



CONFERENCE BOOK

Poprad Slovakia

22-24 July 2016

Copyright © 2016 by Faculty of Pharmacy Jagiellonian University Medical College & ZOZ Ośrodek UMEA SHINODA-KURACEJO

The initiators of organization of the first ICPMS CONFERENCE were:
Prof. UJ dr hab. Jacek SAPA (Dean of Faculty of Pharmacy Jagiellonian University Medical College), prof. UJ dr hab. Bożena MUSZYŃSKA, prof. UJ dr hab. Włodzimierz OPOKA

Chief Editor

Bożena MUSZYŃSKA

Cover design

Bożena MUSZYŃSKA

Photos

Michał PIOTROWSKI

Typeset

Joanna PIOTROWSKA

Jacek ROJOWSKI

Published by ZOZ Ośrodek UMEA SHINODA-KURACEJO

31-851 Kraków, os. Alberyńskie 1-2, Poland

umea@interia.pl

ISBN 978-83-936591-3-5

HONORARY SUPPORT

Vice-Rector of the Jagiellonian University for the Medical College
Prof. dr hab. Piotr LAIDLER

SUPPORT

Dean of the Faculty of Pharmacy Jagiellonian University Medical College
Prof. UJ dr hab. Jacek SAPA

MAIN ORGANIZERS

Jagiellonian University Medical College Faculty of Pharmacy, Polish Pharmaceutical Society (the Kraków Branch and National Scientific Section for the Counterfeit Medicinal Products in the Polish Pharmaceutical Society), Institute of Pharmacology PAS, Regional Pharmaceutical Chamber in Kraków

SCIENTIFIC COMMITTEE

Prof. UJ dr hab. Kinga SAŁAT – President; prof. UJ dr hab. Bożena MUSZYŃSKA – Vice-President; dr n. farm. Marek BEDNARSKI – Secretary

Members of scientific committee

Prof. dr hab. Gabriel NOWAK; prof. UJ dr hab. Jolanta PYTKO-POŁOŃCZYK; prof. dr hab. Małgorzata SCHLEGEL-ZAWADZKA; prof. dr hab. Andrzej PILC

ORGANIZING COMMITTEE

Prof. UJ dr hab. Włodzimierz OPOKA – President; dr hab. Małgorzata ZYGMUNT – Vice-President and treasurer; dr n. farm. Agata Kryczyk – Secretary; prof. UJ dr hab. Bożena MUSZYŃSKA – coordinator of organizing committee and chief editor of conference book

Members of organizing committee

Prof. dr hab. Zbigniew FIJAŁEK, prof. UJ dr hab. Jolanta PYTKO-
POŁOŃCZYK, dr n. farm. Joanna PIOTROWSKA, mgr Jacek
ROJOWSKI, mgr Joanna PIĄTKOWSKA-KOWALIK – OIA Kraków

**JURY FOR THE BEST PRESENTATION OF YOUNG
SCIENTISTS**

Prof. dr hab. n. farm. Zbigniew FIJAŁEK, Prof. UJ dr hab. n. med.
Jolanta PYTKO-POŁOŃCZYK, Prof. dr hab. n. farm. Małgorzata
SCHLEGEL-ZAWADZKA, dr Gerhard MIKOLAICZIK

Awarded the first place

Patrycja HAŁASZUK

Anna KURPIŃSKA

Distinction

Agnieszka KIJ

SPONSORS



GENOM

Specjalistyczna diagnostyka medyczna

Firma Genom współpracuje z laboratoriami stanowiącymi światową czołówkę w diagnostyce medycznej. Dzięki temu otwierają się możliwości dostępu do testów medycznych, wykraczających poza powszechnie wykonywane. Oferowane przez Genom badania przeprowadzane są z wykorzystaniem najnowszych technik laboratoryjnych, a ich jakość i poziom pozwala na wczesne wykrycie zaburzeń oraz na działania prewencyjne. Wyniki opatrzone szerokim komentarzem oraz sugestiami terapeutycznymi, proponowanymi przez zespół lekarzy będącymi ekspertami w danej dziedzinie. Pozwala to na podjęcie właściwego leczenia. Sugestie terapeutyczne obejmują szeroki zakres działań dla pacjentów dotyczących diety, suplementacji oraz sugestii dotyczących zmiany stylu życia, a w wersji wyniku dla lekarza również komentarz związany z leczeniem farmakologicznym.

Więcej informacji można znaleźć na stronie www.genom.com.pl





HYGIEIA

**APTEKI I HURTOWNIA
FARMACEUTYCZNA**

Biura:

ul. Dobrego Pasterza 67, 31-416 Kraków

tel/fax: 12 41 36 136, 12 41 37 137, 12 41 35 555

ul. Łepkowskiego 5, 31-423 Kraków

tel: 12 379 38 01, e-mail: biuro@hygieia.pl

www.lekidlamnie.pl

Infolinia Hygieia: 0 801 90 30 30

APTEKI  **HYGIEIA**

**LETTER FROM VICE-RECTOR OF THE JAGIELLONIAN
UNIVERSITY FOR THE MEDICAL COLLEGE**



Dear Professors,
Honourable Guests,
Ladies and Gentlemen,

On behalf of the Authorities and the whole academic community of the Jagiellonian University Medical College in Kraków (JU MC), as well as the organizers: the Faculty of Pharmacy JU MC, Polish Pharmaceutical Society, District Chamber of Apothecaries, Polish Dental Society – Kraków Chapter, Institute of Pharmacology of the Polish Academy of Sciences, and Polish Pharmaceutical Society – Kraków Chapter, I would like to cordially welcome all participants to the *I International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences in Poprad* (Slovakia). I am delighted to see that our university has a hand in such a prestigious event, and am honoured to take it under my patronage.

The Jagiellonian University Medical College has the privilege of drawing on the over 650 year-long tradition of educating highly qualified medical personnel for Poland's healthcare as Faculty of Medicine was among the first three faculties to compose the university at the time of its establishment in 1364. Its institution gave rise to Polish medicine in Kraków, where it has advanced thenceforth for centuries. We have always prided ourselves on the openness of our minds and readiness to change, all of which allowed Kraków to flourish as one of the most important medical centres in Poland and Europe. It is therefore only fitting that we partake in a meeting, the keynote ideas of which are: progress, prevention and reliability.

Medicine in a field where no subject is less important than another, however I am glad that the matters of progress in diagnostics and pharmacotherapy of metabolic and chronic nervous system diseases, the importance of preventive medicine, and the problem of counterfeit drugs – a challenge both on the medical and social level, that will be discussed here, are finally brought to the forefront, and given its due attention. Meetings like this one are crucial for modern-day medicine as they provide scientists and medical professionals from all over the world with an excellent forum to exchange information, experiences and ideas. I am confident that this symposium will be an excellent opportunity for engaging in discussions on the choice of the most effective preventive, diagnostic and therapeutic methods, and will allow exchange of knowledge and experience in the sphere of the analyzed diseases.

I wish you a fruitful and stimulating meeting, and an unforgettable time in Slovakia.

Sincerely yours,

Prof. Piotr Laidler, PhD
Vice-Rector of the Jagiellonian University
for the Medical College



Prof. Piotr Laidler, PhD

**LETTER FROM DEAN OF THE FACULTY OF PHARMACY
JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE**



Dear Colleagues

I would like welcome you all to the 1st International Conference on Pharmaceutical and Medical Sciences.

This conference will be very good platform for discussions about a lot scientific problems in pharmacy and medicine.

We must remember that the Faculty of Pharmacy at the Jagiellonian University is one of the oldest faculties in Poland and also in Europe. The first Polish Chair of Pharmacy and Medical Matter was established in 1783 at the Jagiellonian University of Cracow and Jan Andrzej Szaster – a Cracovian pharmacist, doctor of medicine and surgery was appointed to the position of its professor.

These were the old days.

Today in our Faculty of Pharmacy there are over 1200 students studying pharmacy, medical analytics and cosmetology at Master's and PhD studies and industrial pharmacy, medical analytics, clinical studies of pharmaceutical products and enology at postgraduate studies. We have a very good scientific staff and modern scientific and teaching laboratories.

The Faculty of Pharmacy has been involved in the European Association of Faculties of Pharmacy. Our Faculty also cooperates with the District Chamber of Apothecaries and Pharmaceutical Inspectorate in the scope of pharmaceutical training. The Faculty of Pharmacy has achieved a high position in the parametric evaluation and possesses accreditation of specializations.

In this year, like before, we were recognized again as the best field of study – pharmacy – all over the country.

I wish the fruitful discussions, successful meeting and unforgettable time in Poprad.

Sincerely,
Prof. UJ dr hab. Jacek Sapa



INSTITUTE OF PHARMACOLOGY PAS

Smętna Street 12, 31-343 Cracow

phone: 48 12 637 40 22

fax: 48 12 637 45 00

e-mail: ifpan@if-pan.krakow.pl

www.if-pan.krakow.pl

Director: Professor Krzysztof Wędzony

Chairman of the Scientific Council: Professor Edmund Przeglasiński

The Institute of Pharmacology was established in 1954. The expertise of the Institute is mainly focused on neuropsychopharmacology and encompasses studies of the basic mechanisms of drug addiction, pathomechanisms of depression, schizophrenia, anxiety and posttraumatic stress disorders, mechanisms of action of antidepressant and antipsychotic drugs. It is also engaged in studies of chronic pain, neurodegenerative and immunoendocrine processes, and phytochemistry. The Institute is in possession of advanced research methods and equipment, e.g. automated behavioral profiling in IntelliCages, evaluation of anxiety-like behaviors (open field, hole board, depressive-like behaviors (Porsolt's test, prenatal stress, sucrose oral self-administration), learning and memory (Barnes maze, Y-maze, T-maze, object recognition test, conditional reinforcement, fear conditioning, passive/active avoidance), and estimation behavioral effects of drugs of abuse (locomotor, analgesia, tolerance, dependence, reward, conditional place preference, intravenous self-administration). The behavioral methods are supported by biochemical measurement of gene expression and transcription regulation (in situ hybridization, Northern blot, Western blot, reverse transcription – real-time polymerase chain reaction, electrophoretic mobility shift assay, in vitro transfection), flow cytometry, cell cultures, antisense and siRNA methods *in vitro* and *in vivo* and computer image analysis. Modern electrophysiological methods (whole cell patch clamp and extracellular recording from neurons in brain

slices *in vitro*), HPLC for assessment of neurotransmitters and their metabolites, and spectrofluorometric assays are also used. Recently some transgenic models (selective gene ablations restricted to specific cell populations, cell-type specific gene knock-downs using artificial microRNAs, cell-type specific blockade of neurotransmitter release) as well as pharmacogenomics (gene expression profiling using whole genome DNA microarrays) and bioinformatics tools have been implemented. The Institute is equally well equipped for carrying studies using immunocytochemistry for estimation of receptors, enzymes, and other proteins, fluorescent and confocal microscopy, retrograde tracers and image analysis. Regarding medicinal chemistry, besides organic synthesis and radioligand binding to various subtypes of neurotransmitter receptors, the emphasis is put on molecular modelling, virtual screening, advanced methods of a computer analysis of drug-receptor interaction, and theoretical conformational analysis. Research conducting in the Institute of Pharmacology aims to design and create new diagnostic tools (e.g. microarrays), develop pharmacological research paradigms (computer-aided drug design, organic synthesis) and outline new therapeutic strategies and definition of new potential drug targets. New directions of research of the Institute are oriented to use genomics, proteomics and transcriptomics techniques to identify novel potential drug targets and biomarkers of some pathological processes. Of them search for endogenous markers of therapeutic efficacy in depression, search for genetic and environmental determinants of posttraumatic stress syndrome, elucidation of the role of genetic and epigenetic factors in psychotropic drug action, and identification of new markers of therapeutic response in neurodegenerative diseases are vigorously carried on. Other important directions involve search for markers of susceptibility to addictions and for new molecular targets of potential drugs useful in treatment of addiction, and exo- and endogenous factors determining therapeutic efficacy in neuropathic pain. The Institute has an outstanding, international track record of achievements in the above-mentioned fields, and is widely recognized by the scientific community worldwide. Among the highly

cited achievements of the Institute research teams during the last 15 years one should mention elucidation of the role of glutamatergic metabotropic receptors and zinc in treatment of depression and anxiety, constructing an unique animal model of autism, elucidation of the role of serotonin receptors in pathomechanism of depression, anxiety and addiction and describing the involvement of opioids and immune factors in neuropathic pain. The research conducted in the Institute of Pharmacology well harmonizes with priorities of the European Community Commission program „Horizon 2020 – The Framework Programme for Research and Innovation”.

The Institute of Pharmacology is authorized to confer the academic degrees of PhD (doctorate) and DSC (habilitation) in medical sciences, both in the field of medical biology. The Institute includes 13 departments. The Institute is certified for PHS Approved Animal Welfare Assurance (Assurance Number A5354-01). In July 2012 the Institute of Pharmacology received the status of a Leading National Research Center (KNOW).

Publication: the bimonthly *Pharmacological Reports*.

**REGIONAL PHARMACEUTICAL
CHAMBER IN CRACOW
ACTIVE YESTERDAY, ACTIVE TODAY**



The history of pharmaceutical association dates back to the time of the Partitions of Poland. The headquarters of then pharmaceutical organizations were placed in Lvov and Cracow. During the short period of Polish independence, 1918-1939, the Polish parliament managed to legislate „Apothecary Chambers” Act, despite a conflict of interests between owners and employees of pharmacies. Unfortunately, the outbreak of World War II interrupted organization of apothecary chambers and they started to appear only after the war ended in 1945.

Back then, the Apothecary Chamber in Cracow was considered the best Polish apothecary chamber, in 1947 defined as „the most effective and exemplary functioning”. The chamber gave money for reconstruction of pharmaceutical department of the Jagiellonian University, equipped its workrooms, financed scholarships and salaries for faculty and students, paid for the maintenance of facilities. Pharmacists' widows and orphans who lost their husbands and fathers during the war were paid allowances, cultural and charitable institutions were helped, scientific meetings and lectures were organized. The Apothecary Chamber in Cracow helped finance restoration of the Altar of Veit Stoss.

1951 was a tragic year for Polish pharmaceutical industry, when the professional association was terminated and all Polish pharmacies were nationalized. In 1991 in the face of political and economical changes a new „Apothecary Chambers” Act was legislated, based on the one from 1939. It was established at the same time as the Organizing Committee of Pharmaceutical Chambers, which in just four months created the basis for the activities of a pharmaceutical self-government and pharmaceutical chambers.

Organization of the Pharmaceutical Chamber in Cracow started with the work of the Founding Committee. The first General Assembly of the Regional Pharmaceutical Chamber in Cracow was held in Cracow on

November 9, 1991 and this day should be considered as the official date of the creation of the Regional Pharmaceutical Chamber in Cracow.

After nearly 25 years, the Regional Pharmaceutical Chamber in Cracow is a very significant part of the pharmaceuticals association. It consociates over 3200 members who work in common and hospital pharmacies, pharmaceutical warehouses, pharmaceutical inspector's office, colleges and universities training future pharmacists and persons that do not work in the industry but have license to practice a profession of a pharmacist. A provincial apothecary chamber consists of provincial apothecary council, an apothecary court and a commissioner for professional liability. POC constantly performs the tasks commissioned by national authorities and „Apothecary Chambers” Act.

The most important tasks of a chamber is to give licenses to practice a profession of a pharmacist, organize training courses for pharmacists, taking care of members in the corporation and care for dignity of the profession and for pharmacists to perform their tasks appropriately, lawfully and according to deontological ethics. Since 1991 more than 3700 licences to practice a profession of a pharmacist have been given. Regional Pharmaceutical Chamber in Cracow was many times an organizer or co-organizer of symposia, training courses and scientific conferences, both domestic and foreign.

Particularly important achievement was to enable pharmacists to constantly improve their qualifications with the help of on-line training courses. Regional Pharmaceutical Chamber in Cracow is the creator and owner of the biggest educational portal for seniors amongst pharmacists. Chamber has it's representatives in domestic skiing, sailing, football and rafting competitions.

OGÓLNOPOLSKA SEKCJA DS. SFALSZOWANYCH LEKÓW I PRODUKTÓW LECZNICZYCH PRZY ZARZĄDZIE GŁÓWNYM PTFARM

Zbigniew Fijałek¹, Włodzimierz Opoka²

¹Zakład Bioanalizy i Analizy Leków, Warszawski Uniwersytet Medyczny,
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

²Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Jagielloński,
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

W imieniu 16 osobowej grupy założycielskiej (członków Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego) dnia 06.05.2015 w Warszawie został złożony wniosek o utworzenie OGÓLNOPOLSKIEJ SEKCJI ds. SFALSZOWANYCH LEKÓW I PRODUKTÓW LECZNICZYCH PRZY ZARZĄDZIE GŁÓWNYM PTFarm.

Po otrzymaniu pozytywnej decyzji od Zarządu Głównego PTFarm zorganizowano zebranie założycielskie w siedzibie Zarządu Głównego PTFarm w Warszawie w dniu 22.06.2015 r. W zebraniu założycielskim Ogólnopolskiej Sekcji ds. Sfałszowanych Leków Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego uczestniczyło 18 członków PTFarm.

W imieniu Zarządu Głównego PTFarm zgromadzonych przywitał dr Jerzy Szewczyński – Dyrektor biura ZG PTFarm. Przedstawił najważniejsze zasady funkcjonowania i regulaminy dotyczące działania wszystkich Sekcji PTFarm. Następnie, inicjator utworzenia Sekcji, prof. dr hab. Zbigniew Fijałek przedstawił najważniejsze powody podjęcia działań zmierzających do utworzenia Sekcji ds. Sfałszowanych Leków. Zgodnie z regulaminem przeprowadzono wybory władz Sekcji, a następnie wybrano jej Zarząd w następującym składzie:

prof. dr hab. Zbigniew Fijałek – Przewodniczący

prof. UJ dr hab. Włodzimierz Opoka – Zastępca Przewodniczącego

dr hab. Paweł Olczyk – Członek Zarządu

dr Artur Owczarek – Sekretarz

Przewodniczący Sekcji doprecyzował główne cele utworzenia Sekcji, które obejmują m.in.: doprowadzenie do wprowadzenia do programu kształcenia farmaceutów problematyki z zakresu leków sfałszowanych, znaczenia własności praw intelektualnych, aspektów bezpieczeństwa i zdrowia publicznego. Wśród członków Sekcji są m.in. przedstawiciele uniwersytetów medycznych, wojewódzkich inspektoratów farmaceutycznych, Narodowego Instytutu Leków i in.

