

SYMPOZJUM



z okazji 100. rocznicy urodzin
profesora Józefa Chmiela

oraz 60-lecia
Katedry Biochemii Farmaceutycznej
na Wydziale Farmaceutycznym
Uniwersytetu Medycznego
w Poznaniu

13 listopada 2024
Poznań



SYMPOZJUM

**z okazji 100. rocznicy urodzin
profesora Józefa Chmiela**

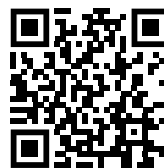
**oraz 60-lecia
Katedry Biochemii Farmaceutycznej
na Wydziale Farmaceutycznym
Uniwersytetu Medycznego
w Poznaniu**

Streszczenia

Poznań, 13 listopada 2024

Organizator

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu



Strona internetowa Katedry i Zakładu
Biochemii Farmaceutycznej UMP:
<https://biochemfarm.ump.edu.pl>

Komitety naukowy

prof. dr hab. Wanda Baer-Dubowska
prof. dr hab. Violetta Krajka-Kuźniak
dr hab. Hanna Szaefer, prof. UMP
dr hab. Jarosław Paluszczak, prof. UMP
dr hab. Aleksandra Majchrzak-Celińska
dr hab. Robert Kleszcz

Komitety organizacyjny

prof. dr hab. Violetta Krajka-Kuźniak
dr Barbara Licznarska
dr Katarzyna Papierska
dr inż. Ewelina Musielak
mgr Hanna Sobierajska
mgr Marta Belka
mgr Anna Rybarczyk
mgr Olga Obrzut
mgr Dawid Dorna
mgr inż. Anna Sobiak-Przybylska
Monika Kupińska
Alina Kubasińska

Miejsce obrad

Collegium Pharmaceuticum, sala im. prof. Jana Pawlaczka
ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań

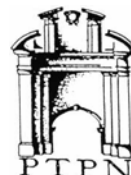
PATRONAT HONOROWY



JM Rektor
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
prof. dr hab. Zbigniew Krasiński



Dziekan
Wydziału Farmaceutycznego
Uniwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
prof. dr hab. Anna Jelińska



Poznańskie Towarzystwo
Przyjaciół Nauk

Spis treści

Anna Jelińska

Słowo wstępne dziekana Wydziału Farmaceutycznego UMP 5

Wanda Baer-Dubowska

Profesor Chmiel – założyciel i pierwszy kierownik Zakładu
Biochemii Wydziału Farmaceutycznego UMP. Historia zakładu 6

Violetta Krajka-Kuźniak

Aktualne kierunki badań i perspektywy rozwoju Katedry i Zakładu
Biochemii Farmaceutycznej UMP 19

Hanna Szaefer, Barbara Licznarska

Receptor AhR i jego powiązanie z Nrf2 i ER jako cel oddziaływania
naturalnych i syntetycznych czynników chemoprewencyjnych 21

Jarosław Paluszczak

Epigenetyka nowotworów – od modelu skórnej kancerogenezy
do „ptynnej biopsji” 23

Aleksandra Majchrzak-Celińska

Charakterystyka epigenetyczna oraz poszukiwanie nowych
inhibitorów szlaku Wnt aktywnych w komórkach glejaka
wielopostaciowego 24

Robert Kleszcz

Podróż po szlakach, czyli koncepcje molekularnych punktów
uchwytu w terapii nowotworów głowy i szyi 25

Katarzyna Papierska, Maciej Kubicki, Violetta Krajka-Kuźniak

Poszukiwanie aktywnych biologicznie tiopochodnych chalkonów
w odniesieniu do komórek rakowych przewodu pokarmowego 27

Barbara Licznarska, Hanna Szaefer, Hanna Sobierajska

Cytochromy P450 jako biochemiczny cel dla chemoprewencji
i terapii raka piersi. 28

Ewelina Musielak

Możliwości terapeutyczne biologicznych nanonośników opartych
na materiałach typu lipidowego 29

Jan Grzegorzewski	
Aspekt biochemiczny oddziaływania nanocząsteczek na komórki glejaka wielopostaciowego	30
Anna Rybarczyk, Aleksandra Majchrzak-Celińska, Ludwika Piwowarczyk, Violetta Krajka-Kuźniak	
Kannabidiol i jego kombinacje umieszczone w nośnikach liposomalnych – nowe podejście w terapii glejaka wielopostaciowego	31
Dawid Dorna, Jarosław Paluszczak	
Świat nie jest płaski: Zastosowanie hodowli komórkowych 3D w badaniach nad aktywnością związków przeciwnowotworowych	33
Marta Belka, Aleksandra Gostyńska-Stawna, Maciej Stawny, Violetta Krajka-Kuźniak	
Ocena potencjału naturalnych agonistów FXR w terapii PNALD	34
Olga Obrzut, Violetta Krajka-Kuźniak, Joanna Czerniel, Aleksandra Gostyńska-Stawna	
Ocena bezpieczeństwa <i>in vitro</i> dożylnych emulsji tłuszczowych wzbogaconych o substancję o właściwościach hepatoprotekcyjnych	35
Program sympozjum	37

Słowo wstępne

Dziekana Wydziału Farmaceutycznego UMP

Szanowni Państwo, Koleżanki i Koledzy,

z wielką radością witam Państwa na sympozjum z okazji dwóch niezwykle ważnych rocznic w historii naszej uczelni. W tym roku obchodzimy 100. rocznicę urodzin prof. Józefa Chmiela, założyciela i pierwszego kierownika Zakładu Biochemii Wydziału Farmaceutycznego, oraz 60-lecie powstania tej zasłużonej jednostki. Te dwie rocznice stanowią doskonałą okazję, aby przypomnieć sobie o dziedzictwie, które prof. Chmiel pozostawił, oraz o rozwoju zakładu od momentu powstania do dziś. Profesor Józef Chmiel był nie tylko wybitnym naukowcem, ale również mentorem i organizatorem, którego praca miała ogromny wpływ na rozwój biochemii oraz diagnostyki laboratoryjnej w Polsce. Jego działalność naukowa obejmowała badania nad metabolizmem krwinek czerwonych, transportem jonów przez błony komórkowe, a także nad biochemią związków fosforanowych i koenzymów. Jego innowacyjne podejście i pasja do nauki wywarły nieoceniony wpływ na kształtowanie przyszłych pokoleń naukowców, farmaceutów i diagnostów laboratoryjnych, którzy kontynuowali jego badania oraz rozwijali kierunki, które zapoczątkował.

Rocznica powstania Zakładu Biochemii to również moment refleksji nad jego rozwojem i ewolucją na przestrzeni sześciu dekad. Zakład ten, obecnie Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, odegrał kluczową rolę w kształtowaniu nowych kierunków badawczych, takich jak chemoprewencja nowotworów, badania nad związkami naturalnymi i syntetycznymi, a także wprowadzanie nowych metod badawczych w dziedzinie biochemii klinicznej.

Dzisiejsze spotkanie jest okazją nie tylko do uhonorowania osiągnięć przeszłości, ale także do zastanowienia się nad przyszłością biochemii, której rozwój w dużej mierze opiera się na solidnych fundamentach, jakie stworzyli prof. Chmiel i jego następcy. Jesteśmy dumni z tego, że możemy kontynuować tę wyjątkową tradycję, rozwijając nowe technologie i badania, które przyczyniają się do lepszego zrozumienia procesów biochemicznych i ich zastosowania w medycynie.

Życzę wszystkim uczestnikom owocnych obrad i inspirujących dyskusji, które pozwolą nam jeszcze bardziej docenić wkład biochemii w rozwój nauk farmaceutycznych i medycznych.



prof. dr hab. Anna Jelińska

Dziekan Wydziału Farmaceutycznego

Profesor Chmiel – założyciel i pierwszy kierownik Zakładu Biochemii Wydziału Farmaceutycznego UMP. Historia zakładu

Wprowadzenie

Rok 2024 obfituje w „okrągłe” rocznice związane z historią biochemii na Wydziale Farmaceutycznym naszej uczelni. To przede wszystkim 100. rocznica urodzin prof. Józefa Chmiela i 40. jego śmieci, ale także 60. rocznica zaistnienia Zakładu Biochemii nie tylko w strukturach formalnych (to wydarzyło się rok wcześniej), ale i „terytorialnych”, czyli zainicjowania jego działalności w farmaceutycznym skrzydle Collegium Chemicum (aktualnie Collegium Heliodori Świącicki).

Formalnie tradycję Zakładu Biochemii kontynuuje aktualna Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej i dlatego losy tej jednostki są w niniejszym opracowaniu przedmiotem bardziej szczegółowego opisu. Powołane na jej bazie inne jednostki tworzą już własną historię.

Profesor Józef Chmiel – lekarz i chemik zasłużony dla poznańskiego Wydziału Farmaceutycznego

Józef Chmiel urodził się 22 lipca 1924 roku w Cieszynie. Dyplom lekarza medycyny uzyskał w roku 1952 po ukończeniu studiów na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Poznaniu. W 1955 roku uzyskał również tytuł magistra chemii na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii UAM. Pracę naukowo-dydaktyczną rozpoczął już na III roku studiów, kiedy objął stanowisko zastępcy asystenta w Zakładzie Chemii Fizjologicznej Wydziału Lekarskiego UP (od 1950 roku AM). W roku 1960 uzyskał stopień doktora medycyny na podstawie pracy „Wpływ środowiska hipertonicznego na trwałość krwinki czerwonej” (promotor: prof. dr hab. Zdzisław Stolzmann), a już 2 lata później – doktora habilitowanego na podstawie pracy „Związki fosforanowe krwinek czerwonych jako metabolity i koenzymy przemiany węglowodanowej”. Wiązało się to z objęciem stanowiska docenta w macierzystej jednostce. Już pełniąc obowiązki kierownika Zakładu Biochemii Wydziału Farmaceutycznego, uzyskał tytuł naukowy profesora nadzwyczajnego (1970) i zwyczajnego (1980).

W roku akademickim 1958/1959 Józef Chmiel otrzymał stypendium Fundacji Rockefellera, co umożliwiło mu pracę w pracowniach Gibsona na Uniwersytecie Harvarda (Boston, USA) oraz Bartletta w Scripps Clinic Foundation w San Diego (USA), gdzie zajmował się badaniem transportu jonów przez błony komórkowe, a także układów enzymatycznych związanych z przemianami energetycznymi komórek (głównie erytrocytów). Z tego okresu pochodzą prace dotyczące transportu jonów i aminokwasów



Fot. 1. Profesor Józef Chmiel ok. roku 1961

przez błonę krwinki czerwonej. Zaobserwowano związek pomiędzy aktywnym transportem jonów potasu przez błonę komórkową a opornością mechaniczną erythrocytu. W pracowni Bartletta późniejszy profesor zapoznał się z najnowszą wówczas metodyką izolowania elementów subkomórkowych oraz oznaczania metabolitów i koenzymów we frakcjach komórkowych. Śledzenie pośrednich produktów przemiany i koenzymów glikolizy oraz cyklu pentozowego zastosował do interesującego go badania krwinki czerwonej.

Pobyt w tych ośrodkach poszerzył i utrwalił zainteresowania Józefa Chmiela związane z analizą związków fosforanowych i wolnych nukleotydów. Z tego zakresu wykonał pracę habilitacyjną i ta tematyka dominowała w początkowym okresie działalności zorganizowanego przez niego zakładu. Późniejsze zaintere-

sowania naukowe Profesora koncentrowały się zasadniczo wokół trzech zagadnień: metabolizmu składników morfotycznych krwi (erythrocyty, płytki i limfocyty), wpływu związków biologicznie czynnych na metabolizm komórki oraz metabolizmu glikozoaminoglikanów w różnych jednostkach chorobowych. Najczęściej prof. Chmiel był postrzegany jako specjalista od „krwinki czerwonej”. Ten wizerunek utrzymało m.in. zorganizowane przez Profesora w Poznaniu w roku 1971 Sympozjum PTDL „Metabolizm składników morfotycznych krwi”. Godnych kontynuatorów tego tematu znalazł w osobach profesorów Marii Rybczyńskiej i Zygmunta Kopczyńskiego.

