuronowym. Zastosowanie dwóch porogenów sprawiło, że w rusztowaniach wytworzono pory o wielkości 400-600  $\mu\text{m}$  i 3-5  $\mu\text{m}$ , co stwierdzono za pomocą obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym. Badania z pomocą testów z Sirius red i błękitu toluidyny wykazały, że rusztowania z PLGA zostały pokryte homogeniczną warstwą komponentów sztucznej substancji międzykomórkowej. Badania *in vitro* wykazały, że obecność w rusztowaniach porów o bimodalnym rozkładzie oraz organicznych pokryć choć nie poprawia proliferacji komórek macierzystych, to podwyższa ich zdolność do mineralizacji

<sup>1</sup> Technische Universität Dresden, Institute of Materials Science, Max Bergmann Center of Biomaterials, Budapeststr. 27, 01069 Dresden, Germany

\*e-mail: iwonawojak@hotmail.com

<sup>2</sup> AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Biomaterials, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Krakow, Poland

<sup>3</sup> Polish Academy of Sciences, Centre of Polymer and Carbon Materials, ul. M. Curie Skłodowskiej 34, 41-819 Zabrze, Poland

<sup>4</sup> INNOVENT e.V., Biomaterials Department, Prüssingstraße 27 B, 07745 Jena, Germany

i różnicowania osteogenego. Opracowane rusztowania są materiałami o dużym potencjale do wspomaganie regeneracji tkanki kostnej.

Badania były finansowane z prac statutowych AGH (11.11.160.256) i DFG-Transregio 67.



**Artur Wrona<sup>1</sup>, Olga Hrydziusko<sup>1</sup>, Joanna Balbus<sup>2</sup>, Krystian Kubica<sup>1</sup>**

## **ZNACZENIE DIAGNOSTYCZNE I TERAPEUTYCZNE MODELI HOMEOSTAZY CHOLESTEROLU**

Zaburzenie prawidłowej zależności pomiędzy frakcjami lipoproteinowymi zawierającymi cholesterol jest jedną z przyczyn dysfunkcji układu krążenia [1]. Modelowe badania procesu homeostazy cholesterolu powinny mieć znaczenie diagnostyczne oraz terapeutyczne. W prezentowanej pracy dokonano analizy procesu przemian cholesterolowych w oparciu o modele 2 i 3 przedziałowe. Pierwszy przedział odpowiadał wątrobie, drugi – krwi obwodowej natomiast trzeci przedział – pęcherzykowi żółciowemu. Model matematyczny stanowią układy równań różniczkowych, rozwiązywane metodą Rungego-Kutty, opisujące szybkość zmian ilości cholesterolu we krwi wątrobowej oraz krwi obwodowej. Ponadto w modelu 3 przedziałowym trzecie równanie opisuje szybkość napełniania i opróżniania się pęcherzyka żółciowego. Oba modele uwzględniają syntezę cholesterolu w wątrobie, ilość cholesterolu z pożywienia, cholesterol endogeny pochodzący z błon obumarłych komórek nabłonka, pulę cholesterolu pobieranego przez tkanki organizmu oraz cholesterol uczestniczący w krążeniu wrotnym. Uproszczenie badanego procesu do modelu 2 przedziałowego pozwoliło znaleźć analityczne rozwiązanie stacjonarne dające dwa dodatkowe równania wiążące parametry modelu. Model 2 przedziałowy pozwala badać znaczenie cholesterolu zawartego w pożywieniu, działanie leków regulujących przemiany cholesterolowe (statyny – będące inhibitorami kluczowego enzymu na szlaku syntezy cholesterolu [2] oraz rzadko już stosowane leki mające charakter żywic jonowymiennych związujące kwasy żółciowe), a także zaburzenia receptorów odpowiedzialnych za wychwytywanie cholesterolu zawartego we frakcji LDL. W oparciu o model 2 przedziałowy można także pokazać potencjalne znaczenie regulacji aktywności białka CETP w utrzymaniu odpowiedniego stężenia cholesterolu we krwi obwodowej [3]. Pokazano, że wzrost stężenia

<sup>1</sup> Instytut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Politechnika Wroclawska

<sup>2</sup> Instytut Matematyki i Informatyki, Politechnika Wroclawska

cholesterolu we krwi obwodowej można obniżyć za pomocą inhibitorów syntezy cholesterolu a także poprzez obniżenie aktywności białka CETP. Wykazano także, że przekroczenie optymalnej dawki leku nie skutkuje dalszym znaczącym obniżeniem stężenia cholesterolu. Biorąc pod uwagę potencjalne efekty uboczne stosowania statyn, zweryfikowany doświadczalnie model może być pomocny w optymalnym doborze dawki leków.

Analiza modelu 3 przedziałowego pozwala wnioskować o stanie pęcherzyka żółciowego. Wytworzenie kamieni żółciowych, utrudniające opróżnianie pęcherzyka, znajduje obraz w zmianach stężenia cholesterolu we krwi obwodowej. Stan pęcherzyka żółciowego może także odpowiadać za odmienną reakcję organizmu człowieka na cholesterol zawarty w pożywieniu. Badania prowadzone są w ramach grantu NCN 2011/03/B/NZ4/02390.

#### LITERATURA

- [1] J P. Libby, P. M. Ridker, and G. K. Hansson, "Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis.," *Nature*, vol. 473, no. 7347, pp. 317–25, May 2011.
- [2] M. Berg, J. L. Tymoczko, and L. Stryer, *Biochemistry*, Sixth editi. Company, W. H. Freeman, 2006.
- [3] M. Y. M. van der Wulp, H. J. Verkade, and A. K. Groen, "Regulation of cholesterol homeostasis.," *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 368, no. 1–2, pp. 1–16, Apr. 2013.