W trakcie spotkania ustalono następujące działania:

Przewodniczący Sekcji zaproponował wzięcie czynnego udziału w konferencji naukowej „Współczesna analityka farmaceutyczna i biomedyczna w ochronie zdrowia” w dniach 17-18.09.2015 r. w Poznaniu, gdzie przewidziano sesję dotyczącą problematyki leków sfałszowanych. Konferencja ta była organizowana na Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu i była zorganizowana przez Komitet Terapii i Nauk o Leku PAN, Komisję Analizy Leku i Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne. Podczas tej Konferencji nasza Sekcja była współorganizatorem Sesji III – „*Sfałszowane produkty lecznicze, suplementy diety, nowe substancje psychoaktywne, substancje stosowane w dopingu*”. Sesja ta obejmowała pięć komunikatów wygłoszonych przez członków Sekcji ds. Leków Sfałszowanych, przedstawiających najistotniejsze zagadnienia związane z dopingiem, narkomanią, przeciwdziałaniem przestępczości farmaceutycznej oraz opracowanie odpowiednich metod i procedur analitycznych. W trakcie Sesji Plenarnej wygłoszony został wykład „*Przestępczość farmaceutyczna - „Epidemia XXI wieku*”. Należy podkreślić, że po raz pierwszy polska konferencja farmaceutyczna miała sesję poświęconą tym zagadnieniom.

Podczas Konferencji odbyło się również zebranie Ogólnopolskiej Sekcji Naukowej ds. Sfałszowanych Leków, w którym wzięło udział 12 członków PTFarm.

Głównym tematem zebrania było zatwierdzenie celów i zadań Sekcji, wprowadzenie problematyki sfałszowanych leków do programu studiów farmaceutycznych oraz nawiązanie szerszej współpracy naukowej pomiędzy członkami Sekcji. W wyniku dyskusji zaproponowano

następujące główne cele i zadania Ogólnopolskiej Sekcji Naukowej ds. Sfałszowanych Leków PTFarm:

- podnoszenie naukowego i zawodowego poziomu wiedzy farmaceutów (niezależnie od ich miejsca zatrudnienia, tzn. ośrodki akademickie, apteki, inspekcja farmaceutyczna czy przemysł farmaceutyczny) w zakresie działalności Sekcji
- rozwój metod analitycznych związanych z badaniami jakości i autentyczności produktów leczniczych oraz suplementów diety, w tym opakowań bezpośrednich i zewnętrznych
- popularyzowanie metod badawczych oraz osiągnięć naukowych w zakresie analizy farmaceutycznej oraz farmaceutyczno-kryminalistycznej
- zachęcanie i wdrażanie studentów farmacji i farmaceutów do pracy naukowej związanej z zakresem działalności Sekcji
- wsparcie merytoryczne dla instytucji przeciwdziałających i zwalczających przestępczość farmaceutyczną
- szeroko pojęta edukacja całego społeczeństwa (potencjalnych pacjentów/konsumentów) w zakresie zagrożeń dla zdrowia i życia powodowanych przez podrobione i sfałszowane produkty medyczne
- stałe, coroczne aktualizowanie materiałów szkoleniowych związanych z prowadzeniem wykładów i zajęć fakultatywnych realizowanych dla studentów wydziałów farmaceutycznych.

FRAGMENT WIDOKU NA GÓRY Z POPRADU

Łomnica (2634 m n.p.m.) – drugi co do wysokości szczyt Tatr
i Kieżmarski Szczyt (2558 m n.p.m.);
widok od strony południowej.



"Okolo 300 wyraźniejszych szczytów i turni wystercza z grzbietów tatrzańskich, a gdy się na nie patrzy z drugiego co do wysokości wierzchołka całego pasma – wyglądają jak fale wzburzone wiatrem i nawałnicą."

Ivan Bohuš

PROGRAMME

Friday, 22 July 2016

16.30-17.00 Registration of the Participants

17.00-17.10 Opening Ceremony

Session I

17.15-19.00 Plenary Lectures I

President of the section: Prof. UJ dr hab. Włodzimierz OPOKA

17.15-18.00 Prof. dr hab. Zbigniew FIJAŁEK

Przestępczość farmaceutyczna – globalny problem XXI wieku

18.05-18.25 Prof. dr hab. Dariusz ADAMEK

Small fibers but sometimes a big problem: small fiber neuropathy – role of skin biopsy in the diagnosis

18.30-18.50 Prof. dr hab. Andrzej Pilc

Neurochemical and behavioral studies on the 5-HT_{1A}-dependent antipsychotic action of the mGlu4 receptor agonist LSP4-2022

20.00-22.00 Welcome Reception

Saturday, 23 July 2016

Session II

10.00-10.45 Plenary Lectures II

President of the section: Prof. UJ dr hab. Włodzimierz OPOKA

10.00-10.20 Dr Gerhard MIKOLAICZIK

The importance of preventive medicine in the context of recent research on chronic diseases

10.25-10.45 Prof. dr hab. Gabriel NOWAK

Zinc, hyperforin and the role of glutamate system in their antidepressant activity

10.45-11.15 Coffee break

Session III

11.15-12.30 Oral presentations I – *Pharmacology and Toxicology*

Presidents of the section: Prof. UJ dr hab. Kinga SAŁAT and Prof. dr hab. Gabriel NOWAK

12.30-15.00 Lunch

Session IV

15.00-16.15 Oral presentations II – *Natural Products*

Presidents of the section: Prof. UJ dr hab. Bożena MUSZYŃSKA and Dr hab. Maria WALCZAK

16.15-16.45 Coffee break

Session V

16.45-18.00 Oral presentations III – *Varia*

Presidents of the section: Prof. UJ dr hab. Jolanta PYTKO-POŁOŃCZYK and Prof. dr hab. Małgorzata SCHLEGEL-ZAWADZKA

Sunday, 24 July 2016

9.00-9.30 Closing Ceremony

PRZESTĘPCZOŚĆ FARMACEUTYCZNA – GLOBALNY PROBLEM XXI WIEKU

Zbigniew Fijałek

Zakład Bioanalizy i Analizy Leków, Warszawski Uniwersytet Medyczny,
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Przestępczość farmaceutyczna (kradzieże, fałszowanie, nielegalne przekserowanie i nielegalne rozprowadzanie produktów medycznych) to gwałtownie narastający problem współczesnego zglobalizowanego świata. Określenie prawdziwej skali tego zjawiska utrudnia wiele czynników takich jak np.: problemy nomenklaturowe, niejednolite uregulowania prawne, czy brak identyfikowania i rejestrowania zdarzeń medycznych związanych z zastosowaniem sfałszowanych produktów. Obecnie procederem tym zajmują się głównie zorganizowane grupy przestępcze, które skutecznie utrudniają wykrywalność, zmieniając w coraz bardziej wyrafinowany sposób *modus operandi* działania sieci przestępczych.

Kradzieże dużych transportów leków w europejskim farmaceutycznym łańcuchu dystrybucji klasyfikowane są przez firmy farmaceutyczne, jako główne źródło strat finansowych (na drugim miejscu są straty powodowane fałszowaniem leków). Dotyczą one zarówno napadów jak i kradzieży cargo z przyczep na niezabezpieczonych parkingach. Lokalizacje geograficzne, które obecnie uznawane są za najbardziej niebezpieczne to przede wszystkim Włochy, a następnie Niemcy, Rosja, Wielka Brytania, Francja, Rumunia, Ukraina i Grecja. Freight Watch International szacuje, że w 2015 roku w przypadku leków średnia wartość strat bezpośrednich na incydent wynosiła około 200 tys. €, a suma strat bezpośrednich i pośrednich ok. 550 tys. € (średnio 5 incydentów rocznie na firmę). W UE wartość skradzionych leków szacowana jest rocznie na ok. 120 mln €.

Jak wykazano w badaniach kryminalistycznych w XXI wieku rozwój Internetu dostarczył przestępcom nowych możliwości związanych

z handlem sfalszowanymi, substandardowymi i skradzionymi lekami oraz na różne sposoby wpłynął na rynek produktów medycznych. Internet nie tylko wpłynął na sposób komunikacji i transport, ale również znacznie zwiększył ich wydajność. Pozwolił na sprawniejsze zarządzanie procesem dystrybucji i otworzył możliwości dla nowych osób (niepowiązanych dotychczas z istniejącymi organizacjami przestępczymi) na wejście na nielegalny i legalny rynek leków. Równocześnie kreowanie sztucznego popytu poprzez wszechobecne w mediach reklamy generuje olbrzymie dodatkowe zyski nie tylko ich legalnym wytwórcom, ale przede wszystkim przestępcom, czerpiącym z tego procederu zyski porównywalne z handlem narkotykami czy bronią.

Apteki internetowe nie są jedynym rodzajem sprzedaży detalicznej leków przez Internet. Coraz większą rolę odgrywają dedykowane fora, media społecznościowe i czasopisma on-line, szczególnie w sprzedaży i reklamie produktów leczniczych, głównie w odniesieniu do produktów dopingujących, poprawiających, jakość życia oraz tzw. leków wspomagających. Znaczną rolę odgrywają tu również platformy handlowe, takie jak eBay czy Amazon.

Wykrywanie i badanie podrobionych i sfalszowanych produktów stawiają obecnie przed analitykami coraz większe wyzwania. Przede wszystkim, w przypadku produktów biologicznych, biotechnologicznych czy ziołowych. Dodatkowym wyzwaniem są badania autentyczności opakowań bezpośrednich i zewnętrznych oraz dokumentów serii, stanowiące typowe elementy analizy kryminalistycznej.

SMALL FIBERS BUT SOMETIMES A BIG PROBLEM: SMALL FIBER NEUROPATHY – ROLE OF SKIN BIOPSY IN THE DIAGNOSIS

Dariusz Adamek

Chair of Pathomorphology and Department of Neuropathology Jagiellonian University Medical College

So called small nerve fibers i.e. smallest myelinated A-delta and unmyelinated C-fibers – are not only main afferents of somatic sensation (like that of pain, temperature and touch) and provide autonomic innervation (adrenergic and cholinergic e.g. for vessels, hair follicles, sweat glands, smooth muscles) but play important roles in complicated physiological and pathological mechanisms including especially pathological conditions of skin and its appendages as well as in other organs. Small fiber neuropathy (SFN) is the condition that occurs with different intensity in many diseases. It affects either exclusively small somatic fibers or autonomic fibers, or both and manifests accordingly with sensory and/or autonomic disturbances. The symptoms may be extremely severe. Apart from diabetes mellitus (and glucose intolerance) which is the most frequent cause of SFN, other causes include, hypothyroidism, chronic renal disease, Sjogren's syndrome, lupus erythematosus, scleroderma, mixed connective tissue disease, psoriasis, nutritional deficiency or vit.B6 toxicity, inflammatory bowel disease, celiac disease and others. For the objective diagnosis of SFN, a punch skin biopsy is recently recommended by European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society. Appropriate guidelines for the diagnosis of SFN are based upon so called linear quantification of intraepidermal nerve fibers density. Since small nerve fibers probably may take part in pathogenesis of different dermatoses we started investigation of small nerve fibers density in vulvar lichen sclerosus and normal vulvar tissues by using protocol for small fiber neuropathy diagnosis.

Acknowledgments

The work supported by Jagiellonian University grant No. K/ZDS/005739.

**NEUROCHEMICAL AND BEHAVIORAL STUDIES ON THE
5-HT_{1A}-DEPENDENT ANTIPSYCHOTIC ACTION OF THE
MGLU4 RECEPTOR AGONIST LSP4-2022**

**Monika Woźniak, Krystyna Golembiowska, Karolina Noworyta-
Sokołowska, Paulina Cieślak, Magdalena Kusek, Krzysztof Tokarski,
Joanna M. Wierońska, Andrzej Pilc**

Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences
Śmętna 12, 31-343 Cracow, Poland

The involvement of 5-HT_{1A} receptors in LSP4-2022 (an mGlu4 receptor agonist)-induced antipsychotic actions and the neurochemical background of that interaction were investigated. In the behavioral part of the study the antipsychotic-like effects of LSP4-2022 were antagonized via the administration of the 5-HT_{1A} antagonist WAY100635. The co-administration of sub-effective dose of the 5-HT_{1A} agonist (R)-(S)-8-OH+DPAT with LSP4-2022 intensified the actions of ineffective dose of the compound, having no influence on the action of the active dose. In the microdialysis *in vivo* tests, MK-801 (0.6 mg/kg) induced an enhancement of the release of dopamine, serotonin, glutamate and GABA in the prefrontal cortex. Administration of LSP4-2022 (2 mg/kg) abolished this MK-801-induced effect on neurotransmitter release. Co-administration with WAY100635 (0.1 mg/kg), a 5-HT_{1A} antagonist, completely (dopamine, serotonin) or partially (glutamate, GABA) counteracted this LSP4-2022-induced effect. In the patch-clamp recordings the spontaneous EPSCs induced by DOI were reversed by LSP4-2022.

Acknowledgments

Supported by the National Science Centre, Grant no. 2012/6/06/ A/NZ7/00014 (MAESTRO) given to A. Pilc.

THE IMPORTANCE OF PREVENTIVE MEDICINE IN THE CONTEXT OF RECENT RESEARCH ON CHRONIC DISEASES

Gerhard Mikolaiczik

International Research Group for applied preventive medicine

Währinger Str. 63 A-1090 Wien

e-mail: gerhard.mikolaiczik@gmx.de

Life expectancy is continuing to rise, and we observe growing expenditure per capita in each age group.

In European health systems the metabolic syndrome has become of major concern in public health. The metabolic syndrome is an important health risk factor often related to diabetes and cardiovascular disease. A successful approach to the prevention of the metabolic syndrome therefore contributes to the stabilization of the present and future health system of the European Union decisively.

Diagnostic parameters in clinical assessment of mitochondriopathy: the establishment of early diagnostic criteria has to be in the focus and major interest of Public Health concern because early diagnosis may contribute to any earlier treatment in any chronic degenerative disease.

Other topics to be discussed:

- serotonin (5HT) correlates with adiponectin in overweight patients,
- clinical impact of intestinal histamine load on serotonin (5HT) circulation. Relationship between serotonin circulation and intestinal histamine burden in patients with food intolerance,
- impact of prenatal nutrition on the cerebral development of the infant,
- preventive medicine protects against the consequences of illnesses, and guarantees a future for the health care system. Preventive medicine concepts effectively contribute to the reduction of chronic illnesses among the population. These illnesses are a factor in the

constantly increasing costs in the health care system. In contrast, a basic symptom-oriented care structure contributes to increases in health care expenditure, and does not really reduce costs. All social classes can profit from preventive medicine, as prevention is better than cure.

ZINC, HYPERFORIN AND THE ROLE OF GLUTAMATE SYSTEM IN THEIR ANTIDEPRESSANT ACTIVITY

Gabriel Nowak^{1,2}, Bartłomiej Pochwat¹, Bernadeta Szewczyk¹

¹Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Cracow, Poland

²Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland

Zinc (Zn) is a bio-metal involved in the pathophysiology and treatment of depression [1]. Antidepressant-like properties of Zn have been demonstrated in the forced swim (FST) and tail suspension tests (TST) as well as olfactory bulbectomy, chronic unpredictable and chronic mild stress models. Moreover, Zn enhances antidepressant activity of conventional antidepressants in the forced swim test (FST). Recent studies indicate the involvement of glutamate receptors in antidepressant-like activity of Zn in the FST in rodents. We found that, Zn activity was antagonized by N-methyl- D-aspartic acid (NMDA, agonist of the NMDA receptor) or NBQX (antagonist of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA receptor) pretreatment in this test. Moreover, depressive-like behavior induced by Zn deficiency is associated with the changes in NMDA receptor signaling pathways.

The other compound which antidepressant-like activity seems to be associated with the modulation of glutamatergic system is hyperforin. Hyperforin, is a bioactive compound isolated from *Hypericum perforatum* (St John's wort, SJW), which releases Zn from mitochondria and is regarded as the main agent responsible for its antidepressant efficiency [2,3,4]. However, the biological responses affected by hyperforin and the molecular mechanisms participating in its antidepressant activity are still scarcely characterized. We found that hyperforin as well as its analogue – JE5 compound induces antidepressant-like effects in TST in mice. As in the case of Zn administration of NMDA or NBQX antagonized the antidepressant-like activity of hyperforin and JE5. Moreover, hyperforin administered in the low inactive in TST dose with low dose of NMDA

antagonist (AZD6765) exerts antidepressant-like effect in TST. These results indicate for the first time the antidepressant-like activity of the analogue of hyperforin: JE5 compound and the involvement of both NMDA and AMPA receptors in the antidepressant-like activity of hyperforin and JE5 in the TST in mice. Thus, this is further support of the role of glutamatergic system in the treatment of depression.

References

1. Nowak G., *Pharmacol Rep.* 2015, 67, 659-662.
2. Muller W.E., *Pharmacol Res.* 2003, 47, 101-109.
3. Linde K., et al., *Br J Psychiatry* 2005, 186, 99-107.
4. Tu P. et al., *J Neurochem* 2010, 112, 204-213.

Acknowledgments

Supported by grant ERA-NET-NEURON/11/2014.

**FARMAKOKINETYKA NOWYCH
7-ARYLOPIPERAZYNYLOALKILOWYCH POCHODNYCH
PURYNO-2,6-DIONU PO PODANIU DOŻOŁĄDKOWYM
U SZCZURA**

**Agnieszka Cios¹, Marlena Gocalińska¹, Elżbieta Wyska¹,
Grażyna Chłoń-Rzepa²**

¹Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Uniwersytet Jagielloński
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

²Katedra Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

W ostatnich latach na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, zsyntetyzowano wiele obiecujących związków należących do grupy 7-arylopiperazynyloalkilowych pochodnych puryno-2,6-dionu. Obecnie cztery z nich znajdują się w zaawansowanej fazie badań przedklinicznych. Wyniki badań farmakologicznych wykazały, że związki te wykazują powinowactwo do receptorów serotoninowych 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT₆, 5-HT₇ oraz receptorów dopaminowych D₂ i z tego powodu zostały one wybrane do dalszych badań farmakokinetycznych.