Profesor Chmiel był promotorem 21 doktoratów. Spośród wypromowanych doktorów czworo uzyskało stopnie doktora habilitowanego, a troje – tytuły profesora. Ci ostatni stali się kierownikami katedr, które powstały na bazie niewielkiego początkowo Zakładu Biochemii. Prowadzona w nich tematyka badawcza, przynajmniej do pewnego momentu, była kontynuacją zainteresowań prof. Chmiela.

Profesor Chmiel angażował się bardzo aktywnie w działalność organizacyjną zarówno na uczelni, jak i poza nią. W roku 1956 uzyskał specjalizację II stopnia z zakresu analityki lekarskiej, co w późniejszym okresie wiązało się z pełnieniem funkcji specjalisty wojewódzkiego ds. diagnostyki laboratoryjnej w Zielonej Górze, a następnie w Poznaniu. Był inicjatorem i organizatorem najpierw kierunku, a od roku akademickiego 1979/1980 Oddziału Analityki Medycznej (OAM) na Wydziale Farmacji AM. Przez wiele lat pełnił funkcję prodziekana, a z chwilą utworzenia OAM – kierownika oddziału. Profesor Chmiel wiele uwagi poświęcał rozwojowi diagnostyki laboratoryjnej, uczestnicząc od



Fot. 2. Odsłonięta 19 kwietnia 2007 roku tablica upamiętniająca prof. Józefa Chmiela

1975 roku w pracach Krajowego Zespołu Specjalistycznego ds. Diagnostyki Laboratoryjnej Szpitali Klinicznych Akademii Medycznych. Ponadto był założycielem i organizatorem Oddziału Poznańskiego Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL) oraz członkiem Zarządu Głównego PTDL. Od 1976 roku angażował się w prace krajowego zespołu standaryzacji metod laboratoryjnych Rady Naukowej przy Ministrze Zdrowia i Opieki Społecznej. Konsekwencją

działań tych gremiów, już po transformacji ustrojowej, była ustawa o zawodzie diagnosty laboratoryjnego i utworzenie Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych. W prace nad ich tworzeniem był bardzo zaangażowany wychowanek prof. Chmiela, prof. Zygmunt Kopczyński.

Ponadto Józef Chmiel brał udział w pracach wielu innych towarzystw i instytucji naukowych. Był wiceprzewodniczącym Komisji Nauk Chemicznych PAN, członkiem Komisji ds. Biologii Mo-



Fot. 3. Tablica umieszczona na zewnętrznej ścianie budynku Collegium im. prof. Józefa Chmiela (fot. Andrzej Błaszczak)

lekularnej PAN, sekretarzem Wydziału IV Lekarskiego oraz przewodniczącym Komisji Chemii Klinicznej PTPN, a także członkiem Rady Naukowej Międzyuczelnianego Instytutu Biochemii w Poznaniu. Był członkiem międzynarodowych i krajowych towarzystw naukowych, New York Academy of Sciences (1959), International Federation of Clinical Chemistry (1965) oraz Polskiego Towarzystwa Biochemicznego.

Józef Chmiel był przede wszystkim wielkim humanistą i człowiekiem o niezwykłej życzliwości dla współpracowników i studentów. Te cechy charakteru, a zwłaszcza całokształt osiągnięć – imponujący mimo dosyć krótkiego życia – stały się powodem uczynienia prof. Chmiela patronem siedziby trzech jednostek Wydziału Farmaceutycznego, w tym

Katedry i Zakładu Biochemii Farmaceutycznej. Od roku 2007 budynek przy ul. Świącickiego 4 jest znany jako Collegium Profesora Józefa Chmiela, choć aktualnie mieszczą się tu już inne jednostki pośrednio jednak związane z diagnostyką.

Od Zakładu Biochemii do Katedry Biochemii Farmaceutycznej i nie tylko

W roku 1921 prof. Konstanty Hrynkowski, organizator i długoletni dyrektor Oddziału Farmaceutycznego UP, wprowadził do programu studiów farmaceutycznych zajęcia z chemii fizjologicznej, które odbywały się w Katedrze i Zakładzie Chemii Fizjologicznej Wydziału Lekarskiego UP. W latach 50. ubiegłego wieku, w dobie intensywnego rozwoju

nauk biologiczno-medycznych, stało się jeszcze bardziej oczywiste, że biochemia jest bardzo ważna dla zrozumienia mechanizmu działania i projektowania nowych leków. Musi więc znaleźć się w programach kształcenia farmaceutów. Z inicjatywy ówczesnego dziekana wydziału 1 stycznia 1963 roku utworzony został samodzielny Zakład Biochemii związany badawczo i dydaktycznie z farmacją, a na jego kierownika powołano doc. Józefa Chmiela.

Utworzenie Zakładu Biochemii dobrze wpisało się w historię nauk biomedycznych. Rok 1963 to 10. rocznica opisanie struktury DNA przez Watsona i Cricka, a także początek badań (1961–1966), które doprowadziły do odkrycia kodu genetycznego przez Khorana, Nirenberga i Holleya. W tym samym roku powstała także Federacja Europejskich Towarzystw Biochemicznych (FEBS), z której „usług” w późniejszych latach korzystali pracownicy katedry, uczestnicząc w konferencjach i szkoleniach, a także korzystając z oferowanych przez FEBS stypendiów.

Formalne powołanie Zakładu Biochemii w pierwszym roku nie wiązało się jeszcze z zaoferowaniem pomieszczeń do pracy. Stało się to dopiero 1 stycznia 1964 roku, kiedy zakładowi oddano do użytku trzy pomieszczenia w Collegium Chemicum. Tutaj zakład rozwijał swoją działalność naukową i dydaktyczną przez kolejnych 20 lat, aż do roku 1984, w którym przejęte zostały pomieszczenia po Katedrze i Zakładzie Toksykologii. Ćwiczenia z biochemii od 1965 roku odbywały się w sali Katedry Chemii Farmaceutycznej. Oczywiście to nie wystarczało, zwłaszcza że zespół złożony początkowo z trzech pracowników naukowo-dydaktycznych ciągle się poszerzał. Ograniczona baza lokalowa wymagała korzystania z gościnności zaprzyjaźnionych placó-

wek: Ośrodka Walki z Gruźlicą (OWG, później Ośrodek Chorób Płuc i Gruźlicy), PSK 2 i PSK 4, do prowadzenia zarówno prac badawczych, jak i dydaktyki. W momencie utworzenia Zakładu Biochemii oprócz zajęć z biochemii wprowadzono dla studentów farmacji, początkowo w ramach kierunku analitycznego (na V roku studiów), zajęcia z biochemii i chemii klinicznej. Ćwiczenia z tych przedmiotów odbywały się od samego początku aż do roku 1996 w OWG.

Ważnym momentem w historii Zakładu Biochemii było utworzenie w roku 1972 Pracowni Analityki Medycznej zlokalizowanej na terenie PSK 2 przy ul. Przybyszewskiego. Pracownia w 1978 roku została przekształcona w Zakład Analityki Medycznej, a w późniejszych latach dała początek dwóm nowym katedrom. Chronologicznie utworzenie pierwszej z nich, Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej przy Wydziale Lekarskim, było konsekwencją objęcia opieką merytoryczną i administracyjną utworzonego w roku 1976 Laboratorium analitycznego w Klinice, a następnie Katedrze Onkologii AM. W roku 1987 na bazie laboratorium został powołany Zakład Analityki, którego kierownikiem został pracownik „pierwotnego” Zakładu Analityki Medycznej i pierwszy doktorant prof. Chmiela na WF, późniejszy profesor Zygmunt Kopczyński. Zakład przekształcony został w roku 2002 w Zakład Diagnostyki, a w roku 2007 w Katedrę i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej.

W 1993 roku Zakład Analityki Medycznej po objęciu kierownictwa przez dr hab. Marię Rybczyńską przyjął nazwę Zakładu Chemii Klinicznej i wszedł w skład utworzonej w tym okresie Katedry Biochemii Farmaceutycznej. W roku 2008 zakład ten przekształcił się w samodzielną Katedrę Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej, a „stara” ka-



Fot. 4. Zespół Zakładu Biochemii i osoby zaprzyjaźnione. Od lewej: Joanna Nawrocka, mgr Zygmunt Kopczyński (doktorant), Zofia Lipska, mgr Bohdana Jurga (doktorantka), mgr Jerzy Gnojkowski, prof. dr hab. Józef Chmiel, dr hab. Arnold Jarczewski (UAM), mgr Krystyna Sochacka, mgr Bogdan Stachecki. Na zdjęciu nie znalazła się Mirosława Bartoszevska-Kaszkowiak. Fot. z 1970 roku

tedra przyjęła nazwę Katedry i Zakładu Biochemii Farmaceutycznej (KiZBF).

W ciągu swojej 61-letniej historii Zakład Biochemii wielokrotnie zmieniał formy organizacyjne oraz lokalizacje. W latach 2006–2023 aktualna Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej mieściła się w znajdującym się przy ul. Święcickiego 4 budynku, któremu nadano imię założyciela katedry, prof. Józefa Chmiela. Koniec roku 2023, czyli niemalże dokładnie 60 lat po utworzeniu Zakładu Biochemii, to kolejna zmiana lokalizacji, tym razem zapewne na długo. KiZBF stała się elementem oczekiwanego od 100 lat istnienia WF kompleksu Collegium Pharmaceuticum.

Nazwa katedry uzasadniona podejmowaną w niej problematyką badawczą

W początkowym okresie istnienia problematyka badawcza zakładu była naturalną konsekwencją dotychczasowych zainteresowań kierownika. Dominującymi tematami były zagadnienia metabolizmu elementów morfotycznych krwi, ze szczególnym uwzględnieniem krwinek czerwonych i płytek, oraz ocena wpływu związków cytostatycznych na metabolizm i przemiany energetyczne komórki. Krwinka czerwona była wykorzystywana jako modelowa komórka do oceny oddziaływania związków bio-

logicznie czynnych. Ten aspekt stanowił prognozę dalszego rozwoju i uzasadniał powstanie Katedry Biochemii Farmaceutycznej. Związki, które były przedmiotem badań w tamtym okresie, to przede wszystkim leki cytostatyczne, związki radioochronne i polielektrolity, ale także toksyny mocznicowe, których nagromadzenie w organizmie związane jest z przewlekłym zapaleniem nerek. Ta tematyka była domeną późniejszych profesorów Marii Rybczyńskiej i Zygmunta Kopczyńskiego.

Najistotniejsze osiągnięcia dotyczące metabolizmu krwinki czerwonej związane były z oceną oddziaływania czynników fizycznych i chemicznych na jej strukturę i szlak glikolizy. Seria prac z tego zakresu została wyróżniona nagrodą I stopnia Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej w 1973 roku.

Opracowana pod koniec lat 60. metoda hodowli limfocytów stymulowanych fitohemaglutyniną (PHA) została wykorzystana w Zakładzie Biochemii do oceny oddziaływania laktonów seskwiterpenowych, związków o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym, izolowanych w Ogrodzie Farmakognostycznym WF. Decydując się na wybór tego modelu, wzięto pod uwagę fakt, że sprzężenie, jakie występuje w limfoblastach między pobudzeniem syntezy DNA i glikolizy, upodabnia je do komórek nowotworowych. Najbardziej aktywna okazała się hydroksyizonobilina, która hamowała zarówno syntezę kwasów nukleinowych, jak i glikolizę poprzez bezpośrednie oddziaływanie na cząsteczkę białka enzymatycznego.