Celem pracy była ocena farmakokinetyki czterech najbardziej aktywnych związków 7-arylopiperazynyloalkilowych, pochodnych puryno-2,6-dionu tj.: GR-9, GR-12, GR-13 i GR-14 po podaniu dożołądkowym w dawkach 10 i 20 mg/kg mc u szczura, zsyntetyzowanych w Katedrze Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum.

Analizę stężeń badanych związków przeprowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją (UV), stosując chromatograf cieczowy LaChrom firmy Merck HITACHI oraz kolumnę chromatograficzną Waters XBridge C18 (4,6×250 mm, 5 μm).

Na podstawie oznaczonych stężeń badanych związków w osoczu szczura pobranego po 5, 10, 15, 30, 60, 120 i 180 min od chwili

ich pozanaczyniowego podania, wyznaczono profil ich wchłaniania metodą Wagnera-Nelsona. Obliczone wielkości wchłoniętej frakcji każdego z badanych związków świadczyły o ich całkowitym wchłanianiu z przewodu pokarmowego zwierzęcia.

Ocenę profilu farmakokinetycznego przeprowadzono w oparciu o farmakokinetykę bezmodelową przy użyciu programu komputerowego Phoenix WinNonlin v. 6.3. Analiza ta wykazała, że związki GR charakteryzują się dużą wartością objętości dystrybucji, wynoszącą od 17646 do 21673 ml/kg, co wskazywać może na ich rozmieszczenie w całym organizmie szczura i wiązanie ze strukturami wewnątrzkomórkowymi. Klirens był zróżnicowany i wynosił od 61 do 152 ml/min/kg, co świadczyć może o różnej eliminacji badanych związków z organizmu szczura. Potwierdzeniem tego była wyznaczona wartość biologicznego okresu półtrwania, która mieściła się w zakresie 86-277 minut.

Niektóre wartości parametrów farmakokinetycznych badanych związków były zbliżone do znanych i stosowanych w lecznictwie pochodnych metyloksantyny (teofiliny, propentofiliny, pentoksyfiliny), diazepamu oraz imipraminy.

W podsumowaniu można stwierdzić, iż prowadzenie badań w celu oceny profilu farmakokinetycznego nowych struktur chemicznych jest szczególnie ważne dla wyselekcjonowania najbardziej obiecujących struktur, które charakteryzowałyby się odpowiednio długim okresem biologicznego półtrwania, wysoką biodostępnością oraz dobrym przenikaniem do miejsca działania. Ponadto badania te pozwalają wytypować kandydata na nowy lek, który w przyszłości wszedłby do I fazy badań klinicznych.

**OPRACOWANIE I WALIDACJA METODY OZNACZANIA
STĘŻEŃ NOWYCH 7-ARYLOPIPERAZYNYLOALKILOWYCH
POCHODNYCH PURYNO-2,6-DIONU METODĄ
WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ
Z DETEKcją UV**

**Agnieszka Cios¹, Marlena Gocalińska¹, Elżbieta Wyska¹,
Grażyna Chłoń-Rzepa²**

¹Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej, Uniwersytet Jagielloński
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

²Katedra Chemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Wybór optymalnej metody analitycznej jest podstawowym narzędziem w precyzyjnym i rzetelnym uzyskiwaniu wyników badań farmakokinetycznych. Wymagania te są szczególnie duże w przypadku badań przedklinicznych z uwagi na możliwość występowania stosunkowo niskich stężeń badanych związków we krwi po podaniu dawek terapeutycznych oraz uzyskania małej objętości analizowanych próbek biologicznych od zwierząt. Z praktycznego punktu widzenia istotną rolę odgrywa także pracochłonność, czas trwania analizy oraz koszt prowadzenia badań.

Do oznaczeń stężenia badanych związków w osoczu szczura stosowano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją UV, w układzie izokratycznym, z wykorzystaniem kolumny Waters XBridge C18 (4,6 × 250 mm, 5 μm).

Fazę ruchomą dla badanych związków GR-9 i GR-14, stanowiła mieszanina 0.02 M buforu fosforanowego oraz acetonitrylu (70:30, pH=4.5 v/v), natomiast dla związków GR-12 i GR-13 ta sama mieszanina, lecz w stosunku 75:25 (v/v), o przepływie 1 ml/min. Badane związki oznaczano bezpośrednio z osocza szczura po uprzedniej ekstrakcji heksanem, stosując dodatek standardu wewnętrznego.

Opracowane warunki analizy charakteryzowały się poprawnymi parametrami selektywności i rozdzielności chromatograficznego ($k_1=4,2-5,1$; $\alpha=1,3-1,6$; $R_s=2,3-3,6$; $N=877-1008$). Wykazano liniowość krzywych kalibracji wszystkich badanych związków, sporządzonych dla osocza szczura, w zakresie stężeń 10-2000 ng/ml ($R^2=0,9987-0,9992$). Uzyskane wyniki analizy odznaczały się należytą precyzją i dokładnością metody oznaczeń, co potwierdzają wartości współczynnika zmienności dla badanych związków, zawarte w przedziale 3,85-13,39% oraz wartości błędu względnego mieszczącej się w zakresie od -6,17 do 18,11. Wykazano wysoką wydajność procesu ekstrakcji dla wszystkich czterech badanych związków wynoszącą 69,87-82,41%. Opracowane metody charakteryzowały się niską wartością dolnej granicy oznaczalności i wykrywalności, które wynosiły odpowiednio 0,01 $\mu\text{g/ml}$ i 0,005 $\mu\text{g/ml}$ dla wszystkich badanych związków, przy ustalonym stosunku poziomu sygnału do poziomu szumu aparatu 3:1. Obliczony błąd względny LOQ dla wszystkich badanych związków mieścił się w dopuszczalnych granicach (<20%).

Z przeprowadzonych badań dotyczących stabilności wynika, że analizowane związki zachowują dopuszczalny zakres trwałości, wynoszący $100\pm 10\%$, co znaczy, że są one trwałe w temperaturze pokojowej (przez 6 h), autosamplera (przez 48 h) oraz w procesie cyklicznego trzykrotnego zamrażania (-80°C) i odmrażania ($+22^\circ\text{C}$).

W podsumowaniu można stwierdzić, iż opracowane i zwalidowane metody analityczne (HPLC/UV) umożliwiały oznaczenie stężeń badanych związków w osoczu szczura, zgodnie z międzynarodowymi wytycznymi.

AN IMPORTANT POTENTIAL ROLE OF THE MGLUR5 RECEPTOR IN THE PATHOGENESIS OF DEPRESSION

**Ewelina Frąckiewicz, Magdalena Jarosz, Anna Lipkowska,
Magdalena Olbert, Tadeusz Librowski**

Radioligand Institute, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University
Medical College, 9 Medyczna St., 30-688 Cracow, Poland

The next generation of antidepressant drug is in the dynamic process of research because the current treatments of depression that influence monoaminergic system are not satisfactory. It is the big need to find more effective, fasteracting and better tolerated drugs than the current ones.

The new leading hypotheses of depression focus on the hyperexpression glutamatergic system. The glutamatergic system is the main brain excitatory system. This hypothesis suggests possible antidepressant activity of compounds modulating glutamatergic neurotransmission via activation or inhibition of glutamatergic receptors [1,3,4]. The mechanism of action of classical antidepressants mainly is based on a system of the monoaminergic system. In the process of designing new antidepressants seem to be necessary reports on the effects of current antidepressants posed in the context of new hypotheses and new synthesized proteins and receptors. Many scientific reports show that currently used antidepressants induce conversion in the glutamatergic system [2].

It is believed that one of the effects of antidepressants associated with glutamatergic layout is their effect on the NMDA receptor. These drugs act on the weakening of the expression and function of these receptors and induce adaptive changes within them [2]. Unfortunately, the clinical value of NMDA receptor antagonists is limited, therefore it is looking for new therapeutic solutions [1]. The most important receptors of glutamatergic system on which are based leading promising research is mGlu5 receptor [2]. It is metabotropic glutamate (mGlu) receptor, which as shown in

research is functionally coupled with ionotropic glutamate receptor's NMDA [11].

Nowak et al. proved that prolonged administration of various antidepressant drugs or the mGlu5 NAM, MTEP, causes changes in mGlu5 receptor availability or protein expression in the rat brain. Their results indicate that adaptive up-regulation of mGlu5 receptors may be a common change induced by antidepressant drugs [11].

These studies have shown that glutamate receptors have become new important targets for medication development for the treatment of depression. The mGlu5 receptor is an especially important and promising target for new antidepressant drugs. It can also act as an important role in the mechanism of action of current antidepressants.

References

1. Pałucha A., Pilc A., *Pharmacol Ther* 2007, 115, 116–147
2. Permoda-Osik A., Rybakowski J., *Farmakoterapia w psychiatrii i neurologii* 2011, 2, 57-65.
3. Pilc A. et al., *Neuropharmacology* 2002, 43, 181–187.
4. Pilc A., Wierońska J.M., Skolnick P., *Biol Psychiatry* 2013, 73, 1125–32.
5. Nowak G. et al., *Neuropharmacology* 2013 84, 46-51.

**AMBIVALENT EFFECTS OF MANGANESE IN THE
SUBACUTE EXPOSURE COMBINED WITH ETHANOL IN THE
MODEL OF PROTECTIVE ACTIVITY OF RESVERATROL
AND QUERCETIN IN RATS**

Maciej Gawlik, Malgorzata Gawlik

Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy,
Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland
e-mail: mfgawlik@cyf-kr.edu.pl

Since the description of manganese by Couper in 1837, manganese (Mn) is the subject of insightful toxicology studies, mostly, on its impact on the brain and Central Nervous System (CNS). Although exposure to this metal is gradually reduced in an occupational (e.g. among welders) and human living (e.g. in drinking water) environment, the problem is still present due to not fully understood mechanism of action of Mn on the human body.

One of the proposed directions of toxicity of Mn is participation in the single-electron reactions, contributing to an increase in the level of reactive oxygen species (ROS) and the development of oxidative stress (OS).

In our study, we evaluated the effects of manganese in the combined exposure to ethanol (Et) in the model of the protective action of resveratrol (RES) and quercetin (QCT) in subacute exposure having the features of occupational exposure. Male Wistar rats were exposed *i.p.* on 20 mg/kg MnCl₂ and RES or QCT suspension in 10 % ethanol *p.o.* in two doses for four weeks once a day, five days a week. After decapitation, organs were isolated and markers of pro-/antioxidative balance were measured. Additionally, in the brain, some anatomical structures were separated.

We observed differences between effects in the brain and other peripheral tissues, among others, in the liver and testicles. In the brain, there were no or weak symptoms of prooxidative action of Mn and Et while in the liver and testicles, Mn showed antioxidant activity in the

range of MDA and *alpha*-tocopherol contents. After exposure to Mn, values of these markers underwent a significant improvement as compared to their levels after administration of Et. The activity of polyphenols in these conditions was also characterized by varying of the direction depending on the organ and dose. In the liver and testicles for higher dose of resveratrol, intensification of oxidative processes was observed.

Acknowledgments

This work has been partially supported by the statutory funds of the Jagiellonian University (K/ZDS/006225) and by the grant from the National Science Centre no. UMO-2011/01/B/NZ4/00708.

**PRELIMINARY STUDY OF THREE-DIMENSIONAL TOOTH
MODEL RECONSTRUCTION FROM VOLUMETRIC IMAGE
OF PORCINE MANDIBLE OBTAINED BY CONE BEAM CT
WITH MICRO-CT VALIDATION**

**Piotr Grad¹, Jakub Kamiński², Maciej Śniechowski²,
Jolanta Pytko-Polończyk¹**

¹Department of Integrated Dentistry, Jagiellonian University Medical College,
Montelupich 4, 31-155 Cracow, Poland

²Faculty of Physics and Applied Computer Science, AGH University of Science
and Technology, Mickiewicza 30, 30-059 Cracow, Poland

The main purpose of this study was to acquire three-dimensional (3D) model of a tooth from segmentation of data obtained by cone beam computed tomography (CBCT) with commonly used resolution approved for studies in humans and determine accuracy of reconstructed model by dimensional comparison with micro-computed tomography (micro-CT).

Porcine mandible sample was scanned by a CBCT machine with 125 µm voxel (Veraviewepocs 3D; Morita, Kyoto, Japan) and an ultra high-precision micro-CT with several times smaller voxel (Nanotom S; General Electrics, Fairfield, USA). Subsequently, 3D model of a tooth was reconstructed with use of two different programs (ImageJ and Seg3D) by segmentation of data from volumetric images obtained by both CBCT and micro-CT. Afterwards superimposition and dimensional comparison of models was made.

3D model of a tooth was successfully reconstructed with both programs from 3D images taken with CBCT and micro-CT. Preliminary study shows, that 125 µm voxel is satisfying enough to provide accurate 3D model of a tooth, which was proven by comparison with 3D model segmented from data obtained by micro-CT. Further samples should be examined to validate studies accuracy. No significant differences were found in models prepared with use of programs ImageJ and Seg3D.

Method described in this study gives a chance for 3D reconstruction of a tooth with use of commonly used resolution of CBCT. Preoperative 3D model of a tooth could be used by many dental specialists. Not only planning of the oncoming procedure would be easier, but further reconstruction of a tooth with use of 3D printers could be possible.

References

1. Van Dessel J., Huang Y., Depypere M., Rubira-Bullen I., Maes F., Jacobs R., *Dentomaxillofac Radiol* 2013, 42, 20130145.
2. Mazzotta L., Cozzani M., Razonale A., Mutinelli S., Castaldo A., Silvestrini-Biavati A., *International Journal of Dentistry* 2013, Volume 2013, Article ID 964631.
3. Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri, K.W., *Nature methods* 2012, 9, 671-675.

**ANALYSIS OF ANTI-INFLAMMATORY POTENTIAL OF
CANTHARELLUS CIBARUS EXTRACTS FROM FRUITING
BODIES AND *IN VITRO* CULTURES IN LPS ACTIVATED CELL
MODELS**

**Agata Grzywacz¹, Michał Owca¹,
Joanna Gdula-Argasińska², Bożena Muszyńska¹**

¹Department of Pharmaceutical Botany, Jagiellonian University Medical College, Faculty of Pharmacy, 9 Medyczna St., 30-688 Cracow, Poland

²Department of Radioligands, Jagiellonian University Medical College, Faculty of Pharmacy, 9 Medyczna St., Cracow, Poland

Fighting chronic inflammation is a real medical problem nowadays. Prolonged inflammation processes are observed in neurodegenerative, metabolic, autoimmune diseases and aging. The mechanism of action of the mostly used anti-inflammatory agents, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is inhibition of COX-2, prostaglandin endoperoxide synthase enzyme. However these drugs show many side effects, especially in prolonged usage. Therefore the research of new sources of anti-inflammatory agents is the pressing need.

Zinc is indispensable bioelements in metabolic pathways of immune system. Deficiency and altered homeostasis of zinc may contribute to development of chronic inflammation. Edible mushrooms are potent source of active compounds, such as polysaccharides, phenolic compounds, fatty acids and others, which may have anti-inflammatory properties. Additionally mushroom species of Basidiomycota, for example: *Agaricus bisporus*, *Boletus badius*, *Cantharellus cibarius* have the ability to effectively accumulate macro- and micro elements, ie zinc.

The aim of this study was to determine the anti-inflammatory properties of extracts obtained from mushroom biomass from *in vitro* culture supplemented with zinc(II) compounds (zinc hydroaspartate and zinc sulphate). Extracts were tested using *in vitro* cell models: A549 cells (Human Lung Epithelial Carcinoma) and HUVEC (Primary Human

Umbilical Vein Endothelial Cells) activated with LPS (10 ng/ml) and incubated with the addition of the tested extracts for 24 h. Next the expression levels of inflammatory markers were determined using Western blot technique.

The main result of the experiment is: Incubation of human cells with extracts obtained from mushroom material decreased the expression of COX-2. This result may indicate the anti-inflammatory potential of *Cantharellus cibarius* extracts, which can contribute to the development of new therapeutic strategies.

References

1. Grzywacz A., Gdula Argasińska J., Muszyńska B., Tyszka Czochara M., Librowski T., Opoka W., *Acta Biochimica Polonica* 62: 491-498.

KOMERCYJNE PRODUKTY ZAWIERAJĄCE *ARTROSPHIRA* SP. (*SPIRULINA*) JAKO ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH

Patrycja Hałaszk¹, Aleksandra Rzewińska¹, Barbara Jękot¹,
Aleksandra Szymik², Jacek Rojowski², Agnieszka Szewczyk¹,
Włodzimierz Opoka², Bożena Muszyńska¹

¹Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

²Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Arthrospira sp. (Spirulina) jest mikroalgą zaliczaną do sinic (*Cyanobacteria*). Od dawna jest wykorzystywana w wielu krajach, jako środek spożywczy i dodatek żywieniowy. Jest źródłem witamin takich jak C, E, PP (niacyna) oraz witamin z grupy B (B₁, B₂, B₆ i B₁₂). Gatunek ten stanowi bogate źródło minerałów: P, Fe, Ca, K, Na, Mg zawiera również kwas foliowy, kwas pantotenowy, inozytol oraz barwniki (fikocyjaniny, karotenoidy, chlorofil b). W suplementach diety stosowane są przede wszystkim gatunki *Arthrospira platensis* i *Arthrospira maxima* znane pod nazwą Spirulina w formie liofilizowanej [1]. Celem pracy była analiza stopnia uwalniania kwasów fenolowych do sztucznych soków trawiennych (ślina, sok żołądkowy, sok jelitowy) w warunkach imitujących sztuczny przewód pokarmowy człowieka (temperatura 37°C, pH soków trawiennych, ruchy perystaltyczne) z preparatów komercyjnych zawierających spirulinę. Materiał do analizy stanowiły preparaty zawierające spirulinę powszechnie dostępne w sklepach ze zdrową żywnością i w aptekach w postaci tabletek, kapsulek, liofilizatów i ekstraktów. Analizę związków fenolowych metodą RP-HPLC przeprowadzono w ekstraktach metanolowych z preparatów zawierających *Arthrospira sp.* w układzie rozwijającym: rozpuszczalnik A: metanol/0,5% kwas octowy 1:4 (v/v), i rozpuszczalnik B: metanol. Gradient stężeń był

następujący: 100:0 dla 0-25 min; 70:30 dla 35 min; 50:50 dla 45 min; 0:100 dla 50-55 min; 100:0 dla 57-67 min. [1].

Związki fenolowe oznaczone w toku analizy to kwas galusowy, protokatechowy, 3,4-dihydroksyfenylooctowy, *p*-hydroksybenzosowy, syringowy i cynamonowy oraz kwercetyna. W wyniku eksperymentu stwierdzono, że spirulina dystrybuowana w postaci tabletek nie ulega rozpadowi w sztucznych sokach trawiennych.

Piśmiennictwo

1. Muszyńska B., Łojewski M., Sułkowska-Ziaja K., Szewczyk A., Gdula-Argasińska J., Hałaszk P., *Pharmaceutical Biology* 2016, 4, 1-11.

**KWASY FENOLOWE OZNACZONE
W EKSTRAKTACH Z BIOMASY Z KULTUR *IN VITRO*
*BACOPA MONNIERI***

**Patrycja Hałaszuk, Aleksandra Rzewińska, Maciej Łojewski,
Bożena Muszyńska**

Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński,
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Bacopa monnieri jest wykorzystywana od ponad 5000 lat w terapii takich schorzeń jak: padaczka, bezsenność oraz jako surowiec o działaniu uspokajającym i przeciwlękowym. Surowiec ten zalecany jest również, jako środek poprawiający pamięć i koncentrację. *B. monnieri* jest rośliną adaptogenną czyli ekstrakty z niej pozyskane ułatwiają przystosowanie się organizmu człowieka do niekorzystnych warunków środowiskowych, oraz posiadają normalizujący wpływ na proces adaptacji. Jest ona też stosowana w profilaktyce depresji [1].

Na podstawie badań naukowych stwierdzono, że związkami odpowiedzialnymi za działanie *B. monnieri* są bakozydy, wśród których dominują bakozydy A i B należące do grupy saponin triterpenoidowych.

Fizjologiczna aktywność kwasów fenolowych była przyczyną wyboru tych związków do oznaczenia ich zawartości w biomacie z kultur *in vitro* licznych roślin leczniczych jak i również w biomacie z kultur *in vitro* *B. monnieri*.

Wcześniejsze doniesienia wykazały całkowitą zawartość kwasów fenolowych i flawonoidów w ziele *B. monnieri*, i tym związkom przypisano właściwości antyoksydacyjne tej rośliny [2]. W aktualnych badaniach oznaczono trzy różne związki fenolowe w biomacie z kultur *in vitro* *B. monnieri*. Najwyższe stężenie kwasu chlorogenowego (0,70 mg/g sm) i kwasu neochlorogenowego (0,40 mg/g sm) stwierdzono w materiale z kultur *in vitro* z dodatkiem 0,5 g/L seryny, natomiast kwasu kawowego (0,04 mg/g sm) w biomacie z dodatkiem 0,1 g/L L-tryptofanu. Obecność wykazanych kwasów fenolowych w ekstraktach z biomasy

z kultur *in vitro* *B. monnieri* w aktualnym eksperymencie potwierdza przeciwzapalne, żółciopędne, immunostymulacyjne, antyagregacyjne, hipoglikemiczne oraz fungistatyczne i bakteriostatyczne działanie badanego surowca.

Piśmiennictwo

- 1 Łojewski M., Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., *Postępy Fitoterapii* 2014, 2, 84-89.
2. Shah M., Behara Y.R., Jagadeesh B., *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2012, 3, 3418-3424.

OPRACOWANIE I WALIDACJA METODY RP-HPLC DO OZNACZANIA WITAMIN K ORAZ D₃

**Urszula Hubicka, Katarzyna Mytnik, Joanna Piwowarczyk,
Agata Kryczyk**

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Cechą charakterystyczną witamin z grupy K jest wspólny dla wszystkich pierścieni 2-metylo-1,4-naftochinonowy z przyłączonymi w pozycji C-3 grupami izoprenowymi. Grupy te, w zależności od ich liczby, stanowią podstawę klasyfikacji witamin K do różnych grup (K₁, K₂ i K₃). Witamina K₁ aktywuje czynniki krzepnięcia krwi (czynnik II, VII, IX i X). Witamina K₂ bierze udział w procesie karboksylacji białka MGP (*Matrix Gla Protein*), które razem z osteokalcyną odgrywają istotną rolę w regulacji mineralizacji tkankowej np. kości. Witamina D₃ (cholekalcyferol) powstaje z 7-dehydrocholesterolu w skórze w komórkach Malpighiego pod wpływem promieniowania UV o zakresie długości fal 290-320 nm. W wątrobie cholekalcyferol ulega hydroksylacji do 25-hydroksykalcyferolu, a następnie w nerkach, w wyniku hydroksylacji w pozycji 1, przekształcany jest w kalcytriol, aktywną postać witaminy D. Witamina D₃ wpływa przede wszystkim na układ kostny, ale także na układ immunologiczny, krążenia, nerwowy, mięśniowy oraz rozrodczy. Ze względu na istotną rolę biologiczną witaminy K oraz D₃ są często suplementowane u dzieci i dorosłych i występują łącznie w suplementach diety.

Celem niniejszej pracy było opracowanie i walidacja metody RP-HPLC do jednoczesnego oznaczenia witamin K oraz D₃.

Jako fazę stacjonarną zastosowano kolumnę cholesterolową, o wymiarach 150x4,6 mm oraz jako fazę ruchomą mieszaninę rozpuszczalników o składzie metanol : acetonitryl w stosunku 90:10 (v/v).

Szybkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1,0 ml/min a detekcję prowadzono przy długości fali 254 nm.

Opracowana metoda pozwala na rozdział witamin K₁, K₂ MK-4, K₂ MK-7 oraz ich izomerów cis i trans a także witaminy D₃. Wykonana zgodnie z wytycznymi ICH walidacja wykazała, że metoda jest specyficzna, wykazuje liniowość w szerokim zakresie stężeń, cechuje się dobrą czułością, precyzją i dokładnością i w związku z tym może być zastosowana do analizy ilościowej witamin K i D₃. Przeprowadzenie oznaczeń zawartości wyżej wymienionych witamin w wybranych suplementach diety i preparatach farmaceutycznych potwierdzają przydatność opracowanej metody do rutynowych analiz.

PATHOLOGICAL TOOTH WEAR AMONG MOUTH PAINTING ARTISTS WITH DISABILITIES

**Anna Jakubik, Anna Przeklasa-Bierowiec, Katarzyna Szczeklik,
Jolanta Pytko-Polończyk**

Department of Integrated Dentistry, Jagiellonian University
Medical College, 4 Montelupich St., 31-155 Cracow, Poland

Mouth painting artists represent a group of people who, due to their disabilities, on a daily basis use their mouths for a wide range of activities – from fastening buttons, through writing and using a computer, to painting pictures. These patients are exposed to numerous pathological changes, such as pathological tooth wear, non-carious lesions or injuries of the oral mucosa. In addition, it is difficult for them to maintain good oral hygiene, as hygienic actions often need to be performed by their carers. The paper presents a case of a 52-year-old man who has been disabled for twenty years. An intraoral examination has shown missing teeth, multiple cases of pathological tooth wear classified as I-III in Martin's classification, as well as other coexisting non-carious lesions. The accompanying inflammation of marginal gingiva and tartar deposits showed difficulties with maintaining oral hygiene. A comprehensive analysis of curative needs was performed, and the treatment commenced. Due to an enduring nature of the treatment currently the patient is at the stage of preparation for prosthetic rehabilitation. The presented case illustrates the multitude of therapeutic problems that accompany patients with disabilities in everyday life, which additionally decrease their life quality. The implemented preventive measures and conservative-surgical treatment, as well as the planned prosthetic treatment aim to considerably improve the daily comfort. The ultimate plan is to construct a rail allowing for the use of teeth in activities such as writing, painting, etc. while also protecting the intraoral tissues. In case of such specific changes resulting from the use of the mouth in a number of custom procedures, it is

necessary to cover a wider group of mouth painting artists and to implement a multidisciplinary care programme.

References

1. Osiewicz M., Loster B.W., *Protetyka Stomatologiczna* tom LXII nr 2, marzec-kwiecień 2012 r.
2. Tejchman H., Bogurski M., Nawrocki M., *Protetyka Stomatologiczna* 2003, 53, 15-19.
3. Geffner I., *Br Dent J.* 1980, 149, 109-10.
4. Avcu N., Ozbek M., Kurtoglu D., Kurtoglu E., Kansu O., Kansu H., *Arch Gerontol Geriatr.* 2005, 4, 69-79.

**TARGETED PROFILING OF EICOSANOIDS IN THE
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MICE MODELS APPLYING
UPLC/MS/MS TECHNIQUE**

**Agnieszka Kij^{1,2}, Kamil Kuś¹, Agnieszka Zakrzewska¹,
Bartosz Proniewski¹, Joanna Wietrzyk³, Maria Walczak^{1,2},
Stefan Chłopicki^{1,4}**

¹Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET),
Jagiellonian University, Bobrzynskiego 14, 30-348 Krakow, Poland

²Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Krakow, Poland

³Hirszfeld Institute of Immunology and Experimental Therapy,
Polish Academy of Sciences, Weigla 12, 53-114 Wroclaw, Poland

⁴Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College,
Grzegorzeczka 16, 31-531 Krakow, Poland

Endothelial dysfunction is a pathological state of endothelium associated with the occurrence of cardiovascular events and diseases including hypertension, atherosclerosis and cancer metastasis. Endothelial cells exert many vasoactive agents implicated in regulation of important biological functions and maintenance of vascular homeostasis under physiological and pathophysiological conditions. Notable among these are biologically active metabolites of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) called eicosanoids. In the present study the changes in selected eicosanoids generated from arachidonic acid (AA) *via* cyclooxygenases (COXs), lipoxygenases (LOXs) and cytochrome P450 enzymes pathways in murine model of NO-deficiency and metastatic breast cancer were assessed in relation to the development of endothelial dysfunction evaluated on the basis of alternations in NO metabolites.

NO-deficiency was induced by N ω -Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) administration - an irreversible inhibitor of endothelial nitric oxide synthase. The elevated concentration of TXB₂ in plasma after L-NAME treatment can be explained by the lack of NO and increased

platelets activity. On the other hand, the concentration of 6-keto-PGF_{1α} was also increased indicating the activation of the PGI₂ dependent compensatory mechanism in NO-deficiency condition. The changes in PGI₂ and TXA₂ measured in urine were less pronounced than in plasma.

In metastatic breast cancer mice model the 4T1 cells were orthotopically inoculated into the right mammary fat pad of Balb/c mice. The highest concentration of PGE₂ and PGD₂ in plasma was observed 2 weeks after cancer cells inoculation suggesting that among others mainly these prostanoids are implicated in the early tumor progression and development of metastatic niche microenvironment. Moreover, the biosynthesis 12(S)-HETE was increased at 2 and 4 week of tumor progression suggesting the intensification of angiogenesis probably caused by the activation of VEGF pathway. Additionally, the concentration of urinary metabolite of TXA₂ was also elevated throughout the experimental period what suggest the activation of platelets or systemic inflammation. Taking together, there are pronounced changes in eicosanoids profile associated with the early progression of metastasis and late cancer-related inflammation. Further studies are warranted to elucidate which of these changes are specific to the in pre-metastatic niche formation in the lung and which to the development of systemic cancer-related inflammation.

Acknowledgments

This study was supported by the National Science Centre, Poland 2015/17/N/NZ7/01044 and the National Centre for Research and Development STRATEGMED 1/233226/11/NCBR/2015.

NATURAL COMPONENT OF DIET - *IN VITRO* CULTURE OF *AGARICUS BISPORUS* UNDER CONTROLLED CONDITIONS

**Agata Krakowska¹, Bożena Muszyńska², Włodzimierz Opoka³,
Witold Reczyński¹, Bogusław Baś¹**

¹Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and
Technology, Cracow, Poland

²Department of Pharmaceutical Botany Jagiellonian University
Medical College, Cracow, Poland

³Department of Inorganic and Analytical Chemistry,
Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland

The changing style, pace of life and relatively low quality of food products made, in recent times, a significant increase in sales of dietary supplements. It becomes valuable to be informed and willing of exploration the natural components that could make up shortfalls of bio-elements occurring in the human body. Hence of the idea for the use of *Agaricus bisporus* – the species of edible mushroom, with the capacity for accumulation of the macro and microelements.

In addition, this species has a strong antioxidant properties by the presence in its fruiting bodies such compounds as: ergothioneine, phenolic acids and lovastatin. This research of presented work involved a series of experiments that led to obtain very valuable information. Biomass obtained from *in vitro* cultures enriched with selected micronutrients, was characterized by satisfactory repeatability. The device that allowed collection of the biological fluid material successfully without infecting *in vitro* culture was constructed and enabling monitoring of the change in the composition of the medium under sterile conditions. In addition, studies were carried out digestion of biomass obtained from *in vitro* cultures *A. bisporus* in artificial digestive juices (saliva, gastric and intestinal) in conditions that mimic the human digestive system. The results of research have provided information not only on the ability to release bio-elements in conditions that mimic artificial human digestive system, but also

allowed them to mark the extracts obtained using ASA technology (F-AAS).

The results proved that the resulting biomass (about 100 mg) with enriched media allows for supplementing the daily requirement of man with the studied micronutrients. The study showed, others downright innovative approach to supplementation, which meant that the subject is important.

References

1. Reczyński W., Muszyńska B., Opoka W., Smalec A., Sułkowska-Ziaja K., *Biological Trace Elements Research* 2013, 153, 355-362.

**THE CONTENT OF INDOLE COMPOUNDS IN BIOMASS OF
AGARIUS BISPORUS AND *BOLETUS BADIUS* FROM CULTURE
IN VITRO ENRICHED IN THEIR PRECURSORS**

**Remigiusz Krężalek¹, Konrad Dobosz¹, Katarzyna
Sulkowska-Ziaja¹, Katarzyna Kala¹, Anna Maślanka²,
Agata Krakowska³, Bożena Muszyńska¹**

¹Department of Pharmaceutical Botany Jagiellonian University
Medical College, 9 Medyczna St., 30-688 Cracow, Poland

²Department of Inorganic and Analytical Chemistry,
Jagiellonian University Medical College, 9 Medyczna St.,
30-688 Cracow, Poland

³Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and
Technology, Cracow, Poland

Agaricus bisporus commonly named white mushroom, is one of the most popular edible mushrooms collected from commercial cultivations and rare from natural sites. *A. bisporus* contains high levels of free aminoacids, phenolic and indole compounds, polysaccharides, ergothioneine, lovastatin, tyrosinase, vitamins and elements. *A. bisporus* exhibits many biological activities, such as anti-inflammatory, antitumor, antioxidant, antibacterial, and immunomodulatory ones. The composition of medium for *in vitro* mushroom cultures was determinate the by adding anthranilic acid or serine to the medium, we wanted to check if it changes the contents of indole compounds in *A. bisporus* mycelium. Mycelium of *A. bisporus* was cultured on liquid Oddoux medium with addition of four different concentrations of anthranilic acid and serine (0,1 g/L, 0,25 g/L, 0,5 g/L and 0,75 g/L). The biomass from *in vitro* culture of *A. bisporus* was lyophilized and was extracted with methanol. Methanolic extracts were analyzed by TLC method coupled with densitometry detection. The results were compared with control *A. bisporus* biomass from medium cultured without addition of anthranilic acid and serine.

Indole compounds and their contents were found in methanolic extracts from *A. bisporus* cultured on medium containing anthranilic acid in content 0.5 g/L and resulted the highest concentration of 5-hydroxy-L-tryptophan (154.6 mg/100 g d.w.) and L-tryptophan (66.9 mg/100 g d.w.) with results for extracts from control mycelium. By changing the composition of medium for *in vitro* mushroom cultures, it is possible to increased amount of important for human health substances, what maybe can be used for biotechnological production of them.

References

1. Kała K., Muszyńska B., Zając M., Opoka W., Krężalek R., *International Journal of Medicinal Mushrooms* 2016, 18, 155-164.
2. Muszyńska B., Kała K., Sułkowska-Ziaja K., Krakowska A., Opoka W., *Food Chemistry* 2016, 199, 509-515.

OCENA ZDOLNOŚCI DO REMEDIACJI KADMU I OŁOWIU PRZEZ MYCELIA Z KULTUR *IN VITRO*

Agata Kryczyk¹, Joanna Piotrowska¹, Magdalena Sito¹, Włodzimierz
Opoka¹, Bożena Muszyńska²

¹Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

²Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Uwalnianie metali ciężkich do środowiska stale wzrasta, stwarzając potencjalne zagrożenie dla środowiska i zdrowia publicznego ze względu na ich toksyczność i możliwą akumulację w łańcuchu pokarmowym. W przeciwieństwie do wielu odpadów organicznych, metale ciężkie nie mogą być przekształcane do produktów biologicznie nieszkodliwych. Mykoremediacja jest jednym ze sposobów na oczyszczanie środowiska skażonego metalami ciężkimi, a także radioaktywnymi substancjami.

Celem niniejszego opracowania była ocena zdolności do akumulacji wybranych metali ciężkich przez jadalne gatunki grzybów, takie jak: *Laetiporus sulphureus* (*Polyporaceae*), *Agaricus bisporus* (*Agaricaceae*) oraz *Boletus badius* (*Boletaceae*). Badania polegały na oznaczaniu stężenia kadmu(II) i ołowiu(II) w myceliach pochodzących z kultur *in vitro* prowadzonych na pożywkach wzbogaconych w kadm(II) lub ołów(II) o stężeniu $5 \cdot 10^{-5}$ M, a także w owocnikach pozyskanych ze środowiska naturalnego. Próbkę liofilizowanych owocników, biomasy oraz pożywek pochodzących z kultur *in vitro* poddawano mineralizacji mikrofalowej. W programie sterującym pracą mineralizatora przyjęto procedurę rozkładu składającą się z trzech kroków 10 minutowych (moc 100%, ciśnienie w przedziale 42-45 Ba, temperatura w przedziale 295-300°C). Analizę stężeń badanych metali wykonano z zastosowaniem techniki absorpcyjnej spektrometrii atomowej.

Wykazano różnice istotne statystycznie ($p < 0,05$) w zdolnościach remediacyjnych pomiędzy badanymi gatunkami grzybów. Najwyższe

stężenie jonów Cd(II) oznaczono w mycelium *Laetiporus sulphureus*, natomiast jonów ołowiu(II) w mycelium *Agaricus bisporus*. Największe zdolności akumulacji zarówno kadmu(II) jak i ołowiu(II) w grzybni w przeliczeniu na suchą masę wykazano dla *Laetiporus sulphureus*. Spośród badanych gatunków *Boletus badius* posiada najmniejszą zdolność do bioakumulacji ołowiu(II), natomiast najmniejsze zdolności do remediacji kadmu(II) wykazał *Agaricus bisporus*. Uzyskane wyniki badań potwierdzają możliwość zastosowania badanych gatunków grzybów w procesie remediacji oraz wskazują na zależność zdolności do bioakumulacji metali ciężkich od gatunku.