Ważną część dorobku naukowego pracowników Zakładu Biochemii, szczególnie z lat 70., stanowią prace będące wynikiem współpracy z klinikami AM w Poznaniu. Dotyczy to zwłaszcza analizy glikozoaminoglikanów w stanach zdro-

wia i choroby oraz wpływu czynników patogennych na ich metabolizm. Określano charakterystyczne dla wybranych schorzeń zmiany składu glikozoaminoglikanów we krwi i niektórych tkankach. Dotyczyło to soku żołądkowego, błony śluzowej żołądka i dwunastnicy w chorobie wrzodowej i nowotworowej oraz chrząstki wzrostowej w przypadkach skoliozy idiopatycznej, a także w nadczynności i niedoczynności tarczycy.

Objęcie kierownictwa katedry przez dr. hab. Władysława Fenrycha w roku 1984 zapoczątkowało badania metabolizmu tlenowego pobudzonych ludzkich granulocytów i jego modulacji przez antyoksydanty, szczególnie pochodzenia naturalnego. Poza analizą reaktywnych form tlenu do badań z tego zakresu współcześnie włączono ocenę oksydacyjnego uszkodzenia DNA oraz procesu apoptozy.

Na początku lat 80. wprowadzono do programu badań Zakładu Biochemii zagadnienie metabolizmu ksenobiotyków, które stało się jednym z wiodących aż do chwili obecnej. Podejście do tego tematu jednak zmieniało się wraz z rozwojem nowych technik i pojawiających się nowych problemów badawczych. W początkowym okresie dotyczyło to w szczególności interakcji związków kancerogennych z grupy policyklicznych węglowodorów aromatycznych (PWA) z DNA, charakterystyki enzymów związanych z cytochromem P450 oraz enzymów II fazy metabolizmu kancerogenów. Badania te miały na celu z jednej strony wyjaśnienie mechanizmu poszczególnych etapów kancerogenezy w modelach eksperymentalnych, a z drugiej – opracowanie w oparciu o tę wiedzę strategii przede wszystkim chemoprewencyjnych. Jednym z istotniejszych osiągnięć z tego zakresu było wykazanie znaczenia adduktów reaktywnych form PWA z deok-



Fot. 5. Zespół Katedry i Zakładu Biochemii Farmaceutycznej w roku przejścia na emeryturę prof. Wandy Baer-Dubowskiej – kierownika katedry w latach 1997–2017. Od lewej w pierwszym rzędzie: dr Aleksandra Majchrzak-Celińska, dr Małgorzata Zielińska-Przyjemka, dr hab. Hanna Szaefer, dr Barbara Licznarska (z Cecylią Licznarską), dr Ewa Ignatowicz; w drugim rzędzie: mgr Katarzyna Papierska, mgr Marta Cykowiak, mgr Hanna Sobierajska, prof. Wanda Baer-Dubowska, Barbara Jendras; w trzecim rzędzie: mgr Maria Narożna, dr hab. Violetta Krajka-Kuźniak, dr Jerzy Gnojowski (emeryt); w czwartym rzędzie: dr Robert Kleszcz, dr hab. Jarosław Paluszczak

syadenozyną (dAdo) w inicjacji procesu nowotworowego, a także odwrotnej korelacji powiązania między aktywnością kancerogenną związków a ich zdolnością do tworzenia tzw. polarnych adduktów.

Prace z tego zakresu realizowała późniejsza profesor Wanda Baer-Dubowska, korzystając ze staży naukowych w Institute for Cancer Research w Villejuif (Francja) i MD Anderson Cancer Center

w Houston (TX, USA). Do potencjalnych czynników antykancerogennych mogących mieć zastosowanie jako czynniki chemoprewencyjne należą zawarte w diecie człowieka roślinne związki fenolowe. Stanowią one przedmiot badań Zakładu Biochemii KBF od połowy lat 90. ubiegłego wieku. Analizowano zjawiska związane z inicjacją i promocją procesu nowotworowego, stosując modele *in vitro* i *in vivo*. Wykazano znaczące różnice w oddziaływaniu między fenolami o strukturze kwasów fenolowych i pochodnych stilbenu. Szczególnie aktywny okazał się kwas taninowy, który nie tylko modulował aktywność enzymów aktywujących kancerogeny, lecz także znacząco hamował tworzenie adduktów z dAdo w skórnym modelu kancerogenezy.

Poza pojedynczymi składnikami diety o potencjalnym działaniu chemoprewencyjnym przedmiotem badań zespołu były też złożone matryce żywieniowe, takie jak soki z aronii, buraka, jabłek oraz kapusty. Szczególnie interesujący okazał się sok z buraka, który zawiera specyficzną klasę antyoksydantów, zwanych betalainami. Sok z buraka podobnie jak sok z aronii obniżał aktywność cytochromów P4501A1/1A2 i 1B1 związanych z aktywacją zarówno chemicznych kancerogenów, jak i endogennych estrogenów, ale przede wszystkim zdecydowanie poprawiał wskaźniki uszkodzenia wątroby wywołane podawaniem kancerogenu. Podobne działanie w odniesieniu do markerów metabolizmu estrogenów stwierdzono w odniesieniu do soków z kapusty. Te obserwacje dostarczyły dowodów, że konsumpcja tradycyjnych składników diety środkowoeuropejskiej może obniżyć ryzyko niektórych nowotworów.

Dane, które stały się podstawą tych obserwacji, uzyskano w modelach zwierzęcych, a ocenie poddawano przede

wszystkim markery biochemiczne. Od roku 2006 zdecydowanie ograniczono badania na zwierzętach, a skoncentrowano się na modelach komórkowych i markerach molekularnych. Było to możliwe m.in. dzięki stworzeniu pracowni hodowli komórkowych i biologii molekularnej dzięki środkom uzyskanym z Sektorowego Programu Operacyjnego UE.

Przedmiotem badań stały się ścieżki przekazywania/transdukcji sygnałów i ich końcowych elementów – czynników transkrypcyjnych, takich jak NF- κ B, Nrf2 i STAT, oraz receptorów estrogenowych. Obok związków naturalnych badano modulację tych układów również za pośrednictwem syntetycznych analogów stilbenów, a także triterpenów i ich koniugatów z niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi. Ważnym elementem tematyki badawczej rozwijanym od roku 2005 stały się badania z zakresu epigenetyki, szczególnie metylacji DNA. Dotyczyły one przede wszystkim poszukiwania biomarkerów diagnostycznych i prognostycznych nowotworów głowy i szyi oraz guzów mózgu. Jednym z istotniejszych wniosków wynikających z tych badań było wykazanie, że profil metylacji specyficznych genów obserwowany w DNA guzów mózgu w dużej mierze był zgodny z profilem stwierdzanym w wolnokrążącym DNA w surowicy krwi tych samych pacjentów. Ta obserwacja wskazywała, że wolnokrążący DNA może być dobrą alternatywą dla materiału operacyjnego bądź biopsyjnego do celów diagnostycznych. Takie podejście wykorzystano w finansowanym przez NCBR, a realizowanym m.in. we współpracy z Instytutem Genetyki Człowieka oraz Katedrą Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej UMP projekcie „Płynna biopsja”, którego celem było opracowanie i wdrożenie epimarkerów do wczesnej diagnostyki nowotworów głowy i szyi.

Ponieważ zjawiska epigenetyczne są odwracalne, mogą stanowić element strategii chemoprewencyjnych i w tym kierunku były i nadal są prowadzone prace zespołu KiZBF. Dotyczy to m.in. badań związanych z oceną profilu metylacji genów modulujących ścieżkę sygnałową Wnt. Innym aspektem tych badań jest poszukiwanie powiązania między zwiększoną aktywnością tej ścieżki sygnałowej i zmienionym metabolizmem energetycznym komórek rakowych. Za interesowanie metabolizmem energetycznym komórek rakowych i ogólnie intensywnie proliferujących jest niejako powrotem „do źródeł”. Tą tematyką zajmowano się w Zakładzie Biochemii, jak opisano wyżej, już w latach 70. ubiegłego wieku. Nowe spojrzenie na tzw. efekt Warburga skłania do ponownego zajęcia się tym problemem. Stało się ono elementem prac badawczych realizowanych od roku 2015 i nadal kontynuowanych.

Dydaktyka

Zakład Biochemii powołany do nauczania biochemii studentów farmacji z upływem lat zwiększał zakres swoich obowiązków, w odniesieniu zarówno do przedmiotów, jak i kierunków studiów. Obok zajęć z biochemii wprowadzono programy z zakresu biochemii klinicznej i biologii molekularnej. Konsekwencją utworzenia nowych kierunków studiów było prowadzenie zajęć nie tylko dla studentów kierunków farmacja i analityka medyczna, ale także studentów kosmetologii, biotechnologii medycznej (enzymologia), inżynierii farmaceutycznej oraz analityki kryminalistycznej i sądowej. Przedmiot Biochemistry and Molecular Biology, a także przygotowanie do FPPE realizowane były dla studentów programu Pharm D.

W ramach programu Socrates/Erasmus, a później Erasmus+ w katedrze odbywali staże studenci z różnych krajów europejskich, a w ramach wymiany za pośrednictwem IPSF – także spoza Europy.

Prace magisterskie w KiZBF każdego roku przygotowywało przeciętnie 12 studentów. Wśród nich byli również studenci anglojęzyczni. W ostatnim 20-leciu zwykle jeden student czy dwoje studentów realizowało każdego roku część eksperymentalną pracy magisterskiej w ramach programu Socrates/Erasmus lub aktualnie Erasmus+ w ośrodkach zagranicznych (Linköping w Szwecji, Berlin i Dortmund w Niemczech, Nancy we Francji, Groningen w Holandii). Wielu z nich w kolejnych latach uzyskiwało stopnie doktora w renomowanych ośrodkach krajowych i zagranicznych. Już w pierwszych latach swego istnienia przy Zakładzie Biochemii aktywnie działało Studenckie Koło Naukowe. Aktualnie jego opiekunem jest dr hab. Aleksandra Majchrzak-Celińska, a jego członkowie prezentują swoje wyniki na studenckich konferencjach Biosfera, International Congress of Young Medical Scientists organizowanych w Poznaniu, a także w innych ośrodkach, np. konferencji GENOMICA w Krakowie, co wiąże się z wystawianiem wysokich ocen przez odpowiednie gremia UMP.

Integralną częścią programu nauczania na kierunku analityka medyczna jest też organizacja praktyk wakacyjnych dla studentów tego kierunku.

Katedra prowadziła szkolenie podyplomowe i nadal to robi. Najważniejsze były działające w latach 2007–2019 studia podyplomowe z zakresu analityki medycznej. Funkcję kierownika tych studiów powierzono prof. Wandzie Baer-Dubowskiej, która także sprawowała nadzór na praktykami słuchaczy

studiów. Zespół katedry realizował zająć z biochemii klinicznej oraz był zaangażowany w przygotowanie i przeprowadzenie egzaminu końcowego. Jego pomysły wynik umożliwiały ubieganie się o uzyskanie uprawnień diagnosty laboratoryjnego w KIDL.

Współpraca

Swoje zadania katedra realizowała we współpracy z wieloma placówkami spoza macierzystej uczelni. Szczególnie owocne były powiązania z Instytutem Genetyki Człowieka PAN oraz Katedrą Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności Politechniki Gdańskiej. Przyjazne relacje z profesorami Andrzejem Pawlakiem, a szczególnie Krzysztofem Szyfterem – kolejnymi kierownikami Zakładu Mutagenozy (aktualnie Zakład Genetyki Nowotworów) – umożliwiały wykonywanie zadań, do których katedra nie posiadała wyposażenia. W ostatnich latach już pod nowym kierownictwem zakładu zrealizowano m.in. wspólny projekt „Płynna biopsja”, finansowany przez NCBR. Nawiązana z Katedrą Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności PG współpraca, której efektem są liczne publikacje i... niezawodna od 20 lat zamrażarka, była możliwa dzięki przyjaznym relacjom z prof. Agnieszką Bartoszek. Wśród zasłużonych dla KiZBF należy też wymienić kierowników „siostrzanych” katedr w Warszawie i Łodzi – prof. Jana Pachecki oraz prof. Marka Mirowskiego.