**PROTEOMIC ANALYSIS OF FORMATION OF
PREMETASTATIC NICHE IN LUNGS IN THE COURSE OF
MURINE 4T1 ADRENOCARCINOMA**

**Anna Kurpińska¹, Joanna Suraj^{1,2}, Emilia Bonar³, Agnieszka
Zakrzewska¹, Magdalena Sternak¹, Maria Walczak^{1,2}**

¹Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET),
Jagiellonian University, Bobrzyńskiego 14, 30-348 Cracow, Poland

²Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

³Department of Analytical Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics
and Biotechnology, Jagiellonian University,
Gronostajowa 7, 30-387 Cracow, Poland

Lung metastatic niches facilitate the process of cancer cells survival in a foreign microenvironment and enable their protection against immune defence. They might be formed in response to inflammatory events activated by primary tumors before their invasion to the metastatic organ or/and result from a cross-talk between metastazing tumor cells and local non-tumor cells.

The aim of this research was to detect the indicatory proteins characteristic for formation of a metastatic niche in the lungs in the experimental model of tumor metastasis in murine 4T1 mammary adenocarcinoma.

The studies were performed on 7-8 weeks old BALB/c female mice. The viable 4T1 tumor cells were orthotopically inoculated into the right mammary fat pad. The analysis was performed 1 and 2 weeks after cancer cells transplantation.

The selection of weeks for analysis was due to the fact that the metastases are formed in lungs two weeks after tumor cells inoculation.

The comparative analysis of protein profiles was performed with the aid of the two-dimensional difference in gel electrophoresis (2D-DIGE). In the second step, gels with resolved proteins were subjected to statistical

analysis using DeCyder software. Proteins, which expression differed significantly, will be identified in the final step using mass spectrometry (LC-MS/MS).

This approach will enable the characterization of the molecular changes occurring at the molecular/protein level and the analysis of the communication and adaptation mechanisms in lung tissues which gives great opportunities to identify potential biomarkers characteristic for the early stages of cancer metastasis.

References

1. Maru Y., *Journal of Molecular Medicine* (Berl) 2015, 93, 1185-1192.

Acknowledgments

The research was carried out within the project METENDOPHA (a grant coordinated by JCET-UJ, No STRATEGMED1/233226/11/NCBR/2015).

ANTINOCICEPTIVE PROPERTIES OF XANTHONE-ZINC DERIVATIVES

Anna Lipkowska, Tadeusz Librowski

¹Department of Radioligands, Faculty of Pharmacy,
Jagiellonian University Medical College
9 Medyczna St., Cracow 30-688, Poland

Introduction: Pain is defined as an unpleasant feeling and emotional experience combined with actual or potential tissue damage. Through the types of pain the acute and chronic are distinguished. One of the types of chronic pain is neuropathic pain. It may be caused by a primary lesion or dysfunction of the nervous system. However, some studies suggest the key role of inflammatory process in the formation of peripheral neuropathic pain.

Plants containing xanthone derivatives were and still are widely use in folk medicine in various ailments, among them fever, cold, abdominal pain or wound healing should be mentioned. Both, naturally occurring and synthetic xanthone derivatives are investigated.

Zinc is a one of the essential microelements in development and functioning of human body. It plays an important role in modulation immune and inflammatory response. Previously conducted studies have revealed that zinc can affect the inflammation development.

Materials and methods: The formalin test was conducted mice. Investigated compounds were administered intraperitoneally and formalin solution was injected intraplantarly into the right hind paw of each of the mice. After that animals were observed for the next 45 minutes. Time spent on licking, biting or lifting the injected hind paw was measured.

Results: In the formalin test two phases are distinguished. A significant antinociceptive activity was observed during the late phase of test for three of the investigated compounds. No activity in the early neurogenic phase was observed.

References

1. Vadalouca A., Raptis E., Moka E., Zis P., Sykioti P., Siafaka I., *Pain Pract* 2012, 12, 219–51.
2. Pedraza-Chaverri J., Cárdenas-Rodríguez N., Orozco-Ibarra M., Pérez-Rojas J.M., *Food and Chemical Toxicology* 2008, 46, 3227–3239.
3. Foster M., Samman S., *Nutrients* 2012, 4, 676-694.
4. Hunskaar S., Hole K., *Pain* 1987, 30, 103–114.
5. Gawel M., Librowski T., Lipkowska A., *Pharmacol Rep.* 2013, 65, 214-219.

CAPILLARY ELECTROPHORESIS FRONTAL ANALYSIS (CE/FA) METHOD FOR THE STUDY OF INTERACTIONS OF DOXORUBICIN WITH BOVINE SERUM ALBUMIN

**Karolina Matyjaszczyk^{1,2}, Anna Gonciarz-Dytman²,
Irena Oszczapowicz³, Małgorzata Łukawska³, Stefan Chłopicki^{1,4},
Maria Walczak^{1,2}**

¹Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET),
Jagiellonian University, Bobrzynskiego 14, 30-348 Krakow, Poland

²Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

³Institute of Biotechnology and Antibiotics, Staroscinska 5,
02-516 Warsaw, Poland

⁴Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College,
Grzegorzeczka 16, 31-531 Cracow, Poland

Anthracycline antibiotics are a class of drugs commonly used in cancer chemotherapy. Among them doxorubicin is the most important one, being widely used for the treatment of solid tumors and acute leukemias. Mechanism of action of anthracyclines is still unclear and various pathways are thought to be involved in their cytotoxicity. Similar to other antitumor agents anthracyclines are characterized by a narrow therapeutic index and many adverse effects *e.g.* cardiotoxicity, which limited their use in therapy.

Capillary electrophoresis (CE) is becoming a widely accepted analytical method in biology and medicine. CE ensure short analysis time, high resolution, and minimal consumption of samples and reagents, making it an attractive technique. Within a variety of CE application, area of biomolecular interactions is intensively developing. One of them is capillary electrophoresis in the frontal analysis mode (CE/FA).

The aim of this work was development the CE/FA method which can be used to assess the interaction of doxorubicin with BSA. A P/ACE MDQ capillary electrophoresis system (Beckman Coulter, Fullerton, CA,

USA) with 32 Karat software (version 8.0, Beckman, USA) was used for analyses. Apparatus was equipped with a photodiode array detector fixed at 233 nm. Separation of the analyte took place in an uncoated fused-silica capillary (30.2 cm total length, 20 cm effective length, 50 $\mu\text{m.i.d.}$ and 375 $\mu\text{m.o.d.}$) at 25°C. Before each injection, the capillary was flushed for 3 min with 0.1 M HCl, then with 0.1 M NaOH, followed by a double-distilled water, and finally with running buffer solution. The samples were injected hydrodynamically at 0.5 psi for 30 sec, with an injection plug length of about 30.31mm. A separation voltage of +10 kV was used in the experiment which performed electric field of about 333 Vcm^{-1} . Several buffer systems were tested and as the most suitable 12.5 mM TRIS HCl (pH 7.4) was chosen.

CE/FA seems to be a useful tool for quantitative assessment of binding parameters of doxorubicin with proteins.

References

1. Galilevsky V.A., Stasheuski A.S., Krylov S.N., *Anal. Chem.* 2015, 87, 157-171.
2. Gonciarz A., Kus K., Szafarz M., Walczak M., Zakrzewska A., Szymura-Oleksiak J., *Electrophoresis* 2012, 33, 3323–3330.

Acknowledgments

This work was supported by grant STRATEGMED 1/233226/11/NCBR/2015.

**INTRAEPIDERMAL NERVE FIBERS DENSITY IN VULVAR
LICHEN SCLEROSUS AND NORMAL VULVAR TISSUES AND
ITS CORRELATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL
FINDINGS**

**Katarzyna Milian-Ciesielska, Grzegorz Dyduch, Edyta Radwańska,
Mateusz Kaczmarczyk, Jarosław Jarczewski, Dariusz Adamek**

Department of Pathology Jagiellonian University, Cracow

Lichen sclerosis (LS) is a chronic and inflammatory disease of genital and extragenital skin in women and less frequently in men with a potential for functional deterioration, atrophy, destructive scarring and malignant evolution. Its pathogenesis is not yet fully elucidated, but autoimmune mechanisms are favored. Lichen sclerosis as a chronic and inflammatory disease causes sensory changes like itch, irritation and pain. Although a fragmentation of nerve fibers in the dermis was previously observed, alterations in the epidermal innervation by small nerve fibers (intraepidermal nerve fibers, IENFs) have not been investigated yet.

To determine if these sensory symptoms originate in changes of the epidermal innervation, small epidermal nerve fiber morphometry was performed. Small epidermal nerve fibers were calculated in 20 vulvar skin biopsies of patients affected with Lichen sclerosis and in 20 biopsies of normal vulvar skin, with use of European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society protocol for small fiber neuropathy diagnosis. Cases of lichen sclerosis were categorized to early (n=6), intermediate (n=9) and advanced (n=5) stage of the disease. Single IENFs crossing the dermal-epidermal junction immunostained with PGP 9.5 were counted under a bright-field microscope at high magnification (40x) in three serial cross-sections of one to four sections per biopsy. The lengths of the dermal-epidermal junction were measured with ImageJ program for calculation of the exact linear epidermal innervation density (IENF/mm).

Mean IENF density in vulvar lichen sclerosis was 7.52 (values ranged from 2.69 to 20.15). In control group mean IENF density was

12.25 (values ranged from 3.52 to 24.74). Statistical analysis showed that decrease of IENF density in vulvar lichen sclerosus compared to normal vulvar tissues can be stated with statistical certainty (p-value: 0.0049). Analysis of variance revealed statistically significant differences in IENF densities among different stages of the disease.

References

1. Weedon's Skin Pathology, 3rd Edition
2. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society.
3. Ikoma A., Steinhoff M., Ständer S., Yosipovitch G., Schmelz M., *Nat Rev Neurosci.* 2006, 7, 535-47.
4. Kidd B.L., Urban L.A., *Br J Anaesth.* 2001, 87, 3-11.

ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW INDOLOWYCH W POSZCZEGÓLNYCH ODMIANACH I CZĘŚCIACH OWOCNIKÓW PIECZARKI DWUZARODNIKOWEJ

**Bożena Muszyńska¹, Katarzyna Kała¹, Katarzyna
Sulkowska-Ziaja¹, Michał Furtak¹, Agata Grzywacz¹,
Joanna Piotrowska²**

¹Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

²Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Oznaczenia związków indolowych metodą RP-HPLC podjęto się w aktualnej pracy ze względu na ich istotną zdolność do regulacji rytmu biologicznego człowieka oraz właściwości antyoksydacyjne, a nawet przeciwdepresyjne. L-Tryptofan bywa kojarzony w profilaktyce terapii depresji z innymi lekami przeciwdepresyjnymi. Związek ten jest składnikiem suplementów diety przeznaczonych do stosowania w przypadku sytuacji stresowych lub też problemów z zasypianiem. W organizmie człowieka, w ośrodkowym układzie nerwowym tryptofan zostaje przekształcony w serotoninę i melatoninę.

Najwyższe całkowite zawartości związków indolowych stwierdzono we wszystkich odmianach *A. bisporus* w zewnętrznej części grzybni tworzącej kapelusz tzw. skórce kapelusza i wahały się one w granicach 196 do 239 mg/100 g sm. Najwyższą całkowitą zawartość związków indolowych i największą ich ilość (L-tryptofan, 5-hydroksy-tryptofan, serotoninina, tryptamina i 5-metylotryptamina) spośród odmian *A. bisporus* stwierdzono dla odmiany brązowej. W owocnikach odmiany białej wykazano obecność jedynie L-tryptofanu i 5-hydroksytryptofanu. Związkiem występującym we wszystkich odmianach i częściach owocników w największych ilościach był 5-hydroksy-L-tryptofan (od 191 w trzonach portobello do 185 mg/100 g sm w skórce kapelusza odmiany białej). 5-Hydroksytryptofan to naturalnie występujący w organizmach

żywych aminokwas, będący produktem bezpośrednim w biosyntezie serotoniny z L-tryptofanu. W niektórych krajach jest stosowany w preparatach działających przeciwdepresyjnie, zmniejszających odczucie głodu oraz jako środek usposabiający do snu. Melatoninę stwierdzono jedynie w odmianie portobello w ilości 2.3 mg/100 g sm. We wszystkich odmianach najwyższe całkowite zawartości tych metabolitów stwierdzono w skórce kapelusza (od 196 do 239 mg/100 g sm), nieznacznie mniejsze ilości oznaczono w trzonach (od 129 do 211 mg/100 g sm), natomiast najmniejsze w pozbawionych „skórki” kapeluszach (od 13 do 98 mg/100 g sm).

Ilości oznaczonych związków indolowych są porównywalne i nie odbiegają od otrzymanych we wcześniejszych badaniach. Uzyskane całkowite zawartości związków indolowych w owocnikach *A. bisporus* dowodzą, że są one jednym z najbardziej wartościowych ich źródeł w diecie i mogą być alternatywą dla vegetarian, jeśli chodzi o zawartość egzogennych aminokwasów (charakterystycznych dla mięsa ssaków).

Piśmiennictwo

1. Muszyńska B. i wsp., *Med Intern Rev.* 2013, 101, 170-183.
2. Muszyńska B. i wsp., *Mycoscience* 2013, 54, 321-326.
3. Muszyńska B. i wsp., *J Food Sci Technol.* 2015, 52, 7337-7344.

GRZYBY JADALNE JAKO ŹRÓDŁO SUBSTANCJI O DZIAŁANIU PRZECIWSTRARZENIOWYM

**Bożena Muszyńska, Aleksandra Rzewińska, Patrycja Hałaszk,
Katarzyna Kała**

Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Pleurotus ostreatus (bocznik ostrygowaty) to grzyb, którego owocniki są źródłem związków antyoksydacyjnych i przeciwstarzeniowych takich jak lowastatyna, ergothioneina, związki fenolowe, związków indolowych: melatoniny i serotoniny oraz selenu. Jednym z najważniejszych związków fizjologicznie aktywnych zawartych w *P. ostreatus* jest lowastatyna – inhibitor reduktazy 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo koenzymu A, głównego enzymu biosyntezy endogenego cholesterolu. Jako jeden z obecnie podstawowych leków hipolipemicznych stosowana jest w terapii schorzeń układu krwionośnego, serca i w udarach mózgu, ale też działa przeciwstarzeniowo. Wykazano, że ekstrakty z bocznika zawierają pleuran (β -glukan), który może zmniejszać rozwój nowotworów, ale też działa przeciwstarzeniowo. Działanie przeciwstarzeniowe *A. bisporus* związane jest z obecnością pochodnej histydyny – ergotioneiny. Ergotioneina oprócz właściwości antyoksydacyjnych wykazuje również aktywność antymutagenną, chemo- i radioprotekcyjną, czyli ochronną dla skóry np. przed skutkami działania UV.

Agaricus bisporus – pieczarka dwuzarodnikowa jest bogata w witaminy, szczególnie z grupy B, m.in. ryboflawinę oraz ergokalcylferol. Pieczarka stanowi bogate źródło selenu i cynku. Wykazano również obecność innych składników mineralnych, wśród których są między innymi: magnez, miedź, żelazo, potas, sód, wapń, fosfor, siarka, czy mangan. Zawartość selenu, silnego antyoksydanta wynosi do 0.150 mg/kg sm.

Cantharellus cibarius – pieprznik jadalny jest gatunkiem, który wśród innych grzybów wyróżnia się największą, porównywalną z drożdżami piekarskimi zawartością witamin z grupy B. *Cantharellus cibarius* jest ponadto bogatym źródłem ergokalcysterolu (witamina D₂). Jego silne właściwości przeciwutleniające wywołuje obecność witaminy C, E, karotenoidów, flawonoidów, aminokwasów fenolowych, związków indolowych oraz selenobiałek. Selen jest elementem centrum aktywnego peroksydazy glutationowej, która spełnia w organizmie funkcję jednego z najistotniejszych przeciwutleniaczy.

W owocnikach pieprznika stwierdzono obecność tokoferoli (witamina E). Mechanizm działania witaminy E opiera się na jej właściwościach przeciwutleniających – „wymiatanie” wolnych rodników. Zapobiega uszkodzeniom DNA, hamując mutagenezę i transformację nowotworową, zmniejsza ryzyko wystąpienia zmian miażdżycowych (hamuje utlenianie LDL).

W ekstraktach metanolowych uzyskanych z owocników pieprznika stwierdzono obecność dziewięciu niehalucynogennych związków pochodnych indolu takich jak: L-tryptofan, 5-hydroksytryptofan, serotonina, melatonina. Na uwagę zasługuje wykazanie znacznych ilości serotoniny. Serotonina opóźnia proces starzenia się komórek, daje zdrowy sen i pogodny nastrój, przyczyniając się tym samym do ogólnego wzmocnienia systemu odpornościowego organizmu. Z obecnością związków indolowych są też związane właściwości antyoksydacyjne pieprznika.

Boletus badius jest gatunkiem po raz pierwszy poddanym analizie na zawartość związków fenolowych. Interesujące jest, że właśnie w tym gatunku stwierdzono najwięcej związków fenolowych: kwas protokatechowy, kwas *p*-hydroksybenzoesowy, kwas *p*-kumarowy i kwas cynamonowy, które występowały w większości w najwyższych ilościach. Powyższe wyniki pozwalają interpretować uzyskaną wysoką całkowitą aktywność antyoksydacyjną ekstraktów uzyskiwanych z tego gatunku.

Piśmiennictwo

1. Muszyńska B., Jadalne gatunki grzybów źródłem substancji dietetycznych i leczniczych. *Wydawnictwo ZOZ Ośrodka UMEA Shinoda-Kuracejo*, Kraków, 2012.
2. Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Malec M., *Farmacja Polska* 2012, 68: 629-639.
3. Muszyńska B., Kała K., Sułkowska-Ziaja K., Szewczyk A., Łojewski M., Rojowski J., *Medicina Internacia Revuo*, 2015, 104, 146-155.