Alumni, czyli nasi byli pracownicy i absolwenci w świecie

W ciągu swojej ponad 60-letniej historii, a szczególnie w ostatnim 20-leciu,

KiZBF „dorobiła się” sporej grupy absolwentów pracujących w renomowanych ośrodkach naukowych za granicą. Najstarszą w tym klubie jest dr Hanna Wład, która po doktoracie w 1987 roku rozpoczęła pracę w Uppsali (Szwecja) w Department of Medical and Physiological Chemistry, Uppsala University, a zakończyła w Center for Surface Biotechnology, Uppsala Biomedical Center, kontynuując zasadniczo tematykę zapoczątkowaną na naszej uczelni.

Po rocznym stażu w KBF (2001) dr Bartosz Balana wraz z inną naszą absolwentką Moniką Suchanek rozpoczął studia doktoranckie w Dreźnie (International Max Planck Research School for Molecular Cell Biology and Bioengineering), a po ich ukończeniu przez 6 lat pracował w słynnym Salk Institute w San Diego (Kalifornia). Aktualnie jest kierownikiem (Senior Scientist) zespołu Biology Team w Janssen Research & Development, Janssen Pharmaceutical Companies of Johnson & Johnson. Zespół opracował m.in. jedną z wersji szczepionki przeciw COVID-19.

Osiągnięciami innej naszej absolwentki i pracowniczki Doroty Przybylskiej-Lubańskiej, afiliowanej od roku 2007 w Department of Biomedical Sciences, University of Windsor, Ontario (Kanada), opublikowanymi w prestiżowym czasopiśmie „Cancer Cell”, zainteresowała się nawet lokalna gazeta „Windsor Star”, w której ukazał się artykuł „Why do brain tumours return? U of W may have the answer” (16.01.2013).

Z nieco młodszych absolwentów na kontynencie amerykańskim reprezentują nas dr Julia Paczkowska (Dana-Farber Cancer Institute in Boston, doktorat IGCz PAN) oraz dr Adam Krystofiak (Department of Therapeutic Radiology, Yale School of Medicine, New Haven, CT, doktorat University of Duisburg-



Fot. 6. Zespół Katedry i Zakładu Biochemii Farmaceutycznej w 2024 roku. Od lewej: Alina Kubańska, Monika Kupińska, mgr Marta Belka, prof. UMP dr hab. Hanna Szafer, dr hab. Aleksandra Majchrzak-Celińska, mgr inż. Anna Sobiak-Przybylska, mgr Anna Rybarczyk, dr Katarzyna Papierska, prof. dr hab. Wanda Baer-Dubowska (na emeryturze), mgr Dawid Dorna, dr inż. Ewelina Musielak, dr hab. Robert Kleszcz, mgr Olga Obrzut, dr Barbara Licznarska, prof. dr hab. Violetta Krajka-Kuźniak (kierownik KiZBF). Nieobecni na zdjęciu pracownicy: prof. UMP dr hab. Jarosław Paluszczak, mgr Hanna Sobierajska

-Essen). Najmłodszą naszą przedstawicielką w USA jest dr Maria Narożna. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych w naszej katedrze (2022) rozwija karierę naukową w Oklahoma Medical Research Foundation, Oklahoma City, OK). Ciekawostką jest fakt, że w tym samym ośrodku odbywał staż (1967–1968) prof. Władysław Fenrych, kierownik KBF w latach 1984–1997.

Wielu naszych absolwentów, najczęściej członków SKN, a potem beneficjentów programu Erasmus, rozwija swoje kariery w Skandynawii (Szwecja, Norwegia) i Niemczech.

Podsumowanie

W ciągu ponad 60 lat od powołania niewielki Zakład Biochemii kierowany przez prof. Józefa Chmiela i jego następców nie tylko dał początek niezależnym jednostkom UMP, ale także przyczynił się do powstania i rozwoju w regionie kierunku analityka medyczna oraz diagnostyka laboratoryjna. Prace KiZBF, będącej bezpośrednią kontynuatorką pierwotnego Zakładu Biochemii, są znane i doceniane w kręgu specjalistów z tej dziedziny w kraju i za granicą. Zajęcia z przedmiotów biochemia i biologia mo-

lekularna dla studentów farmacji i kierunków pokrewnych dostarczają im wiedzy na temat biochemicznych i molekularnych podstaw projektowania i rozumienia działania leków. Choć w programach dla studentów dużo miejsca zajmują przedmioty z zakresu chemii, to w swoich badaniach pracownicy WF w większości wykorzystują techniki biologii molekularnej i biochemii. To nieoczekiwany sukces założyciela Zakładu Biochemii i tych, którzy podjęli decyzję o utworzeniu tej jednostki na Wydziale Farmaceutycznym AM.

Piśmiennictwo

- Baer-Dubowska W. Katedra Biochemii Farmaceutycznej. W: A Magowska (red.). 85-lecie studiów w zakresie farmacji i 25-lecie studiów w zakresie analityki medycznej w Poznaniu. Poznań 2005.
- Baer-Dubowska W, Krajka-Kuźniak V. Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej. W: A Magowska, T Gośliński, I Muszalska, L Zaprutko (red.). 100-lecie studiów farmaceutycznych w Poznaniu. Wydział Farmaceutyczny i Oddział Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w latach 2004–2018. Poznań 2019.
- Baer-Dubowska W. Profesor Józef Chmiel (1924–1984). W: M Musielak (red.). Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w latach 1950–2019. Historia i luminarze nauki. Poznań 2019.
- Prace Katedry i Zakładu Biochemii Farmaceutycznej. Biblioteka UMP, <http://150.254.179.40/bazy/publikacje>.

Aktualne kierunki badań i perspektywy rozwoju Katedry i Zakładu Biochemii Farmaceutycznej UMP

W latach 2017–2024 w KiZBF kontynuowano dotychczasową wiodącą tematykę badawczą, mającą na celu poszukiwanie naturalnych i syntetycznych związków o potencjalnym działaniu chemoprewencyjnym, ze szczególnym uwzględnieniem modulatorów szlaków sygnałowych, takich jak Nrf2, NF- κ B, STAT3 oraz Wnt. Realizacja tej tematyki była możliwa dzięki finansowaniu uzyskanemu w ramach dwóch projektów OPUS. Celem jednego z nich, realizowanego we współpracy z Katedrą i Zakładem Chemii Organicznej UMP, była ocena działania koniugatów kwasu oleanowego z NLPZ. Efektem prac było m.in. wykazanie, że koniugat diklofenaku z morfolidem oksymu kwasu oleanowego hamuje aktywację ścieżek sygnałowych Nrf2-ARE i NF- κ B w komórkach raka wątroby, co skutkuje zahamowaniem cyklu komórkowego i zmniejszoną proliferacją oraz ograniczeniem wzrostu guza *in vivo*. W drugim projekcie OPUS, realizowanym we współpracy z Katedrą i Zakładem Toksykologii, oceniono m.in. chemoprewencyjny potencjał kom-

binacji fitozwiązków w komórkach raka trzustki. Badania z tego zakresu były częścią projektu UE COST i wykazały, że kombinacja ksantohumolu z izotiocyanianem fenyloetylu jest najskuteczniejszym aktywatorem Nrf2 i jednocześnie oddziałuje na ścieżki sygnałowe powiązane z tym czynnikiem transkrypcyjnym, NF- κ B, STAT3 i STAT5 oraz CREB bezpośrednio związane z patogenezą raków trzustki.

W ramach współpracy z Zakładem Krystalografii Wydziału Chemii UAM realizowano projekt mający na celu ocenę działania nowych syntetycznych tio pochodnych chalkonów w odniesieniu do raków jelita grubego, a także nowotworów wątroby. Działanie tych związków porównywano z fitozwiązkami pochodzącymi z porostów. Uzyskane wyniki wykazały, że zarówno syntetyczne pochodne chalkonów, jak i wtórne metabolity porostów wykazują działanie na różnych poziomach aktywacji i ekspresji szlaków Nrf2, NF- κ B i STAT3. Jednak nie udało się wskazać ich najkorzystniejszych punktów uchwytu na tych szlakach ze względu na ich plejotropowe działanie.

Aktualnie w ramach współpracy z Katedrą Kosmetologii Praktycznej i Profilaktyki Chorób Skóry UMP oraz Katedrą Farmakognozji Uniwersytetu Jagiellońskiego prowadzone są badania nad potencjalnym działaniem terapeutycznym seskwiterpenu – stizoliny izolowanej ze *Stizolophus balsamita* – w odniesieniu do czerniaka. Wstępne badania wykazały hamowanie poziomu białek BRAF, RAF-1, RAS, co sugeruje, że stizolina może ograniczać proliferację komórek nowotworowych i hamować rozwój czerniaka. Uzasadnia to prowadzenie dalszych badań przedklinicznych.

Innym nowym tematem badawczym realizowanym we współpracy z Katedrą

Chemii Farmaceutycznej UMP jest ocena skuteczności inkorporacji nowych związków, a także leków oraz ich kombinacji do nośników, takich jak liposomy. Celem tych działań było zwiększenie biodostępności leków, szczególnie w odniesieniu do terapii glejaków. Badania te są realizowane aktualnie w ramach projektu Preludium Bis i obejmują ocenę oddziaływania kannabidiolu oraz jego kombinacji z celekoksybem i 2,5-dimetylocelekoksybem na szlaki sygnałowe Wnt, Nrf2 i NF- κ B w modelu zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*.

Kolejnym nowym kierunkiem badań prowadzonych również we współpracy z Katedrą i Zakładem Chemii Farmaceutycznej UMP, zapoczątkowanych w ramach projektu NCBR LIDER, jest ocena właściwości hepatoprotekcyjnych prototypów nanoemulsji o potencjalnym zastosowaniu w żywieniu pozajelitowym. Kontynuacja tej tematyki była możliwa dzięki otrzymaniu kolejnego finansowania w konkursie NCN OPUS. W ramach tego projektu prowadzone są badania nad poszukiwaniem naturalnych agonistów receptora farnezoidu (FXR), o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu wątrobowych powikłań żywienia pozajelitowego. FXR reguluje transkrypcję genów mających wpływ na metabolizm lipidów i glukozy, ale także reguluje procesy zapalne, prawdopodobnie poprzez uczestnictwo w represji kompleksu NF- κ B.

Kontynuowane są realizowane w przeszłości badania z zakresu epigenetyki oraz metabolizmu energetycznego nowotworów.

Współpraca z otoczeniem gospodarczym odgrywa szczególnie ważną rolę w każdej jednostce badawczej. Katedra uzyskała finansowanie ze środków Agencji Badań Medycznych (ABM) w ramach konsorcjum z Regionalnym Cen-

trum Zdrowia i UMP na opracowanie opatrunku hemostatycznego.

Działalność dydaktyczna katedry w latach 2017–2024 znacząco się rozwinęła w związku z wprowadzeniem nowych kierunków studiów na Wydziale Farmaceutycznym: inżynierii farmaceutycznej (I i II stopnia), analityki kryminalistycznej i sądowej (I i II stopnia) oraz studiów podyplomowych dla osób wykwalifikowanych. W ramach tych kierunków realizowano takie przedmioty, jak: inżynieria białek terapeutycznych, podstawy biochemii klinicznej w analityce kryminalistycznej oraz epigenetyka w kryminalistyce – praktyczne wykorzystanie metod analizy DNA.

Katedra angażowała się również w działalność organizacyjną i promocję uniwersytetu, organizując cykliczne warsztaty w ramach Festiwalu Nauki i Sztuki oraz finansowany przez MEiN projekt „Z farmacją na ty”, skierowany do społeczności Wielkopolski. Współpracowano także z towarzystwami studentkimi, prowadząc akcje: „Mały diagnosta” oraz „Co licealista wie o laboratorium”. Katedra była również miejscem realizacji praktyk w ramach międzynarodowej wymiany studenckiej, koordynowanej przez Polskie Towarzystwo Studentów Farmacji.

Nawiązane współpracy oraz warunki, jakie stwarza nowa siedziba katedry, a przede wszystkim doświadczenie zespołu pozwalają z optymizmem spoglądać w przyszłość.

Piśmiennictwo

Cykowiak M, Krajka-Kuźniak V, Baer-Dubowska W. Combinations of phytochemicals more efficiently than single components activate Nrf2 and induce the expression of antioxidant enzymes in pancreatic cancer cells. *Nutr Cancer*. 2022;74(3):996–1011.

Kuźmińska J, Sobczak A, Majchrzak-Celińska A., Żółnowska J, Gostyńska A, Jadach B, Krajka-Kuźniak V, Jelińska A, Stawny M. Etoricoxib-Cannabidiol Combo: Potential role in glioblastoma treatment and development of PLGA-based nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2023;15(8):2104.

Narożna M, Krajka-Kuźniak V, Bednarczyk-Cwynar B, Kucińska M, Kleszcz R, Kujawski J, Piotrowska-Kempisty H, Plewiński A, Murias M, Baer-Dubowska W. Conjugation of diclofenac with novel oleanolic acid derivatives modulate Nrf2 and NF-κB activity in hepatic cancer cells and normal hepatocytes leading to enhancement of its therapeutic and chemopreventive potential. *Pharmaceutics*. 2021;14(7):1–27.

**Hanna Szaefer,
Barbara Licznarska**

Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

Receptor AhR i jego powiązanie z Nrf2 i ER jako cel oddziaływania naturalnych i syntetycznych czynników chemoprewencyjnych

Receptor węglowodorów aromatycznych (AhR) to czynnik transkrypcyjny związany przede wszystkim z aktywacją wielu ksenobiotyków, w tym chemicznych kancerogenów. W ostatnich latach wykazano jego zaangażowanie w szereg innych procesów komórkowych, takich jak: różnicowanie, transformacja nowotworowa, regulacja odpowiedzi immunologicznej, stany zapalne oraz metabolizm. Dodatkowo liczne badania wskazują na interakcję pomiędzy AhR i wieloma innymi czynnikami transkrypcyjnymi, zwłaszcza jądrowym czynnikiem transkrypcyjnym Nrf2 i receptorami estrogenowymi (ER).

Modulacja tych szlaków sygnałowych może być atrakcyjną strategią dla chemoprewencji nowotworów. Wśród fitozwiązków szczególnie interesujące wydają się zawierające siarkę pochodne glukozyzynolanów, takie jak indolo-3-karbinol (I3C) i pochodne resweratrolu.

I3C i jego produkt kondensacji, 3,3'-diindolilometan (DIM), to klasyczne przykłady czynników blokujących zwiększających aktywność enzymów metabolizujących ksenobiotyki poprzez aktywację AhR. Wpływają one także na wiele podstawowych szlaków sygnalizacyjnych istotnych dla profilaktyki nowotworów hormonozależnych. Przeprowadzone przez nas badania wykazały, że związki te zwiększają ekspresję AhR i Nrf2 przy jednocześnie zmniejszonej ekspresji receptora ER α . Resweratrol jest kompetycyjnym antagonistą kilku klasycznych ligandów AhR. Jego działanie w odniesieniu do AhR i ER α uzależnione jest od zastosowanego stężenia. Związek ten jest też induktorem Nrf2. Niska biodostępność i inne ograniczenia resweratrolu skłaniają do poszukiwań jego syntetycznych pochodnych. Nasze badania wykazały, że analogi resweratrolu podstawione resztami metoksyłowymi są skuteczniejszymi modulatorami zależności AhR-Nrf2-ER α niż związek macierzysty.

Ogólna ocena działania tych związków wskazuje, że łączna modulacja AhR-Nrf2-ER α może skutecznie zapobiegać inicjacji i promocji procesu kancerogenezy. Należy jednak pamiętać, że w agresywnych formach raków AhR i Nrf2 często ulegają konstytutywnej zwiększonej ekspresji. Wymienione wyżej związki mogą zwiększać apoptozę i śmierć tych komórek. Precyzyjne rozróżnienie różnych aktywności modujących oś AhR-Nrf2-ER przez fitozwiązki pozostaje nadal wyzwaniem.

Piśmiennictwo

Licznarska B, Szaefer H, Wierzchowski M, Mikstacka R, Papierska K, Baer-Dubowska W. Evaluation of the effect of the new methoxy-stilbenes on expression of receptors and enzymes involved in es-

trogen synthesis in cancer breast cells. *Mol Cell Biochem.* 2018;444(1-2):53-62.

Szaefer H, Krajka-Kuźniak V, Licznarska B, Bartoszek A, Baer-Dubowska W. Cabbage juices and indoles modulate the expression profile of AhR, ER α , and Nrf2 in human breast cell lines. *Nutr Cancer.* 2015;67(8):1342-1354.

Szaefer H, Licznarska B, Baer-Dubowska W. The aryl hydrocarbon receptor and its crosstalk: A chemopreventive target of naturally occurring and modified phytochemicals. *Molecules.* 2024;29(18):4283.

Epigenetyka nowotworów – od modelu skórnej kancerogenezy do „płynnej biopsji”

W modelu skórnej kancerogenezy u myszy po etapie inicjacji indukowanej działaniem silnych mutagenów następuje etap promocji skutkujący m.in. nadmierną proliferacją komórek pod wpływem zastosowanych promotorów kancerogenezy, prowadząc do powstania brodawczaków. Etap promocji ma być skutkiem działania mechanizmów „epigenetycznych”, co w tym ujęciu oznacza zmiany w aktywności ścieżek sygnalizacyjnych regulujących m.in. tempo proliferacji komórek czy reakcję zapalną.

We współczesnym ujęciu w złożonym procesie regulacji ekspresji genów biorą udział mechanizmy epigenetyczne, które obejmują kowalencyjne modyfikacje DNA i histonów. Co ważne, genomowy profil metylacji DNA podlega specyficznym zmianom w komórkach nowotworowych, a nadmierna metylacja sekwencji promotorowych genów supresji nowotworowej prowadzi do ich wyciszenia. Analiza wzorca zmian profilu metylacji DNA może służyć do diagnostyki molekularnej nowotworów. Współcześnie ogromne nadzieje wiąże się z wdrożeniem „płynnej biopsji”, polegającej na

wykrywaniu markerów nowotworowych w nieinwazyjnym materiale pobranym od pacjenta.

W przeprowadzonych badaniach wykorzystano technikę nested MethyLight do oceny poziomu metylacji wybranych genów w próbkach DNA wyizolowanych z wycinków tkanek, a także w próbkach cfDNA z osocza pacjentów z nowotworami płaskonabłonkowymi głowy i szyi (HNSCC). Stwierdzono istotnie podwyższoną metylację kilku genów, co pozwoliło zidentyfikować markery różniące materiał pochodzący od pacjentów z HNSCC od materiału ochotników z grupy kontrolnej. Co więcej, podwyższony poziom metylacji kilku genów korelował z gorszym rokowaniem u pacjentów z HNSCC. Wskazuje to na przydatność oceny zmian metylacji DNA analizowanego panelu genów w diagnostyce HNSCC.

Badania przeprowadzono w ramach realizacji grantu NCBiR nr POIR.04.01.04-00-0003/17-00 „Płynna biopsja – narzędzie do wykrywania »odcisków raka« we krwi obwodowej pacjentów z rakami głowy i szyi”.

Piśmiennictwo

- DiGiovanni J. Multistage carcinogenesis in mouse skin. *Pharmacol Ther.* 1992;54(1):63-128.
- Paluszcza J, Baer-Dubowska W. Epigenetic diagnostics of cancer – the application of DNA methylation markers. *J Appl Genet.* 2006;47(4):365-375.
- Skalski M, Paluszcza J. Technological advances in free-circulating tumor-derived DNA methylation analysis. *J Med Sci.* 2019;88:256-260.

Charakterystyka epigenetyczna oraz poszukiwanie nowych inhibitorów szlaku Wnt aktywnych w komórkach glejaka wielopostaciowego

Glejak wielopostaciowy (GBM) to najbardziej złośliwy i najczęściej diagnozowany pierwotny guz mózgu u osób dorosłych. Średni czas przeżycia pacjenta z GBM często nie przekracza kilkunastu miesięcy. Złe rokowania GBM wynikają m.in. z naciekowego wzrostu guza, obecności komórek macierzystych nowotworu oraz oporności na chemio- i radioterapię. Wszystkie te czynniki pozostają pod kontrolą molekularnych ścieżek przekazywania sygnału, których modulacja może być cennym punktem uchwytu dla nowych terapii.

Jednym z kluczowych dla GBM szlaków sygnalizacyjnych jest kanoniczny szlak Wnt. Wykazano, że wybrane związki pochodzenia naturalnego, tj. metabolity wtórne porostów, a w szczególności kwas kaperatowy, hamują szlak Wnt oraz wzmacniają przeciwnowotworowe działanie temozolomidu. Ponadto związki syntetyczne, tj. metoksyłowe pochodne resweratrolu, hamują translokację β -kateniny do jądra komórkowego oraz obniżają ekspresję ge-

nów docelowych szlaku. Do cennych inhibitorów szlaku Wnt zaliczyć można również leki z grupy koksycybów oraz 2,5-dimetylocelekoksyb, które hamują szlak Wnt oraz szlak COX-2/PGE2/EP4, przyczyniając się do zahamowania cyklu komórkowego oraz indukcji apoptozy komórek GBM.

Analiza epigenetyczna komórek pacjentów z guzami glejowymi wykazała natomiast, że metylacja genów kodujących antagonistów ścieżki Wnt jest częsta w guzach glejowych mózgu, zaś metylacja genu *SFRP1* jest wyznacznikiem gorszego rokowania. Dalsze analizy doprowadziły do wyłonienia panelu siedmiu genów, mogącego wspierać diagnostykę guzów glejowych; wnioskiem płynącym z pracy było również wskazanie, że technika MS-HRM jest optymalną metodą do analizy metylacji w warunkach klinicznych. Dalsze badania z wykorzystaniem technologii CRISPR/Cas9 pozwoliły natomiast na określenie roli transportera ABCB1 w odpowiedzi komórek GBM na temozolomid, karmustynę i lomustynę.