**THE INFLUENCE OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES,
COMPARED TO STANDARD ZINC OXIDE, ON THE
ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF KETOPROFEN**

**Magdalena Olbert¹, Magdalena Jarosz¹, Anna Lipkowska¹,
Ewelina Frąckiewicz¹, Tadeusz Librowski¹, Mirosław Krośniak²**

¹Department of Radioligands, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University
Medical College, 9 Medyczna St., Cracow 30-688, Poland

²Department of Food Chemistry and Nutrition, Faculty of Pharmacy,
Jagiellonian University Medical College, 9 Medyczna St., Cracow 30-688,
Poland

Zinc is a trace element, with anti-inflammatory and gastroprotective activity [1]. A number of studies have proved beneficial effect of zinc supplementation in many diseases. The influence of zinc ions on the anti-inflammatory activity of ketoprofen was also investigated. The gastroprotective effect of zinc ions during ketoprofen administration was also proved [2]. The aim of this study was to investigate the influence of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on the anti-inflammatory activity of ketoprofen, also compared to standard form of zinc oxide. Experiments were carried out on male albino Wistar rats. Experimental groups were receiving ZnO-NPs (Sigma Aldrich, Germany) or zinc oxide (Galfarm, Polska) for 2 weeks in doses 7 mg/kg or 14 mg/kg, intraperitoneally (i.p.) or *per os* (*p.o.*). On the 15th day of the experiment rats were given ketoprofen in a doses 5 mg/kg, 10 mg/kg and 20 mg/kg, *per os*. After 1 hour from administration, in order to induce inflammation, the carrageenan-induced hind paw edema test was performed, according to the modified method of Winter and Lence [3]. The ulcerogenic effect were obtained according to Komatsu et al [4]. Research has confirmed the validity of the administration of ZnO-NPs during ketoprofen administration. ZnO-NPs, administered i.p. in a dose 14 mg/kg, in opposite to standard form of zinc oxide administered also i.p. in the same dose, influenced anti-inflammatory activity of ketoprofen. Both, ZnO-

NPs and standard form of zinc oxide, showed a gastroprotective activity during ketoprofen administration.

More research will be conducted to confirm obtained results. The level of zinc in rat's serum and organs will be investigated to evaluate zinc organ distribution during ZnO-NPs administration.

References

1. Prasad A.S., *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009, 12, 646-652.
2. Gawel M., Lipkowska A., Herman M., Golasik M., Piekoszewski W., Gomolka E., Schlegel-Zawadzka M., Opoka W., Nowak G., Librowski T., *Pharmacol Rep* 2014, 66, 862-866.
3. Lenèe P., *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1962, 136, 237-240.
4. Komatsu T., Awata H., Sakai Y., Inaba S., Yamamoto H., *Arzneimittelforschung* 1973, 23, 500-503.

Acknowledgments

This experimental work has been supported by the Jagiellonian University grant K/ZDS/004677.

OCENA POZIOMU WIEDZY STUDENTÓW NA TEMAT INTERAKCJI LEKÓW Z POŻYWIENIEM

**Natalia Pikor¹, Paulina Nowak¹, Dominika Dąbek¹,
Lucyna Bułaś²**

¹ Studenckie Koło Naukowe Zakładu Technologii Postaci Leku Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

² Opiekun koła Zakładu Technologii Postaci leku Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Wstęp: Racjonalna farmakoterapia uwzględnia wszystkie czynniki wpływające na powodzenie terapeutyczne. Skład diety może ulegać codziennym zmianom i w sposób istotny przyczynić się do powstania potencjalnych interakcji lek – żywność. Niektóre z tych interakcji są bardzo groźne, mogą prowadzić do zaburzeń rytmu serca, wzrostu ciśnienia, hipotonii ortostatycznej oraz alergii skórnej. Stwierdzono, że interakcje leków z pożywieniem mogą również wydłużyć czas leczenia a tym samym koszty hospitalizacji pacjenta. Interakcje leków z pożywieniem zależą od wielu czynników od: sposobu podania leku, postaci leku, środowiska, w którym lek zostanie wchłonięty i wielu innych. Na wchłanianie leku w ustroju wpływają różne przemiany biochemiczne jakim ulega w organizmie, wpływa to na aktywność metabolitów a tym samym skuteczność leczenia. Prawidłowy sposób odżywiania może poprawić stan zdrowia oraz zapobiec powstaniu interakcji pomiędzy lekiem a żywnością.

Cel: Poznanie wiedzy studentów na temat ich zwyczajów żywieniowych oraz interakcji leków z pożywieniem

Materiał i metodyka: Narzędziem badawczym była autorska, anonimowa ankieta skierowana do studentów różnych kierunków studiów. Ankieta zawierała 35 pytań w tym część ogólną dotyczącą respondentów oraz szczegółową związaną z ich zwyczajami żywieniowymi oraz wiedzą

na temat przyjmowania leków, suplementów diety i zachodzących pomiędzy nimi interakcjami. Ponadto podjęto próbę retrospektywnej analizy danych zawartych w literaturze dotyczących interakcji leków z pożywieniem w odniesieniu do wyników pozyskanych z ankiet.

Wyniki: Spośród 146 respondentów 119 (81,5%) stwierdziło, że są świadomi interakcji leków z pożywieniem. Jednak analiza udzielonych odpowiedzi z części szczegółowej ankiety dotyczącej nawyków żywieniowych, nie potwierdziła posiadania wiedzy na temat wpływu pożywienia na pojawienie się ewentualnych interakcji z lekami.

Wnioski: Należy dążyć do poszerzenia wiedzy społeczeństwa na temat wpływu pożywienia i suplementów diety na ewentualne interakcje z przyjmowanymi lekami. Zasadnym byłoby wykorzystanie w edukacji społeczeństwa, potencjału wiedzy farmaceutów zatrudnionych w aptekach. Pomocnym może być również zastosowanie prostych przekazów przez producentów leków umieszczanych na opakowaniach oraz w ulotkach np. w postaci piktogramów.

ZAWARTOŚĆ FIZJOLOGICZNIE AKTYWNYCH PIERWIASTKÓW W RÓŻNYCH CZĘŚCIACH OWOCNIKA I ODMIANACH *AGARICUS BISPORUS*

Joanna Piotrowska¹, Agata Kryczyk¹, Anna Gruba¹,
Włodzimierz Opoka¹, Bożena Muszyńska²

¹Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej,
Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

²Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Agaricus bisporus (J.E. Lange) Imbach (common mushroom) z rodziny *Agaricaceae* jest obecnie uprawiana w co najmniej siedemdziesięciu krajach na całym świecie. Do badań użyto owocniki wybranych grzybów jadalnych: *Agaricus bisporus* odmiany białej, portabello i brązowej pochodzenia komercyjnego. Zliofilizowane części owocników (skórki kapeluszy, kapelusze i trzonki) rozdrobniono w mrożdzierzu agatowym, a następnie poddano mineralizacji „na mokro” uzyskując bezbarwne, klarowne roztwory. W przygotowanych próbkach oznaczono zawartości sodu, magnezu, miedzi, żelaza i cynku przy użyciu metody absorpcyjnej oraz emisyjnej spektroskopii atomowej (AAS i EAS).

Celem pracy było ustalenie, która z odmian *A. bisporus* (biała, brązowa, portabello) ma większą wartość odżywczą i prozdrowotną. Ze względu na to, że konsumenci często zdejmują z owocników zewnętrzną część grzybni tzw. skórki kapelusza, kolejnym celem było ustalenie sensowności takiego działania przez oznaczenie zawartości biopierwiastków w poszczególnych częściach owocnika i w ten sposób wykazanie czy obieranie skórki z kapelusza jest uzasadnione z punktu widzenia zawartości prozdrowotnych składników mineralnych.

Analizę statystyczną uzyskanych danych wykonano testem One-way ANOVA z testem *post hoc* wielokrotnych porównań Tukey'a. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$ i $p < 0,01$. W wyniku oznaczeń wykazano, że owocniki *Agaricus bisporus* odmiany białej a następnie brązowej są najbogatsze w badane biopierwiastki i największe ich ilości gromadzą się w grzybni znajdującej się na zewnętrznej części owocnika, czyli tzw. skórcie kapelusza.

Piśmiennictwo

1. Kalbarczyk J., Radzki W., *Herba Pol* 2009, 55, 224-232.
2. Muszyńska B. i wsp., *J Food Sci Technol* 2015b, 52, 7337-7344.
3. Siwulski M., Sobieralski K., Sas-Golak I., *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2014, 1, 16-28.

**PASSIVE AVOIDANCE TASK AS A BEHAVIORAL TOOL USED
TO COMPARE SELECTED MODELS OF COGNITIVE
DECLINE IN MICE**

**Kinga Salat¹, Natalia Malikowska¹, Adrian Podkowa¹,
Didrik Steinskog^{1,2}, Noah John Poznanski^{1,2}, Barbara Malawska³**

¹Department of Pharmacodynamics, Jagiellonian University
Medical College, Cracow, Poland

²School of Medicine in English, Jagiellonian University
Medical College, Cracow, Poland

³Department of Physicochemical Drug Analysis,
Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland

Behavioral science is used to assess the influence of specified environments, conditions or drugs on behavior of people and animals. It is not always possible to perform experiments on wild-type subjects. If we need those presenting defined characteristics, we could induce changes by genetic modifications or administration of various compounds. It is an extremely important issue when we need to assess the effectiveness of tested compounds in pathological conditions. Because the process of learning and memory still remains not fully understood, it is hard to obtain appropriate transgenic models. An easier and more economic way to achieve this goal is to induce cognitive decline and amnesia using well-known chemical compounds.

In this study we assessed the efficiency of three mouse models of memory impairments using a fear-motivated test, i.e., the passive avoidance task. Behavioral experiments were performed in male Albino-Swiss mice. Since the role of muscarinic and NMDA (N-methyl-D-aspartate receptor) receptors in cognition is relatively well established, we decided to use their antagonists: scopolamine hydrobromide (a centrally and peripherally acting muscarinic antagonists), biperiden (a centrally acting muscarinic receptor antagonist) and phencyclidine (a non-competitive NMDA receptor antagonist). To

evaluate the lowest active dose, three specified concentrations of each drug were studied.

In the retention trial of passive avoidance test scopolamine (1 mg/kg; 5 mg/kg; 10 mg/kg) and phencyclidine (1 mg/kg; 3 mg/kg; 6 mg/kg) statistically significantly reduced the step-through latency ($p < 0.0001$). Biperiden used at two selected concentrations (1 mg/kg; 10 mg/kg) presented similar amnesic properties ($p < 0.01$).

To conclude, in our present research we proved that both selective and unselective muscarinic and NMDA receptor antagonists induce cognitive decline, impair contextual learning and attenuate memory retention. These paradigms are simple, repeatable and inexpensive when compared to transgenic models and enable a rapid assessment of the influence of pro-cognitive compounds on memory in rodents.

Acknowledgments

Financial support of this work from the Jagiellonian University grant K/ZDS/005546 is gratefully acknowledged.

POTENT AND SELECTIVE GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID TRANSPORTER SUBTYPE 1 INHIBITOR EVOKES SPATIAL MEMORY IMPAIRMENTS IN THE MORRIS WATER MAZE TASK IN MICE

**Kinga Salat¹, Adrian Podkowa¹, Natalia Malikowska¹,
Felix Kern², Jörg Pabel², Ewelina Wojcieszak¹,
Katarzyna Kulig³, Klaus T. Wanner²**

¹ Department of Pharmacodynamics, Faculty of Pharmacy,
Jagiellonian University, Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

²Department für Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung, Ludwig-
Maximilians-Universität München, Butenandtstr. 5-13,
D-81377 München, Germany

³Department of Physicochemical Drug Analysis, Chair of Pharmaceutical
Chemistry, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

Many anticonvulsant drugs acting *via* GABAergic system are known to produce memory impairments. For instance, benzodiazepines and barbiturates are burden with pronounced pro-amnesic effect. Yet, the newer data indicate that GABAergic agents may also improve memory in animal models: tiagabine, a selective GABA transporter isoform 1 (GAT-1) inhibitor with affinity for GAT-1 of 13 nM is used to treat partial seizures in humans. In our previous research this drug exerted a beneficial effect on spatial memory in C57BL/6 mice both in the Morris water maze (MWM) and radial-arm water maze¹. Based on this finding, the aim of this study was to assess the impact of a novel, more potent than tiagabine and highly selective GAT-1 inhibitor named DDPM-2571 (GAT-1 affinity of 5 nM) on spatial learning and memory in the MWM task.

The experiment was carried out on C57BL/6 mice according to the method previously described¹. Scopolamine hydrobromide administered intraperitoneally at a dose of 1 mg/kg was used as an inductor of amnesia.

The examined compound (administered alone at the dose of 5 mg/kg as well as at in the combination with scopolamine hydrobromide) induced significant cognitive decline, causing the prolongation of escape latency parameter when compared to the control group (i.e., mice treated with 0,9% saline solution).

The obtained results showed that strong and selective inhibition of GAT-1 transporter may lead to the occurrence of memory impairments. Based on our previous studies¹ it can be stated that GAT-1 inhibition may also cause beneficial effect on spatial memory in mice. Improved learning and memory in GAT1^{+/-} mice was also shown by Shi et al. This potential discrepancy suggests that the extent of GAT1 deficiency may be the key factor for modulating cognition, and only moderate reduction of GAT1 activity enhances learning and memory.² The distinct affinity of tiagabine and DDPM-2571 for GAT-1 can therefore explain the difference between the effects of these two compounds on cognition.

References

1. Sałat K., Podkowa A. et al., *Pharmacol Rep.* 2015, 67, 1155-62.
2. Shi J., Cai Y. et al., *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 2012, 44, 359-66.

Acknowledgments

Financial support of this work from the National Science Centre grant No. DEC-2012/05/B/NZ7/02705 is gratefully acknowledged.

OPRACOWANIE I OPTYMALIZACJA WARUNKÓW OZNACZANIA LUTEINY W SUPLEMENTACH DIETY

**Małgorzata Starek, Monika Dąbrowska, Bartosz Bubula,
Włodzimierz Opoka**

Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Luteina to organiczny związek chemiczny należący do ksantofili, barwników roślinnych z grupy karotenoidów, będący jednocześnie żółtym barwnikiem tkanek roślinnych. Występuje naturalnie w żółtku jaja, w szpinaku, pomidorach, dyni. Luteina jest substancją niezbędną w naszym organizmie. Musi być jednak dostarczana z zewnątrz. Przy słabo zbilansowanej diecie, ilość luteiny może być za mała, co może doprowadzić do AMD (zwyrodnienia plamki żółtej). Luteina ma za zadanie chronić oczy przed oksydantami oraz wysokoenergetycznym światłem niebieskim działając, jako naturalny filtr chroniący oko przed promieniowaniem UVA i UVB. Poza tym, że luteina chroni oczy, to wpływa także korzystnie na pamięć oraz skórę. Obecnie w obrocie aptecznym dostępnych jest ponad 50 suplementów diety proponowanych dla osób mających problemy ze wzrokiem, które powinny zawierać w swoim składzie odpowiednią dawkę luteiny. Ze względu na to, że deklarowana zawartość luteiny np. w kapsułkach nie zawsze jest zgodna ze stanem faktycznym, należy zwracać baczną uwagę na nowe suplementy diety, czy przed wprowadzeniem do obrotu sprawdzono skład jakościowy i ilościowy składników prozdrowotnych. Skomplikowana i złożona struktura, a zarazem ogromna różnorodność związków karotenoidowych nastęrcza problemy w opracowaniu metod ich analizy. Założeniem pracy było określenie warunków pozwalających na przeprowadzenie oznaczeń jakościowych oraz ilościowych luteiny w obecności substancji towarzyszących. W badaniach wykorzystano

techniki chromatografii cienkowarstwowej połączonej z detekcją densytometryczną oraz chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Badaniami objęto preparaty dostępne na rynku, zawierające w składzie luteinę w różnej zawartości, w zakresie od 6 do 30 mg/kapsułkę. Przeprowadzono optymalizację warunków oznaczania luteiny dla obu stosowanych metod. Zwalidowano metodę chromatograficzno-densytometryczną poprzez określenie zakresu liniowości, wyznaczenie granic wykrywalności i oznaczalności, uzyskując zadowalające parametry statystyczne opisujące precyzję i dokładność uzyskanych wyników. Na podstawie przeprowadzonych oznaczeń stwierdzono, że nie wszystkie przebadane suplementy diety zawierały deklarowaną przez producenta zawartość luteiny.

Piśmiennictwo

1. Handelman G.J., *Nutrition* 2001, 17, 818-822.
2. Ribaya-Mercado J.D., Blumberg J.B., *J. Am. Coll. Nutr.* 2004, 23, 567-587.
3. Rodriguez-Amaja D.B., *J. Food Composition & Anal.* 2010, 23, 726-740.
4. Oliver J., Palou A., *J. Chromatogr.* 2000, 881, 543-555.

BEHAVIOURAL PHENOTYPE IN THE GPR39 ZINC RECEPTOR KNOCKOUT MICE

Gabriela Starowicz, Katarzyna Młyniec

Department of Pharmacobiology, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Krakow, Poland

GPR39 receptor was recently recognised as zinc receptor which is widely expressed in gastrointestinal tract, kidneys and brain [1]. GPR39 knockout animals show depressive-like behaviour in both the forced swim test and the tail suspension test [2]. In this study we investigated GPR39 knockout (GPR39 $-/-$), heterozygous (GPR39 $+/-$) and wild type (GPR39 $+/+$) mice in the sucrose preference test, which is commonly used to assess anhedonia. The intake of 2% sucrose solution was measured for 7 days. There were no significant changes of sucrose consumption in both knockout and heterozygous mice, when compared with wild type control. Despite previously observed depressive-like behaviour in mice lacking GPR39, presented results did not show anhedonia in these mice. This may be explained as the effect of altered glucose metabolism in tested animals. The lack of GPR39 receptor is associated with pancreas dysfunction and insulin release, which may be a disturbing factor in the sucrose preference test [3]. Nevertheless, based on our previous results, GPR39 zinc receptor seems to be involved in the pathophysiology of depression and in antidepressant mechanism of action.

References

1. Holst B. et al., *Endocrinology* 2007, 148, 13-20.
2. Młyniec K., Budziszewska B., Holst B., Ostachowicz B., Nowak G., *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014, 18(3).

CHEMICAL ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS FROM MYCELIAL CULTURE OF ARBOREAL FUNGI

**Katarzyna Sulowska-Ziaja, Aleksandra Laszczak,
Bożena Muszyńska**

Department of Pharmaceutical Botany Jagiellonian University
Medical College, 9 Medyczna St., 30-688 Cracow, Poland

Fruiting bodies of higher fungi are a rich source of compounds with multidirectional therapeutic effect.

Convenient alternative for production of biomass from medicinal mushrooms and their active metabolites are mycelial cultures [1].

The aim of the study was chemical analysis of biomass from mycelial culture for the content of biologically active compounds.

Mycelial cultures of four representatives of arboreal fungi were *Ganoderma applanatum*, *Laetiporus sulphureus*, *Piptoporus betulinus*, *Trametes versicolor* established from fruiting bodies derived from natural states. The submerged cultures was maintained on Oddoux medium at T=22°C and at pH=5 during 3 weeks [2]. The content of three group of secondary metabolites (phenolic acids, sterols and indole derivatives) with biological significance was determined in the extracts using RP-HPLC method with UV detection.

Based on the chemical analysis three sterols: ergosterol peroxide, ergosterol and α -tocopherol, three phenolic acids: gallic acid, protocatechuic, *p*-hydroxybenzoic, and five of indole compounds: L-tryptophan, 5-OH-tryptophan, serotonin, melatonin, tryptamine were determined. The total content of sterols ranged from 48.4 (*T. versicolor*) to 201.77 mg/100g d.w. (*L. sulphureus*). The content of phenolic acids ranged between 2.69 (*G. applanatum*) and 17.59 mg/100g d.w. (*P. betulinus*). The total content of indole compounds

ranged from 3.11 (*G. applanatum*) to 19.96 mg/100g d.w. (*P. betulinus*).

References

1. Sułkowska-Ziaja K., Ekiert H., Muszyńska B., *Farmacja Polska* 2011, 67, 433-440.
2. Oddoux, L., *Imprimerie de Trevoux*, Lyon 1957.

**ANALYSIS OF CHANGES IN THE CONCENTRATION OF
SELECTED PANEL OF PROTEINS DURING THE TUMOR
DEVELOPMENT IN MURINE MODEL OF METASTATIC
BREAST CANCER**

**Joanna Suraj^{1,2}, Anna Kurpińska¹, Stefan Chlopicki^{1,3},
Maria Walczak^{1,2}**

¹Jagiellonian Centre for Experimental Therapeutics (JCET),
Jagiellonian University, Bobrzynskiego 14, 30-348, Cracow, Poland

²Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688, Cracow, Poland

³Chair of Pharmacology, Jagiellonian University Medical College,
Grzegorzeczka 16, 31-531, Krakow, Poland

Metastases are now the leading cause of death in cancer patients all over the world. Effective treatment of cancer metastasis is still out of reach because of insufficient knowledge of the mechanisms involved in the development of the disease. Numerous studies have been conducted on different mouse models of cancer in order to more precisely understand the reason of cancer development and formation of metastases.

The aim of the study was to understand the changes taking place in murine 4T1 model of metastatic breast cancer at various stages of disease development. In our research different types of analyses were performed *e.g.* haematological analysis, measurements of weight of specific organs (*e.g.* lungs, liver, and spleen), tumors and analysis of metastases number in lungs. The key part of the study was to determine the profile of protein biomarkers of endothelial dysfunction in mouse plasma using LC/MS-MRM method [1,2].

The severity of the disease has been reflected in analysed biomarkers. The main results allow us to divide the proteins due to their potential, biological importance in the development of breast cancer. Moreover, different changes in the concentration of selected blood parameters *e.g.*

lymphocytes, granulocytes, weight of investigated organs and number of metastases in lungs during the cancer development were observed.

Due to the complexity of pathophysiology of the diseases, involving many mediators, more reasonable solution would be to apply the multi-protein panel instead of one biomarker. We assume that a comprehensive assessment of the profile of selected biomarkers using biomarker-oriented methodology appears to be a future for efficient disease diagnosis and prognosis.

References

1. Domański D., Percy A.J. et al., *Proteomics* 2012, 12, 1222-43.
2. Percy A.J., Chambers A.G. et al., *J Proteomics* 2013, 95, 66–76.

Acknowledgments

The research was carried out within the project METENDOPHA (a grant coordinated by JCET–UJ, No STRATEGMED 1/233226/11/ NCBR/2015).

WPLYW SYLIMARYNY NA WSPÓŁCZYNNIK EKSTRAKCJI WĄTROBOWEJ WALSARTANU

**Małgorzata Szafarz, Paulina Siembak-Majewska,
Elżbieta Wyska**

Zakład Farmakokinetyki i Farmacji Fizycznej,
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Walsartan jest lekiem należącym do antagonistów receptora AT1 dla angiotenzyny II stosowanym w leczeniu nadciśnienia, natomiast korzystne właściwości sylimaryny zarówno biologiczne, jak i farmakologiczne doceniane są od wielu lat, a do najważniejszych z nich można zaliczyć aktywność antyoksydacyjną, stymulację syntezy białek oraz regenerację komórek. Ponieważ zarówno walsartan, jak i sylimaryna są eliminowane z organizmu przede wszystkim na drodze klirensu wątrobowego, a w ich transport aktywny zaangażowane są te same białka błonowe istnieje ryzyko występowania między tymi preparatami interakcji farmakokinetycznej [1,2].

Badanie interakcji prowadzono z wykorzystaniem modelu izolowanej perfundowanej wątroby szczura (IPRL). W pierwszym etapie opracowano metodę analityczną oznaczania walsartanu w buforze KHB wykorzystywanym jako medium perfuzyjne. Próbkę oczyszczano przez deproteinizację, a oznaczenia ilościowe prowadzono stosując technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej z tandemową spektrometrią mas (LC/ESI-MS/MS). Rozdział prowadzono na kolumnie chromatograficznej XBridge C18 5 μ M, 3x50mm (Waters, Irlandia) jako fazę ruchomą stosując mieszaninę acetonitrylu i wody. Metoda została zwalidowana zgodnie z wytycznymi FDA i EMA. Wartości współczynnika zmienności wahały się pomiędzy 1,99-13,29% w jednym dniu oraz 2,25-10,1% w różnych dniach, a dokładność pomiędzy 95,31-104,31% w jednym dniu i 93,66-109,98% w różnych dniach. Opracowana

metoda analityczna została wykorzystana do wyznaczenia parametrów farmakokinetycznych walsartanu. W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano istnienie interakcji na poziomie eliminacji wątrobowej pomiędzy walsartanem, a sylimaryną, której prawdopodobną przyczyną jest hamowanie przez sylimarynę zarówno transporterów typu „uptake” (OATP1B1, OATP1B3), jak i „efflux” (P-gp, MRP2) biorących udział w eliminacji wątrobowej walsartanu. Eksperymenty przeprowadzono dla trzech dawek sylimaryny 2,5; 5 oraz 10 mg i zaobserwowano proporcjonalny do dawki spadek wartości klirensu (2.06 vs 0.24 mL/min/g_{wątroby} w przypadku najwyższej dawki sylimaryny) oraz współczynnika ekstrakcji wątrobowej walsartanu (86% vs 7.5%), a także wzrost jego biologicznego okresu półtrwania (z 6 do 72 min). W celu dokładniejszego określenia udziału poszczególnych transporterów w badanej interakcji przeprowadzono dodatkowe eksperymenty ze specyficznymi inhibitorami transporterów P-gp (zosuquidar), MRP2 (związek MK571) oraz OATP1B1 (estropipat). Zaobserwowano, że największy udział w interakcji ma hamowanie przez sylimarynę transporterów P-gp oraz MRP2.

Piśmiennictwo

1. Yamashiro W. et al., *Drug Metabolism and Disposition* 2006, 34, 1247-1254.
2. Wu J.W., Lin L.C., Tsai T.H., *Journal of Ethnopharmacology* 2009, 121, 185-193.

ŹRÓDŁA WÓD MINERALNYCH W MAŁOPOLSCE NIEDOCENIONYM BOGACTWEM

Małgorzata Schlegel-Zawadzka, Ewa Błaszczuk-Bębenek

Zakład Żywienia Człowieka, Instytut Zdrowia Publicznego,
Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum,
ul. Grzegórzecka 20, 31-531 Kraków, Polska

Małopolska ze swoim bogactwem wód naturalnych jest niepowtarzalnym regionem w Europie. Wody mineralne, czyli wody podziemne są pozyskiwane z naturalnych ujęć lub odwiertów. Wody te charakteryzują się czystością mikrobiologiczną i stabilnym składem pod względem zawartości składników mineralnych, wykazujących działanie fizjologiczne, a w określonych przypadkach także właściwościami leczniczymi, które wpływają korzystnie na zdrowie człowieka. Główny Inspektor Sanitarny co roku podaje wykaz wód uznając je jako naturalne wody mineralne. W roku 2014 w Małopolsce zarejestrowano 36 produktów (33,3% w stosunku do ogólnej liczby 108), natomiast w kolejnym 2015 roku ich ilość wzrosła do 38, co stanowiło 33,6% spośród 113 wód.

Biorąc pod uwagę zwyczaje żywieniowe Polaków w różnych regionach Polski i dostępność do źródeł wody mineralnej można stwierdzić, że picie 1,5 L wody mineralnej w ciągu dnia może spełnić zalecenia żywieniowe na zapotrzebowanie w składniki mineralne dla organizmu człowieka.

Piśmiennictwo

1. Załącznik do obwieszczenia Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 8 kwietnia 2015 r. (poz. 594) w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia – USTAWA z dnia 25 sierpnia 2006 r.

HEALTH BENEFITS OF HERBAL SPICES - KNOWLEDGE AND USE OF SPICES BY ADULTS

**Małgorzata Schlegel-Zawadzka, Kinga Żyła,
Ewa Błaszczyk-Bębenek, Jaśmina Żwirska**

Department of Human Nutrition. Institute of Public Health,
Faculty of Health Sciences, Jagiellonian University Medical College
20 Grzegorzeczka St., 31-531 Cracow, Poland

In today's spices play a very important role in everyday meals. Except traditional mix of spices it is also possible to name herbal spices as well as spices of root or vegetable origin. Spices may occur in several forms: whole or ground parts of plants, its mixtures, extracts and microcapsule spice substances. They may positive or negative influence on human health. It was pointed that using spices in therapy must be preceded by an appropriate research because some spices or, to be more exact, some substances in spices may have allergic side effects. It may be caused by allergen that is included in a particular spice or after interaction with other plants' allergens. Herbal medicine is an increasingly popular method for natural health improvement by increasing flex more informed consumers.

The aim of the study was to evaluate the consumers' behaviour in the spices market and assess their awareness about medicinal properties of substances occurring in them.

The questionnaire research was conducted in a group consisted of 97 respondents aged 19-58 years (27.44 ± 7.24 years, students (40) – 21.53 ± 2.32 years (19-26 years), workers (57) – 32.60 ± 6.60 years (24-58 years). Respondents came from the South Poland. The statistical analysis was stated as significant at the $\alpha=0.05$. Respondents were aware about their possibility to not taking part in examination.

Results. There was no difference between groups according to gender and cooking skills ($p>0.05$). Consumers choosing spices paid most

attention to taste, smell and manufacturer and the smallest importance to advertising, packaging and consistency. They, out of 29 most popular spices, indicated oregano, basil, sweet paprika, black pepper and ketchup. The least popular were caraway, juniper, white mustard, tarragon and savoury. The group of workers more frequently bought spices (twice a month, $p<0.0212$), spent more money for buying them ($p=0.0192$) and used them twice a day ($p=0.0339$) in comparison to students (responsible – a little less than twice a month; less money; once a day). 51% of consumers recognized that herbal spices have healing properties. They recognised as healing herbs garlic and ginger.

It was found that: 1. Age (students versus staff) have little impact on consciously choose spices selection. 2. Only half of examined group was aware of health-promoting properties of herbal spices. 3. According to the respondents, commonly known spices with healing properties are garlic and ginger.

References

1. Makala H., *Przemysł Spożywczy* 2010, 64, 32-35.
2. Słowianek M., Leszczyńska J., *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2011, 3, 15-28.

COMPOUND ODONTOMA - A CASE REPORT

**Teresa Szupiany-Janeczek¹, Pawel Novak²,
Jolanta Pytko-Polończyk¹**

¹Department of Integrated Dentistry, Jagiellonian University
Medical College, Montelupich 4, 30-155 Cracow

²Central Ambulatory, University Dental Clinic,
Montelupich 4, 30-155 Cracow

22 years old patient came to University Dental Clinic in Cracow because of a strong pain located around upper right molars. Orthopantomogram was taken that revealed large cavity in 16 but it also showed high density structure around tooth 13 that needed to be further evaluated.

Periapical X-ray suggested possible odontoma tumor in this area. Patient was sent for CBCT. Tooth 16 was non vital and causing the pain and therefore endodontic treatment was performed.

CBCT scan revealed a tumor, size of 10mm to 15mm, appearing as well delimited lesions with a radiotransparent halo containing radiodense zones which represented small denticles on the palatal side of tooth 13. Tumor was in contact with canine's root. Vitality test was positive for 13.

Surgical approach was designed with the use of 3D imaging. Surgical procedure was performed from palatal access and seven tooth-like structures were removed. Control visits showed proper healing and patient reported no pain or discomfort. After 3 weeks tooth 13 remained vital but further tests and check-ups are required. Histopathological test confirmed initial diagnosis – Compound Odontoma.

Any abnormalities found on routine X-rays need to be further evaluated. Use of modern imaging techniques allows clinicians to achieve right diagnosis and treatment planning, including surgical access and helps to avoid additional complications.

References

1. Pacifici A., Carbone D., Marini R., Pacifici L., *Case Rep Dent.* 2015, 902618 – e-pub.
2. Nelson B.L., Thompson L.D.R., *Head Neck Pathol* 2010, 4, 290-291.
3. Gedric R., Muftuoglu S., *West Indian Med J.* 2014, 67, 793-795.

**LIQUID CHROMATOGRAPHY/TANDEM MASS
SPECTROMETRY METHOD FOR ASSESSMENT THE
ADHERENCE TO ANTIHYPERTENSIVE THERAPY**

**Maria Walczak¹, Francesca Bottaro^{1,2}, Caroline Muscat^{1,3},
Magdalena Smolik¹, Agnieszka Parnicka⁴,
Malgorzata Fedyk-Łukasik⁴, Tomasz Grodzicki⁴**

¹ Chair and Department of Toxicology, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

² Department of Life Sciences and Biotechnology,
Ferrara University, via Savonarola 9, 44121, Ferrara, Italy

³ Department of Pharmacy, University of Malta, Msida, Malta

⁴ Department of General Medicine and Geriatrics, Sniadeckich 10,
31-351 Cracow, Poland

Cardiovascular disorders represent the highest burden of diseases globally. In the last decade, increased incidence of hypertension is observed. For this reason adherence to antihypertensive therapy is critical to achieve an adequate blood pressure control. Non-adherence has important public health and economic implications (numbers of visits, diagnostic procedures, prescribed drugs) and, moreover, it results in increased morbidity and mortality rates. Therapeutic drug monitoring (TDM), characterized by drug (or metabolites) concentration measurement in body fluids (blood or urine), is a cost-effective direct method to assess therapeutic adherence. TDM can be a new alternative method to identify patients with resistant hypertension, improving the achievement of blood pressure control.

A method for rapid simultaneous analysis of 15 cardiovascular drugs in human plasma using LC/MS/MS in positive or negative ionization was developed. The following drugs were selected for the study: amiodarone, bisoprolol, carvedilol, digoxin, eplerenone, furosemide, ivabradine, lisinopril, metoprolol, nebivolol, perindopril, ramipril, spironolactone, torasemide and zofenopril. The method was validated for LOD, LOQ,

linearity, precision, accuracy, matrix effect, and stability and extraction recovery according to EMA requirements. The method was rapid with LOD of 1 ng/mL, linearity range 10-500 ng/mL and RSD value below 15%. Extraction recoveries of the analytes from the samples were greater than 95%. Results showed that the method allows for simultaneous quantitative determination of the selected drugs in human plasma by LC/MS/MS. Finally, the method was used to determine the plasma concentration of drugs to identify patients with resistant hypertension, improving the achievement of blood pressure control and presents a potential cost-effective healthcare intervention in patients diagnosed with resistant hypertension. Importantly, this finding is valid for a wide range of patients, independent of sex and age. Moreover, the method could be successfully applied for screening analyses in clinical cases other than TDM.

References

1. Chung O., Vongpatanasin W., Bonaventura K., Lotan Y., Sohns C., Haverkamp W., Dorenkamp M., *J Hypertens.* 2014, 32, 2411-21.
2. Li S., Liu G., Jia J., Liu Y., Pan C., Yu C., Cai Y., Ren J., *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007 1, 847, 174-81.

Acknowledgments

This work was supported by project K/ZDS/006223.

THE EFFECT OF PENTOXIFYLLINE AND LISOFYLLINE ON TGF-B INDUCED FIBROBLASTS TO MYOFIBROBLASTS TRANSITION IN BRONCHIAL ASTHMA

**Katarzyna Wójcik-Pszczola^{1,2}, Kinga Hińcza¹, Dawid Wnuk¹,
Paulina Koczurkiewicz², Zbigniew Madeja¹, Elżbieta Pękala²,
Marta Michalik¹**

¹Department of Cell Biology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Gronostajowa 7, Cracow, Poland

²Department of Pharmaceutical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College, Medyczna 9, Cracow, Poland

Bronchial asthma is one of the most common chronic lung diseases. It is considered to be an inflammatory disease, but it is widely known that chronic inflammation leads to irreversible changes in the structure of the bronchi, named bronchial wall remodeling. This complex phenomenon involves many cell types and growth factors including transforming growth factor β (TGF- β) induced fibroblast-to-myofibroblast transition (FMT).

Methylxanthines are one of the groups of bronchodilating and anti-inflammatory drugs used in the treatment of asthma. In the recent years there are reports indicating that theophylline (THEO) and pentoxifylline (PTX) may act as anti-fibrotic agents. Following these facts, the aim of this study was to examine whether selected methylxanthines can affect TGF- β -induced FMT. In the study PTX active metabolite – lisofylline (LSF) has also been used.

All experiments were carried out in human bronchial fibroblasts (HBFs) derived from patients with diagnosed asthma. THEO, PTX and LSF were able to decrease TGF- β -induced HBFs transition into myofibroblasts in a dose dependent manner. PTX proved to be the most potent inhibitory methylxanthine. The number of differentiated myofibroblasts after PTX, LSF and THEO administration was reduced at least twofold. The observed limitation of myofibroblast phenotype in each

cell population was accompanied by impaired p-Smad-2 translocation to the nucleus.