Piśmiennictwo

- Majchrzak-Celińska A, Dybska E, Barciszewska AM. DNA methylation analysis with methylation-sensitive high-resolution melting (MS-HRM) reveals gene panel for glioma characteristics. *CNS Neurosci Ther*. 2020;26:1303–1314.
- Majchrzak-Celińska A, Kleszcz R, Studzińska-Sroka E, Łukaszyk A, Szoszkiewicz A, Stelcer E, Jopek K, Rucinski M, Cielecka-Piontek J, Krajka-Kuźniak V. Lichen secondary metabolites inhibit the Wnt/ β -catenin pathway in glioblastoma cells and improve the anticancer effects of temozolomide. *Cells*. 2022;11(7):1084.
- Majchrzak-Celińska A, Misiorek JO, Kruhlenia N, Przybył L, Kleszcz R, Rolle K, Krajka-Kuźniak V. COXIBs and 2,5-dimethylcelecoxib counteract the hyperactivated Wnt/ β -catenin pathway and

- COX-2/PGE2/EP4 signaling in glioblastoma cells. *BMC Cancer*. 2021;21(1):493.
- Majchrzak-Celińska A, Stocińska M, Barciszewska AM, Nowak S, Baer-Dubowska W. Wnt pathway antagonists, SFRP1, SFRP2, SOX17, and PPP2R2B, are methylated in gliomas and SFRP1 methylation predicts shorter survival. *J Appl Genet*. 2016;57:189–197.
- Majchrzak-Celińska A, Zielińska-Przyjemska M, Wierzchowski M, Kleszcz R, Studzińska-Sroka E, Kaczmarek M, Paluszczak J, Cielecka-Piontek J, Krajka-Kuźniak V. Methoxy-stilbenes downregulate the transcription of Wnt/ β -catenin-dependent genes and lead to cell cycle arrest and apoptosis in human T98G glioblastoma cells. *Adv Med Sci*. 2021;66(1):6–20.
- Radtke L, Majchrzak-Celińska A, Awortwe C, Vater I, Nagel I, Sebens S, Cascorbi I, Kaehler M. CRISPR/Cas9-induced knockout reveals the role of ABCB1 in the response to temozolomide, carmustine and lomustine in glioblastoma multiforme. *Pharmacol Res*. 2022;185:106510.

Robert Kleszcz

Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

Podróż po szlakach, czyli koncepcje molekularnych punktów uchwytu w terapii nowotworów głowy i szyi

Płaskonabłonkowe nowotwory głowy i szyi (HNSCC) obejmują obszar jamy ustnej (w tym także wargi), nosogardziel, ustną i krtaniową część gardła oraz krtani. Jedno z kryteriów podziału HNSCC dotyczy infekcji *human papilloma virus* (HPV), co ma przełożenie na prognozy dla pacjentów. Przypadki HPV-dodatnie obecnie wynikają przede wszystkim z infekcji wirusem HPV-16, z kolei HNSCC HPV-ujemne mają bardziej złożony zakres zmian na poziomie molekularnym, co wpływa niestety na gorsze rokowania dla pacjentów. Dlatego w odpowiedzi na trudności terapeutyczne HNSCC HPV-ujemnych prowadzone są badania nad molekularnymi celami terapii.

Stosowanie pojedynczych inhibitorów ścieżek sygnalizacyjnych, np. cetuksimabu (inhibitora receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGFR), powoduje rozwinięcie się oporności komórek HNSCC. Wynika to m.in. z aktywacji ścieżki na dalszych etapach transdukcji sygnału lub pobudzania alternatywnych ścieżek sygnałowych w celu zastąpienia

efektów aktywacji EGFR. Zaproponowanym sposobem zwiększenia skuteczności terapii celowanej molekularnie jest łączenie inhibitorów o odmiennych mechanizmach działania. Eksperymenty przeprowadzone na komórkach HNSCC dały obiecujące wyniki w przypadku jednoczesnego hamowania aktywności kanonicznej ścieżki sygnałowej Wnt oraz szlaku EGFR, 3-kinazy fosfatidylinozytolu lub ścieżki sygnałowej Hedgehog. Same inhibitory ścieżki Wnt, w tym szczególnie PRI-724, wpływają znacząco na metabolizm energetyczny glukozy komórek HNSCC, czyli ingerują w tzw. efekt Warburga. Przeciwnowotworowy mechanizm działania oparty na normalizacji metabolizmu może być dodatkowo spotęgowany przez połączenie z hamowaniem kluczowych regulatorów metabolizmu energetycznego, w tym kinazy Akt lub glikolizy na poziomie heksokinazy.

Koncepcje molekularnych punktów uchwytu w terapii HNSCC obejmują ingerencję także w inne procesy komórkowe, m.in. stres oksydacyjny, regulację epigenetyczną i kontrolę immunologiczną. Dalsze badania są niezbędne dla odkrycia najskuteczniejszych połączeń terapii celowanej molekularnie.

Piśmiennictwo

- Kleszcz R, Frąckowiak M, Dorna D, Paluszcak J. Combinations of PRI-724 Wnt/ β -catenin pathway inhibitor with vismodegib, erlotinib, or HS-173 synergistically inhibit head and neck squamous cancer cells. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13):10448.
- Kleszcz R, Paluszcak J, Belka M, Krajka-Kuźniak V. PRI-724 and IWP-O1 Wnt signaling pathway inhibitors modulate the expression of glycolytic enzymes in tongue cancer cell lines. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45(12):9579–9592.
- Kleszcz R, Paluszcak J. The combinatorial inhibition of Wnt signaling and Akt

kinase is beneficial for reducing the survival and glycolytic activity of tongue cancer cells. *J Oral Pathol Med.* 2022;51(3):231–239.

- Kleszcz R, Paluszcak J. The Wnt signaling pathway inhibitors improve the therapeutic activity of glycolysis modulators against tongue cancer cells. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1248.

**Katarzyna Papierska¹,
Maciej Kubicki²,
Violetta Krajka-Kuźniak¹**

¹ Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

² Zakład Krystalografii, Wydział
Chemii UAM

Poszukiwanie aktywnych biologicznie tiopochodnych chalkonów w odniesieniu do komórek rakowych przewodu pokarmowego

Chalkony, należące do grupy naturalnych flawonoidów, wykazują szereg aktywności biologicznych, w tym aktywność przeciwnowotworową. Wykazano, że związki te mogą hamować wzrost i proliferację komórek nowotworowych, indukować apoptozę oraz regulować procesy rozwoju i progresji guza. Oprócz potencjalnych zastosowań terapeutycznych chalkony badano również pod kątem ich działania chemoprewencyjnego. Biologiczne właściwości chalkonów czynią je więc obiecującym obiektem badań w zakresie opracowywania nowych metod leczenia raka i strategii prewencyjnych. Wartościowymi w tym zakresie okazały się nowe syntetyczne tiopochodne chalkonów. Liczne badania *in vitro* wykazały, że modyfikacje strukturalne obejmujące zastąpienie atomu dwuwartościowego tlenu przez siarkę mają wpływ na ich aktywność przeciwnowotworową. Nowe tiopochodne chalkonów, różniące się miejscem podstawienia grupy tiolowej w swojej strukturze chemicznej, wykorzystaliśmy do oceny ich cytotoksyczności, analizy aktywności

ekspresji określonych białek oraz testów cytometrii przepływowej. Pozwoliło to na wytypowanie związków najbardziej aktywnych wobec komórek rakowych jelita grubego oraz wątroby.

Uzyskane wyniki potwierdziły możliwość wykorzystania głównie tiopochodnej 3-(3-metoksy-4-metylotiofenylo)-1-(3-bromo-5-metoksy-4-metylotiofen)prop-2-en-1-on w chemoprewencji i/lub terapii nowotworów, których patogenezę wiąże się ze wzmożoną ekspresją czynników transkrypcyjnych NF-κB oraz STAT3. Wzajemne powiązania ścieżek sygnałowych NF-κB i STAT3 oraz aberracje w mechanizmach ich aktywacji dają możliwość wykorzystania ich jako punktu uchwytu w komórkach rakowych dla potencjalnych związków chemioterapeutycznych. Takie celowane działanie powinno wiązać się z brakiem dodatkowych efektów niepożądanych, tak uciążliwych dla pacjentów, a obecnie powszechnie obserwowanych podczas tradycyjnych protokołów terapii przeciwnowotworowych, a potwierdzeniem tego będą kolejne badania *in vivo*.

Piśmiennictwo

- Krajka-Kuźniak V, Belka M, Papierska K. Targeting STAT3 and NF-κB signaling pathways in cancer prevention and treatment: The role of chalcones. *Cancers*. 2024;16(6):1092.
- Papierska K, Judasz E, Tonińska W, Kubicki M, Krajka-Kuźniak V. Modulatory effects of chalcone thio-derivatives on NF-κB and STAT3 signaling pathways in hepatocellular carcinoma cells: A study on selected active compounds. *Int J Mol Sci*. 2024;25(19):10739.
- Papierska K, Krajka-Kuźniak V, Kleszcz R, Stefański T, Kurczab R, Kubicki M. The synthesis of novel thioderivatives chalcones and their influence on NF-κB, STAT3 and Nrf2 signaling pathways in colorectal cancer cells. *Sci Rep*. 2023;12(1):14915.

**Barbara Licznarska,
Hanna Szafer,
Hanna Sobierajska**

Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

Cytochromy P450 jako biochemiczny cel dla chemoprewencji i terapii raka piersi

Białka rodziny cytochromów P450 (CYP) katalizują szereg reakcji istotnych w metabolizmie substancji zarówno egzogennych, jak i endogennych, do których zalicza się m.in. estrogeny, uważane za jeden z głównych czynników rozwoju raka piersi. Ostatnio stwierdzono także ekspresję tzw. cytochromów sierocych (o nieznanym profilu biochemicznym) w procesie rozwoju nowotworów piersi.

W przedstawianych badaniach wykorzystano model trzech linii komórkowych nabłonka gruczołu piersiowego: nowotworowe (ER-zależna MCF7, ER-niezależna MDA-MB-231) i nienowotworową MCF10A. Badano wpływ związków naturalnych: indolo-3-karbinolu (I3C), diindolometanu (DIM), sulforafanu (SFN) i resweratrolu (RES) oraz jego syntetycznych metoksypochodnych (3MS, 4MS, 5MS) na poziom ekspresji cytochromów biorących udział w syntezie (CYP19) i metabolizmie estrogenów (CYP1A1, CYP1B1) oraz cytochromów sierocych ulegających ekspresji w nowotworowym nabłonku gruczołu piersiowego (CYP2S1, CYP2W1). Stwierdzono korzystne obniżenie poziomu trans-

kryptów i białka CYP19 w komórkach MCF7 w obecności indoli (I3C, DIM), SFN, RES i pochodnej 5MS, natomiast dla komórek MDA-MB-231 jedynie dla RES oraz pochodnych 3MS i 5MS, a dla komórek nienowotworowych MCF10A tylko dla 5MS. W przypadku CYP biorących udział w metabolizmie estrogenów pożądaný efekt zwiększonego poziomu CYP1A1 stwierdzono dla indoli (I3C, DIM), a obniżenie ekspresji niekorzystnej izoformy CYP1B1 zaobserwowano po zastosowaniu RES we wszystkich badanych liniach komórkowych. Dodatkowo w komórkach MCF10A podobny efekt dla CYP1B1 zauważono w obecności pochodnych 4MS i 5MS. W obecności stilbenów zaobserwowano wzrost poziomu transkryptów „sierocych” CYP2S1 i CYP2W1 oraz białka CYP2W1 w komórkach MCF7. Natomiast w komórkach MDA-MB-231 ekspresja obu cytochromów spadła.

Z uwagi na fakt, że rak piersi jest główną przyczyną zgonów z powodu nowotworów wśród kobiet na całym świecie, poszukiwanie nowych punktów uchwytu wśród cytochromów oraz związków modulujących ich ekspresję wydaje się aktualne i obiecujące.

Piśmiennictwo

- Licznarska B, Szafer H, Wierchowski M, Mikstacka R, Papierska K, Baer-Dubowska W. Evaluation of the effect of the new methoxy-stilbenes on expression of receptors and enzymes involved in estrogen synthesis in cancer breast cells. *Mol Cell Biochem.* 2018;444(1-2):53-62.
- Licznarska B, Szafer H, Wierchowski M, Sobierajska H, Baer-Dubowska W. Resveratrol and its methoxy derivatives modulate the expression of estrogen metabolism enzymes in breast epithelial cells by AhR down-regulation. *Mol Cell Biochem.* 2017;425(1-2):169-179.
- Szafer H, Licznarska B, Cykowiak M, Ba-

er-Dubowska W. Expression of CYP2S1 and CYP2W1 in breast cancer epithelial cells and modulation of their expression by synthetic methoxy stilbenes. *Pharmacol Rep.* 2019;71(6):1001–1005.

Szaefer H, Licznarska B, Krajka-Kuźniak V, Bartoszek A, Baer-Dubowska W. Modulation of CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 expression by cabbage juices and indoles in human breast cell lines. *Nutr Cancer.* 2012;64(6):879–888.

Ewelina Musielak

Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

Możliwości terapeutyczne biologicznych nanonośników opartych na materiałach typu lipidowego

Nośniki substancji czynnych definiuje się jako systemy ukierunkowanego dostarczania leków do określonych tkanek. Nośniki leków odgrywają kluczową rolę w zwiększaniu biodostępności substancji czynnych, wpływając na skuteczność i precyzję terapii, co powoduje ich uznanie w różnych sferach badań, szczególnie w farmacji oraz kosmetologii.

Ponieważ skóra jest największym organem ciała, jej choroby – od chorób nowotworowych do nienowotworowych spowodowanych infekcją, stanem zapalnym i zaburzeniami autoimmunologicznymi – stanowią powszechny problem zdrowotny, dotyczący milionów ludzi. Większość substancji czynnych nie przenika przez skórę w ilościach terapeutycznych. Substancje podawane przez skórę mają niską masę cząsteczkową <500 Da i są bardzo lipofilowe w niskich dawkach. Substancje hydrofilowe na ogół wykazują słabą przepuszczalność skóry w granicach od 10^{-7} do 10^{-8} cm/s, około jednego lub więcej rzędów wielkości niższą niż hydrofobowe substancje rozpuszczone. Bariera skórna i jej względnie niska przepuszczalność doprowadziły do

opracowania szeregu udoskonaleń chemicznych i fizycznych, głównie na bazie lipidów. Wśród biologicznych nośników możemy wyróżnić liposomy, niosomy, micelle, ketosomy, etosomy, transferosomy czy stałe nanocząstki lipidowe (ang. *solid lipid nanoparticles*, SLN) oraz nanostrukturalne nośniki lipidów (ang. *nanostuctured lipid carriers*, NLC). Wykazano, że nośniki te poprawiają przenikanie i retencję substancji czynnych przez skórę nawet o 90%. Dodatkowo potwierdzono, że uwalnianie substancji czynnej z nośnika jest wysokie, nawet na poziomie 80–90%, i zachodzi już przy bardzo niskich dawkach leku (0,1–1,0% w/v).

Celem naszych badań realizowanych w ramach projektu MINIATURA 8, który uzyskał finansowanie w konkursie NCN, jest opracowanie nowych nośników dla kannabidolu i celekoksylu oraz kannabidolu i temozolomidu i ocena ich skuteczności w terapii glejaka wielopostaciowego. Na kolejnym etapie, po potwierdzeniu ich skuteczności w tym modelu, przewiduje się badanie możliwości ich wykorzystania w leczeniu chorób skóry.

Piśmiennictwo

- Patel P, Garala K, Singh, S, Prajapati BG, Chittasupho C. Lipid-based nanoparticles in delivering bioactive compounds for improving therapeutic efficacy. *Pharmaceuticals*. 2024;17(3):329.
- Scioli Montoto S, Muraca G, Ruiz ME. Solid lipid nanoparticles for drug delivery: pharmacological and biopharmaceutical aspects. *Front Mol Biosci*. 2020;7:587997.

Jan Grzegorzewski

Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

Aspekt biochemiczny oddziaływania nanocząsteczek na komórki glejaka wielopostaciowego

Glejak wielopostaciowy (GBM) jest najgroźniejszym i najbardziej złośliwym nowotworem mózgu. GBM pozostaje nowotworem niewyleczalnym, a obecne terapie jedynie nieznacznie przedłużają życie pacjentów. Standardowa terapia obejmuje resekcję chirurgiczną, radioterapię oraz chemioterapię z wykorzystaniem temozolomidu.

Przenikanie leków do ośrodkowego układu nerwowego hamuje jednak wysoce restrykcyjna bariera krew-mózg (BBB), a komórki nowotworowe odbudowywane są przez komórki macierzyste GBM.

Niesatysfakcjonujące efekty kliniczne aktualnych terapii, wynikające z oporności GBM na leczenie, skłaniają naukowców do poszukiwania nowych rozwiązań. Nadziei upatruje się w nanoformulacjach zdolnych do przenikania przez BBB, a także wnikać do komórek guza.

Odpowiednio zaprojektowane mogą przeniknąć przez BBB głównie na drodze transcytozy poprzez nośnik, adsorpcję lub oddziaływanie z receptorem na jej powierzchni. Receptory takie jak

LDLR, Tfr, LPR-1, GLUT i receptor dla insuliny mogą stanowić cel dla nanoformulacji, zwiększając ich biodostępność i zmniejszając toksyczność. Leki w nanoformulacjach z ligandami takimi jak ApoE, laktoferyna, 4-aminofenylo β -D-glukopiranozyd czy Angiopep-2 mają dobry potencjał penetrujący i docierają do komórek GBM. Kolejnym celem może być EGFR, ponieważ stwierdzono jego nadekspresję w GBM. Także transportery aminokwasów, takie jak LAT, stanowią obiecujące cele. W literaturze opisywane są również peptydy penetrujące (CPPs), np. NFL, R8, Pen i TAT, zwiększające akumulację nanoformulacji w tkance guza. Nowe nanosystemy podwójnie ukierunkowane zawierające na swojej powierzchni kilka ligandów mogą jeszcze precyzyjniej dostarczać leki. Prowadzone są badania przedkliniczne i kliniczne celowanych formulacji, w tym np. celowanych na EGFR immunoliposomów zawierających doksorubicynę.

Piśmiennictwo

- Grochans S, Cybulska AM, Simińska D, Korbecki J, Kojder K, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I. Epidemiology of glioblastoma multiforme – literature review. *Cancers*. 2022;14(10):2412.
- Martins C, Sarmiento B. Multi-ligand functionalized blood-to-tumor sequential targeting strategies in the field of glioblastoma nanomedicine. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*. 2023;15:e1893.
- Wei D, Zhang N, Qu S, Wang H, Li J. Advances in nanotechnology for the treatment of GBM. *Front Neurosci*. 2023;17:1180943.

**Anna Rybarczyk^{1,2},
Aleksandra Majchrzak-Celińska¹,
Ludwika Piwowarczyk¹,
Violetta Krajka-Kuźniak¹**

¹ Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

² Szkoła Doktorska UMP

Kannabidiol i jego kombinacje umieszczone w nośnikach liposomalnych – nowe podejście w terapii glejaka wielopostaciowego

Glejaka wielopostaciowy (GBM) to najbardziej agresywny nowotwór ośrodkowego układu nerwowego. Trudności związane z leczeniem tego nowotworu wynikają z braku możliwości całkowitej resekcji guza oraz obecności bariery krew-mózg, utrudniającej penetrację leków. Ponadto heterogenność genetyczna w obrębie guza oraz oporność na radio- i chemioterapię wpływają znacząco na skuteczność terapii. Konieczne jest zatem wdrożenie nowych, bardziej skutecznych metod leczenia.

W ostatnich latach nadzieje na wsparcie terapii przeciwnowotworowych pokładane są w kannabidiolu (CBD) – związku o działaniu pleiotropowym, uwzględniającym również aktywność względem komórek GBM. Badania przedkliniczne wskazują na zdolność CBD do hamowania proliferacji komórek guza oraz indukcji apoptozy, m.in. przez generowanie stresu oksydacyjnego oraz

modulowanie komórkowych szlaków sygnalizacyjnych. Ponadto celekoksyby, należący do selektywnych, niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), wykazuje aktywność antyproliferacyjną, która jest powiązana z hamowaniem cyklo-oxygenazy 2 (COX-2) oraz ścieżki sygnalizacyjnej Wnt/ β -katenina.

Nową koncepcją terapii GBM jest zatem wykorzystanie kombinacji CBD oraz celekoksybu zamkniętych w nośnikach liposomalnych poprawiających ich stabilność oraz dystrybucję do tkanki docelowej. Kluczowym elementem badań jest opracowanie stabilnych nanoformulacji, które nie wykazują toksyczności wobec komórek prawidłowych, oraz analiza ich wpływu na ścieżki sygnalizacyjne związane z progresją GBM. Przeprowadzone testy MTT wskazują, że liposomy z zamkniętym celekoksybem najsilniej ograniczają żywotność komórek w porównaniu z pozostałymi formulacjami, natomiast sam nośnik nie wpływa negatywnie na spadek aktywności metabolicznej komórek. Kontynuacją badań będzie przetestowanie wybranych, najbardziej obiecujących nanoformulacji w modelu zwierzęcym, by w przyszłości móc rozważyć implementację do badań klinicznych.

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki – Preludium Bis 3, nr 2021/43/O/NZ5/02346.

Piśmiennictwo

- Doherty GJ, de Paula BHR. Cannabinoids in glioblastoma multiforme – hype or hope? *Br J Cancer.* 2021;124(8):1341–1343.
- Majchrzak-Celińska A, Misiorek JO, Kruhlenia N, Przybyl L, Kleszcz R, Rolle K, Krajka-Kuźniak V. COXIBs and 2,5-dimethylcelecoxib counteract the hyperactivated Wnt/ β -catenin pathway and

COX-2/PGE₂/EP₄ signaling in glioblastoma cells. *BMC Cancer.* 2021;21(1):493.

Parmar GR, Sailor GU. Nanotechnological approach for design and delivery of phytopharmaceuticals. In: Shah N (ed.): *Nanocarriers: drug delivery system. An evidence based approach* (pp. 281–301). Singapore 2021.

**Dawid Dorna^{1,2},
Jarosław Paluszczak¹**

¹ Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

² Szkoła Doktorska UMP

Świat nie jest płaski: Zastosowanie hodowli komórkowych 3D w badaniach nad aktywnością związków przeciwnowotworowych

Tradycyjne, dwuwymiarowe (2D) systemy hodowli komórek *in vitro* mają ograniczoną zdolność do odzwierciedlania złożonych warunków panujących w obrębie guzów nowotworowych. W przeciwieństwie do komórek w warunkach *in vivo* komórki hodowane w monowarstwie mają równy i nieograniczony dostęp do tlenu, składników odżywczych oraz cząsteczek sygnalizacyjnych. Ponadto komórki hodowane w warunkach 2D wykazują zmieniony profil ekspresji genów, metabolizm oraz potencjał proliferacyjny w porównaniu z komórkami guzów nowotworowych. Wymienione czynniki sprawiają, iż znaczenie translacyjne badań, w których wykorzystuje się modele 2D, jest ograniczone.

Alternatywę stanowią hodowle komórkowe 3D, które pod względem ekspresji genów, metabolizmu oraz aktywacji szlaków sygnałowych są bardziej zbliżone do komórek nowotworowych w warunkach *in vivo*. Szeroko rozpowszechnione ze względu na prosty, wydajny

i relatywnie niedrogi protokół aplikacji są hodowle sferoidów. Sferoidy to agregaty komórek, tworzące kuliste struktury, mające martwicze jądro oraz obwodową warstwę żywych, proliferujących komórek. Co istotne, komórki nowotworowe hodowane jako sferoidy wykazują bardziej zbliżoną odpowiedź na traktowanie związkami przeciwnowotworowymi do komórek guzów *in vivo*.

Nasze badania, prowadzone na komórkach nowotworów głowy i szyi, potwierdzają, iż komórki hodowane w warunkach 3D wykazują zmieniony profil ekspresji genów oraz odmienną wrażliwość na działanie związków przeciwnowotworowych w porównaniu z komórkami hodowanymi w monowarstwie.

Zastąpienie tradycyjnych, dwuwymiarowych hodowli komórkowych hodowlami 3D stanowi istotny krok w kierunku zwiększenia translacyjności wyników badań *in vitro*, co może pozytywnie wpłynąć na jakość oraz tempo rozwoju przyszłych strategii leczenia nowotworów.

Praca powstała w trakcie realizacji projektu Preludium nr 2022/45/N/NZ7/01780 Narodowego Centrum Nauki.

Piśmiennictwo

- Duval K, Grover H, Han L-H, Mou Y, Pegoraro A, Fredberg J, Chen Z. Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture. *Physiology*. 2017;32(4):266–277.
- Kapaczyńska M, Kolenda T, Przybyta W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski Ł, Lamperska K. 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch Med Sci*. 2018;14(4):910–919.
- Nunes AS, Barros AS, Costa EC, Moreira AF, Correia IJ. 3D tumor spheroids as *in vitro* models to mimic *in vivo* human solid tumors resistance to therapeutic drugs. *Biotechnol Bioeng*. 2019;116(1):206–226.

**Marta Belka^{1,2},
Aleksandra Gostyńska-Stawna³,
Maciej Stawny³,
Violetta Krajka-Kuźniak¹**

¹ Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej UMP

² Szkoła Doktorska UMP

³ Katedra i Zakład Chemii
Farmaceutycznej UMP

Ocena potencjału naturalnych agonistów FXR w terapii PNALD

34

Żywienie pozajelitowe jest interwencją medyczną, umożliwiającą dostarczenie niezbędnych składników odżywczych w sytuacjach, gdy doustne przyjmowanie pokarmów jest niemożliwe lub przeciwwskazane. Jest to procedura ratująca życie, ale obarczona znacznym ryzykiem wystąpienia powikłań, takich jak odcewnikowe zakażenie krwi czy zakrzepica. Częstościami negatywnymi skutkami metabolicznymi takiej interwencji żywieniowej mogą być hiperglikemia, hipertroficznosc oraz niewydolność wątroby związana z żywieniem pozajelitowym (ang. *parenteral nutrition-associated liver disease*, PNALD).

PNALD rozwija się najczęściej u pacjentów poddanych długotrwałej terapii z zastosowaniem żywienia pozajelitowego, zwłaszcza u niemowląt (40–60% przypadków). W przypadku pacjentów dorosłych częstość występowania wynosi natomiast od 15 do 40%. Patogene-

za PNALD nie jest do końca poznana, jednak za kluczowe czynniki sprzyjające rozwojowi tej jednostki chorobowej uznaje się zaburzenia mikrobioty jelitowej związane z brakiem doustnego przyjmowania składników odżywczych oraz dożylną podaż fitosteroli będących antagonistami receptora farnesoidowego X (FXR) wraz z żywieniem pozajelitowym.

Dane literaturowe wskazują, że receptor FXR odgrywa kluczową rolę w regulacji metabolizmu kwasów żółciowych w wątrobie, a tym samym odpowiada m.in. za przemiany cholesterolu w kwasy żółciowe oraz kontrolę ich wydzielania do jelita. Zablockowanie receptora FXR prowadzi do dysregulacji metabolizmu kwasów żółciowych i ich nadmiernej kumulacji, co może indukować stany zapalne wątroby. W związku z tym rola FXR w patogenezie PNALD jest przedmiotem intensywnych badań. Obecne dane sugerują, że agoniści receptora FXR mogą być obiecującą strategią w prewencji oraz leczeniu tego schorzenia.

W ramach przeprowadzonych badań opracowano model *in vitro* przewlekłej cholestatycznej choroby wątroby związanej z żywieniem pozajelitowym (PNALD) poprzez stymulację prawidłowych komórek wątrobowych (THLE-2) za pomocą lipopolisacharydu (LPS) oraz emulsji do żywienia pozajelitowego zawierającej olej sojowy bogaty w fitosterole. Wprowadzenie do tego modelu wybranych naturalnych agonistów FXR, takich jak honokiol, magnolol, fisetyna, nobiletyna czy cyjanidyna, skutecznie zmniejszyło aktywność biomarkerów uszkodzenia komórek wątroby, w tym aminotransferazy alaninowej (ALT) i aminotransferazy asparaginianowej (AST). Uzyskane wyniki wskazują na zasadność dalszych badań nad naturalnymi agonistami receptora FXR w kontekście ich zastosowania w terapii PNALD.

Praca powstała w trakcie realizacji projektu OPUS nr 2022/45/B/NZ7/01056 Narodowego Centrum Nauki, Polska.

Piśmiennictwo

Berlana D. Parenteral nutrition overview. *Nutrients*. 2022;14(21):4480.

El Kasmi KC, Ghosh S, Anderson AL, Devereaux MW, Balasubramanian N, D'Alessandro A, Orlicky DJ, Suchy FJ, Shearn CT, Sokol RJ. Pharmacologic activation of hepatic farnesoid X receptor prevents parenteral nutrition-associated cholestasis in mice. *Hepatology*. 2022;75:252–265.

Żalikowska-Gardocka M, Przybytkowski A. Review of parenteral nutrition-associated liver disease. *Clin Exp Hepatol*. 2020;6(2):65–73.

**Olga Obrzut¹,
Violetta Krajka-Kuźniak¹,
Joanna Czerniel²,
Aleksandra Gostyńska-Stawna²**

¹ Katedra i Zakład Biochemii
Farmaceutycznej, UMP

² Katedra i Zakład Chemii
Farmaceutycznej, UMP

Ocena bezpieczeństwa *in vitro* dożylnych emulsji tłuszczowych wzbogaconych o substancję o właściwościach hepatoprotekcyjnych

Komercyjne dożylnie emulsje tłuszczowe stosowane w żywieniu pozajelitowym (ŻP) dostarczają kwasów tłuszczowych, których źródłem jest olej sojowy lub jego mieszanina z oliwą z oliwek, olejem rybnym, trójglicerydami kwasów tłuszczowych omega-3 lub trójglicerydami średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (MCT). Stosowanie dożylnych emulsji tłuszczowych opartych na bazie olejów roślinnych, zawierających znaczne ilości fitosteroli, uważane jest za jeden z czynników rozwoju mającej związek z niewydolnością przewodu pokarmowego choroby wątroby (IFLAD).

Dodatkowo istotne znaczenie dla wsparcia zdrowia pacjentów żywionych pozajelitowo oraz minimalizacji ryzyka powikłań wątroby związanych ze stosowaniem dożylnych emulsji tłuszczowych ma dostarczenie kwasów tłuszczowych w odpowiedniej proporcji. Równowaga

między kwasami tłuszczowymi omega-3, zwłaszcza eikozapentaenowym (EPA) i dokozaheksaenowym (DHA), kwasami tłuszczowymi omega-6 oraz MCT jest istotna dla zapobiegania powikłaniom, takim jak stłuszczenie wątroby czy rozwój cholestazy.

Celem badań była wstępna ocena stabilności oraz bezpieczeństwa *in vitro* nowych dożylnych emulsji tłuszczowych o innowacyjnym składzie fazy olejowej, wzbogaconych o substancję o potencjalnym działaniu hepatoprotekcyjnym. W toku badań uzyskano cztery dożylne emulsje tłuszczowe, z dodatkiem badanej substancji i bez niej, różniące się składem fazy olejowej. Przeprowadzono wstępną ocenę stabilności oraz bezpieczeństwa *in vitro* na podstawie testu hemolizy oraz testu MTT na prawidłowych komórkach wątroby THLE-2. Wszystkie opracowane emulsje nie wykazywały efektu hemolitycznego, a te z dodatkiem substan-

cji aktywnej wykazywały mniejszą cytotoksyczność w porównaniu z emulsjami kontrolnymi bez dodatku substancji aktywnej.

Praca wykonana w ramach grantu LIDER XII nr LIDER/17/0092/L-12/20/NCBR/2021, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Piśmiennictwo

- Bechyńska K, Daskova N, Vrzackova N, Harant K, Heczková M, Podzimkova K, Bratova M, Dankova H, Berkova Z, Kossek V, Zelenka J, Hajslova J, Sedlacek R, Suttner J, Hlavackova A, Bartonova L, Cahova M. The effect of ω -3 polyunsaturated fatty acids on the liver lipidome, proteome and bile acid profile: parenteral versus enteral administration. *Sci Rep.* 2019;9(1):19097.
- Zaloga GP. Phytosterols, lipid administration, and liver disease during parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2015;39(1 Suppl):39S–60S.

Program sympozjum

- 11:00–11:15** **Dziekan Wydziału Farmaceutycznego prof. dr hab. Anna Jelińska** – powitanie i słowo wstępne
- 11:15–11:45** **Wanda Baer-Dubowska** – Profesor Chmiel – założyciel i pierwszy kierownik Zakładu Biochemii Wydziału Farmaceutycznego UMP. Historia zakładu
- 11:45–12:15** **Violetta Krajka-Kuźniak** – Aktualne kierunki badań i perspektywy rozwoju KiZBF
- 12:15–12:30** **Hanna Szaefer** – Receptor AhR i jego powiązanie z Nrf2 i ER jako cel oddziaływania naturalnych i syntetycznych czynników chemoprewencyjnych.
- 12:30–12:45** **Jarosław Paluszcak** – Epigenetyka nowotworów – od modelu skórnej kancerogenezy do „płynnej biopsji”
- 12:45–13:00** **Aleksandra Majchrzak-Celińska** – Charakterystyka epigenetyczna oraz poszukiwanie nowych inhibitorów szlaku Wnt aktywnych w komórkach glejaka wielopostaciowego
- 13:00–13:15** **Robert Kleszcz** – Podróż po szlakach, czyli koncepcje molekularnych punktów uchwytu w terapii nowotworów głowy i szyi
- 13:15–13:30** Wystąpienia gości
- 13:30–14:00** Przerwa kawowa
- 14:00–14:10** **Barbara Licznarska** – Cytochromy P450 jako biochemiczny cel dla chemoprewencji i terapii raka piersi
- 14:10–14:20** **Katarzyna Papierska** – Poszukiwanie aktywnych biologicznie tiopochodnych chalkonów w odniesieniu do komórek rakowych przewodu pokarmowego
- 14:20–14:30** **Ewelina Musielak** – Możliwości terapeutyczne biologicznych nanonośników opartych na materiałach typu lipidowego
- 14:30–14:40** **Dawid Dorna** – Świat nie jest płaski. Zastosowanie hodowli komórkowych 3D w badaniach nad aktywnością związków przeciwnowotworowych
- 14:40–14:50** **Marta Belka** – Ocena potencjału naturalnych agonistów FXR w terapii PNALD
- 14:50–15:00** **Olga Obrzut** – Ocena bezpieczeństwa in vitro dożylnych emulsji tłuszczowych wzbogaconych o substancję o właściwościach hepatoprotekcyjnych.
- 15:00–15:10** **Anna Rybarczyk** – Kannabidiol i jego kombinacje umieszczone w nośnikach liposomalnych – nowe podejście w terapii glejaka wielopostaciowego
- 15:10–15:20** **Jan Grzegorzewski** – Aspekt biochemiczny oddziaływania nanocząsteczek na komórki glejaka wielopostaciowego

Notatki

ISBN 978-83-7597-476-8



WYDAWNICTWO NAUKOWE
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU

ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań

www.wydawnictwo.ump.edu.pl

Ark. wyd. 2,7. Ark. druk. 3,3.

Format B5. Zam. 166/2024.

Przekazano do druku w listopadzie 2024.



WYDAWNICTWO NAUKOWE
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU

wydawnictwo.ump.edu.pl

ISBN 978-83-7597-476-8



9 788375 974768