The obtained data opens a new perspective in the searching for new properties and applications of the compounds with already defined activity. Studies of methylxanthines derivatives may be important in the development of new anti-fibrotic strategies in asthma therapy.

**NEW ANALOGS OF THE COMPOUND HC-030031 AS
POTENTIAL ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY
STRUCTURES**

**Małgorzata Zygmunt¹, Grażyna Chłoń-Rzepa²,
Marek Bednarski¹, Magdalena Kotańska¹,
Leszek Nowiński¹, Jacek Sapa¹**

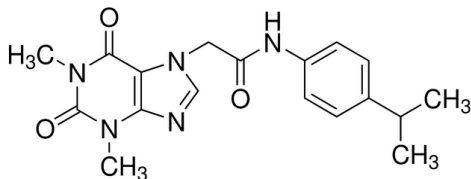
¹Department of Pharmacological Screening, Chair of Pharmacodynamics,
Jagiellonian University Medical College,
Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

²Department of Medicinal Chemistry, Jagiellonian University
Medical College, Medyczna 9, 30-688 Cracow, Poland

Despite numerous drugs used in pain pharmacotherapy, their clinical efficacy is sometimes insufficient in case of some pain states. The rapid development of their analgesic activity tolerance, and moreover numerous side effects, phenomenon of drug dependence, tend to look for new medicines, with a particular emphasizes put on other than previously mechanisms of activity.

The studies conducted in many research centers are focused, among others, on the search for new, analgesically and/or anti-inflammatory active structures affecting ion channel TRPA1 (*Transient Receptor Potential Ankyrin 1*), and more specifically, the main receptor of ion channels of the nociceptive system, which can play an important role in pain, inflammation states, in neuropathic pain and is subject to stimulation with low temperature, allicin, carrageenan, formalin and numerous irritating compounds like for example allyl isothiocyanate (AITC), and additionally they activate endogenous inflammatory mediators in inflammation states.

Selective antagonist of these channels is for example HC 030031 (2-(1,3-dimethyl-2,6-dioxo-4,5-dihydropurin-7-yl)-N-(4-izopropylphenyl)-acetamide).



Chemical structure of compound HC-030031

The aim of this project was to obtain new acid hydrazide derivatives 8-alkoxy-1,3-dimethyl-purine-2,6-dioxo-alkyl groups, which are structural analogs of the compound HC 030031. These compounds showed a significant (superior to acetylsalicylic acid and ketoprofen), an analgesic and inflammatory effects *in vivo* tests: in the formalin test (second phase, value ED₅₀ from 5.3 to 11 mg/kg) and in the carrageenan-induced edema (reduced the edema in the range 37%-48%), in AITC-induced pain, in which play an important role TRPA1 channel. The activity of test compounds can indicate their properties antagonize TRPA1 channel. Further research is planned, evaluating the effect of pharmacologically active compounds on the TRPA1 channels.

References

1. Kolesnikov Y., Cristea M., Oksman G., Torosjan A., Wilson R., *Brain Res* 2004, 1029, 217-223.
2. Sałat K., Filipek B., *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015, 16, 167-78.
3. Zygmunt M., Żmudzki P., Chłoń-Rzepa G., Sapa J., Pawłowski M., *Lett. Drug Des. Discov.* 2014, 11, 1204-1213.
4. Zygmunt M., Chłoń-Rzepa G., Sapa J., Pawłowski M., *Pharmacol. Rep.* 2015, 67, 9-16.

HOPES AND FEARS USING NANOTECHNOLOGY TO IMPROVE HEALTH QUALITY OF FOOD

**Małgorzata Schlegel-Zawadzka, Alicja Kasza, Ewa Błaszczyk-
Bębenek**

Department of Human Nutrition, Institute of Public Health, Faculty of Health Sciences, Jagiellonian University Medical College, 20 Grzegórzecka St., 31-531 Cracow, Poland

Health quality of food is a concept defining the health benefits of food. It includes the nutritional value of the product that is determined by the composition of nutrients and harmless resulting from the fact that the presence and content of the foreign matter is not a threat to human health. From the consumer point of view, in turn, a significant role play sensory qualities of food, which are reflected in his preferences, acceptance and final choice of what he will be eating.

Nanotechnology is an interdisciplinary field of science that enables the production of objects of nanometric size. Nanoparticles have properties that make that can be used in pharmacy, medicine, food industry, electronics and agriculture in the defence industry. Unfortunately, the use of nanotechnology faces various restrictions.

Nanoparticles are objects of which at least one dimension is in the range of 0.1 to 100 nm. They have physicochemical properties, such as particles in the macro scale and also gain many of the original characteristics due to its dimension. The size of nano-objects allows them penetration by the majority of barriers, including those at the bio-organically level.

The use of nanotechnology in food production is a new business direction. In financial terms, the implementation of new production procedures in the field of industry is much slower than in medicine or pharmacy. Current researches are focused on the possibility of reducing the use of preservatives, salts, fats and surfactants in food products, and

the development of new flavours and textures using raw materials in the nano scale. Quality control of food products can be carried out by biosensors. They identify foreign proteins, metabolites, DNA, biological and chemical contaminations. They are used in packaging, which recognize on the chemical compounds of food spoilage.

Despite the many advantages of using, nanomaterials may be associated with the occurrence of certain health complications. This is due to the fact that such small particles can penetrate the respiratory tract into the body, through the intestinal epithelium to penetrate bloodstream, accumulate there and cause various diseases.

In order to protect consumers, the European Union has issued a number of laws on the production of novel foods with modified ingredients at the nano level and regulating the introduction of such products on the market.

TABLE OF CONTENTS

SPONSORS	5
LETTER FROM VICE-RECTOR OF THE JAGIELLONIAN UNIVERSITY FOR THE MEDICAL COLLEGE	8
LETTER FROM DEAN OF THE FACULTY OF PHARMACY JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE.....	10
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY PAS	11
REGIONAL PHARMACEUTICAL CHAMBER IN CRACOW ACTIVE YESTERDAY, ACTIVE TODAY	14
OGÓLNOPOLSKA SEKCJA ds. SFALSZOWANYCH LEKÓW I PRODUKTÓW LECZNICZYCH PRZY ZARZĄDZIE GŁÓWNYM PTFarm	16
Zbigniew Fijałek, Włodzimierz Opoka	
FRAGMENT WIDOKU NA GÓRY Z POPRADU.....	19
PROGRAMME	20
PRZESTĘPCZOŚĆ FARMACEUTYCZNA – GLOBALNY PROBLEM XXI WIEKU	22
Zbigniew Fijałek	
SMALL FIBERS BUT SOMETIMES A BIG PROBLEM: SMALL FIBER NEUROPATHY – ROLE OF SKIN BIOPSY IN THE DIAGNOSIS	24
Dariusz Adamek	
NEUROCHEMICAL AND BEHAVIORAL STUDIES ON THE 5-HT _{1A} -DEPENDENT ANTIPSYCHOTIC ACTION OF THE MGLU4 RECEPTOR AGONIST LSP4-2022	25
Monika Woźniak, Krystyna Gołembowska, Karolina Noworyta-Sokołowska, Paulina Cieślik, Magdalena Kusek, Krzysztof Tokarski, Joanna M. Wierońska, Andrzej Pilc	
THE IMPORTANCE OF PREVENTIVE MEDICINE IN THE CONTEXT OF RECENT RESEARCH ON CHRONIC DISEASES	26
Gerhard Mikolaiczik	
ZINC, HYPERFORIN AND THE ROLE OF GLUTAMATE SYSTEM IN THEIR ANTIDEPRESSANT ACTIVITY	28

Gabriel Nowak, Bartłomiej Pochwat, Bernadeta Szewczyk

FARMAKOKINETYKA NOWYCH
7-ARYLOPIPERAZYNYLOALKILOWYCH POCHODNYCH
PURYNO-2,6-DIONU PO PODANIU DOŻOŁĄDKOWYM
U SZCZURA.....30

Agnieszka Cios, Marlena Gocalińska, Elżbieta Wyska, Grażyna Chłoń-
Rzepa

OPRACOWANIE I WALIDACJA METODY OZNACZANIA STĘŻEŃ
NOWYCH 7-ARYLOPIPERAZYNYLOALKILOWYCH
POCHODNYCH PURYNO-2,6-DIONU METODĄ
WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ
Z DETEKcją UV.....32

Agnieszka Cios, Marlena Gocalińska, Elżbieta Wyska, Grażyna Chłoń-
Rzepa

AN IMPORTANT POTENTIAL ROLE OF THE MGLUR5
RECEPTOR IN THE PATHOGENESIS OF DEPRESSION.....34

Ewelina Frąckiewicz, Magdalena Jarosz, Anna Lipkowska, Magdalena
Olbert, Tadeusz Librowski

AMBIVALENT EFFECTS OF MANGANESE IN THE SUBACUTE
EXPOSURE COMBINED WITH ETHANOL IN THE MODEL OF
PROTECTIVE ACTIVITY OF RESVERATROL
AND QUERCETIN IN RATS36

Maciej Gawlik, Małgorzata Gawlik

PRELIMINARY STUDY OF THREE-DIMENSIONAL TOOTH
MODEL RECONSTRUCTION FROM VOLUMETRIC IMAGE OF
PORCINE MANDIBLE OBTAINED BY CONE BEAM CT WITH
MICRO-CT VALIDATION38

Piotr Grad, Jakub Kamiński, Maciej Śniechowski, Jolanta Pytko-
Polończyk

ANALYSIS OF ANTI-INFLAMMATORY POTENTIAL OF
CANTHARELLUS CIBARUS EXTRACTS FROM FRUITING
BODIES AND *IN VITRO* CULTURES IN LPS ACTIVATED CELL
MODELS40

Agata Grzywacz, Michał Owca, Joanna Gdula-Argasińska, Bożena
Muszyńska

KOMERCYJNE PRODUKTY ZAWIERAJĄCE <i>ARTROSPHIRA SP. (SPIRULINA)</i> JAKO ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH	42
Patrycja Hałaszk, Aleksandra Rzewińska, Barbara Jękot, Aleksandra Szymik, Jacek Rojowski, Agnieszka Szewczyk, Włodzimierz Opoka, Bożena Muszyńska	
KWASY FENOLOWE OZNACZONE W EKSTRAKTACH Z BIOMASY Z KULTUR <i>IN VITRO BACOPA MONNIERI</i>	44
Patrycja Hałaszk, Aleksandra Rzewińska, Maciej Łojewski, Bożena Muszyńska	
OPRACOWANIE I WALIDACJA METODY RP-HPLC DO OZNACZANIA WITAMIN K ORAZ D ₃	46
Urszula Hubicka, Katarzyna Mytnik, Joanna Piwowarczyk, Agata Kryczyk	
PATHOLOGICAL TOOTH WEAR AMONG MOUTH PAINTING ARTISTS WITH DISABILITIES	48
Anna Jakubik, Anna Przeklasa-Bierowiec, Katarzyna Szczeklik, Jolanta Pytko-Polończyk	
TARGETED PROFILING OF EICOSANOIDS IN THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MICE MODELS APPLYING UPLC/MS/MS TECHNIQUE	50
Agnieszka Kij, Kamil Kuś, Agnieszka Zakrzewska, Bartosz Proniewski, Joanna Wietrzyk, Maria Walczak, Stefan Chłopicki	
NATURAL COMPONENT OF DIET - <i>IN VITRO</i> CULTURE OF <i>AGARICUS BISPORUS</i> UNDER CONTROLLED CONDITIONS	52
Agata Krakowska, Bożena Muszyńska, Włodzimierz Opoka, Witold Reczyński, Bogusław Baś	
THE CONTENT OF INDOLE COMPOUNDS IN BIOMASS OF <i>AGARIUS BISPORUS</i> AND <i>BOLETUS BADIUS</i> FROM CULTURE <i>IN VITRO</i> ENRICHED IN THEIR PRECURSORS	54
Remigiusz Krężałek, Konrad Dobosz, Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Katarzyna Kała, Anna Maślanka, Agata Krakowska, Bożena Muszyńska	
OCENA ZDOLNOŚCI DO REMEDIACJI KADMU I OŁOWIU PRZEZ MYCELIA Z KULTUR <i>IN VITRO</i>	56
Agata Kryczyk, Joanna Piotrowska, Magdalena Sito, Włodzimierz Opoka, Bożena Muszyńska	

PROTEOMIC ANALYSIS OF FORMATION OF PREMETASTATIC NICHE IN LUNGS IN THE COURSE OF MURINE 4T1 ADRENOCARCINOMA.....	58
Anna Kurpińska, Joanna Suraj, Emilia Bonar, Agnieszka Zakrzewska, Magdalena Sternak, Maria Walczak	
ANTINOCICEPTIVE PROPERTIES OF XANTHONE-ZINC DERIVATIVES.....	60
Anna Lipkowska, Tadeusz Librowski	
CAPILLARY ELECTROPHORESIS FRONTAL ANALYSIS (CE/FA) METHOD FOR THE STUDY OF INTERACTIONS OF DOXORUBICIN WITH BOVINE SERUM ALBUMIN.....	62
Karolina Matyjaszczyk, Anna Gonciarz-Dytman, Irena Oszczapowicz, Małgorzata Łukawska, Stefan Chłopicki, Maria Walczak	
INTRAEPIDERMAL NERVE FIBERS DENSITY IN VULVAR LICHEN SCLEROSUS AND NORMAL VULVAR TISSUES AND ITS CORRELATION WITH CLINICOPATHOLOGICAL FINDINGS.....	64
Katarzyna Milian-Ciesielska, Grzegorz Dyduch, Edyta Radwańska, Mateusz Kaczmarczyk, Jarosław Jarczewski, Dariusz Adamek	
ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW INDOLOWYCH W POSZCZEGÓLNYCH ODMIANACH I CZĘŚCIACH OWOCNIKÓW PIECZARKI DWUZARODNIKOWEJ.....	66
Bożena Muszyńska, Katarzyna Kała, Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Michał Furtak, Agata Grzywacz, Joanna Piotrowska	
GRZYBY JADALNE JAKO ŹRÓDŁO SUBSTANCJI O DZIAŁANIU PRZECIWSTRZENIOWYM.....	68
Bożena Muszyńska, Aleksandra Rzewińska, Patrycja Hałaszk, Katarzyna Kała	
THE INFLUENCE OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES, COMPARED TO STANDARD ZINC OXIDE, ON THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF KETOPROFEN.....	71
Magdalena Olbert, Magdalena Jarosz, Anna Lipkowska, Ewelina Frąckiewicz, Tadeusz Librowski, Mirosław Krośniak	
OCENA POZIOMU WIEDZY STUDENTÓW NA TEMAT INTERAKCJI LEKÓW Z POŻYWIENIEM.....	73

Natalia Pikor, Paulina Nowak, Dominika Dąbek, Lucyna Bułaś

ZAWARTOŚĆ FIZJOLOGICZNIE AKTYWNYCH PIERWIASTKÓW
W RÓŻNYCH CZĘŚCIACH OWOCNIKA
I ODMIANACH *AGARICUS BISPORUS*75

Joanna Piotrowska, Agata Kryczyk, Anna Gruba, Włodzimierz Opoka,
Bożena Muszyńska

PASSIVE AVOIDANCE TASK AS A BEHAVIORAL TOOL USED
TO COMPARE SELECTED MODELS OF COGNITIVE DECLINE IN
MICE77

Kinga Sałat, Natalia Malikowska, Adrian Podkowa, Didrik Steinskog,
Noah John Poznanski, Barbara Malawska

POTENT AND SELECTIVE GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID
TRANSPORTER SUBTYPE 1 INHIBITOR EVOKES SPATIAL
MEMORY IMPAIRMENTS IN THE MORRIS WATER MAZE TASK
IN MICE79

Kinga Sałat, Adrian Podkowa, Natalia Malikowska, Felix Kern, Jörg
Pabel, Ewelina Wojcieszak, Katarzyna Kulig, Klaus T. Wanner

OPRACOWANIE I OPTYMALIZACJA WARUNKÓW
OZNACZANIA LUTEINY W SUPLEMENTACH DIETY81

Małgorzata Starek, Monika Dąbrowska, Bartosz Bubula, Włodzimierz
Opoka

BEHAVIOURAL PHENOTYPE IN THE GPR39 ZINC RECEPTOR
KNOCKOUT MICE83

Gabriela Starowicz, Katarzyna Młyniec

CHEMICAL ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE
COMPOUNDS FROM MYCELIAL CULTURE OF ARBOREAL
FUNGI84

Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Aleksandra Laszczak, Bożena Muszyńska

ANALYSIS OF CHANGES IN THE CONCENTRATION OF
SELECTED PANEL OF PROTEINS DURING THE TUMOR
DEVELOPMENT IN MURINE MODEL OF METASTATIC BREAST
CANCER86

Joanna Suraj, Anna Kurpińska, Stefan Chłopicki, Maria Walczak

WPLYW SYLIMARYNY NA WSPÓŁCZYNNIK EKSTRAKЦИИ
WĄTROBOWEJ WALSARTANU88

Małgorzata Szafarz, Paulina Siembak-Majewska, Elżbieta Wyska	
ŹRÓDŁA WÓD MINERALNYCH W MAŁOPOLSCE NIEDOCENIONYM BOGACTWEM	90
Małgorzata Schlegel-Zawadzka, Ewa Błaszczyk-Bębenek	
HEALTH BENEFITS OF HERBAL SPICES - KNOWLEDGE AND USE OF SPICES BY ADULTS	91
Małgorzata Schlegel-Zawadzka, Kinga Żyła, Ewa Błaszczyk-Bębenek, Jaśmina Żwirska	
COMPOUND ODONTOMA - A CASE REPORT	93
Teresa Szupiany-Janeczek, Paweł Novak, Jolanta Pytko-Polończyk	
LIQUID CHROMATOGRAPHY/TANDEM MASS SPECTROMETRY METHOD FOR ASSESSMENT THE ADHERENCE TO ANTIHYPERTENSIVE THERAPY.....	95
Maria Walczak, Francesca Bottaro, Caroline Muscat, Magdalena Smolik, Agnieszka Parnicka, Małgorzata Fedyk-Łukasik, Tomasz Grodzicki	
THE EFFECT OF PENTOXIFYLLINE AND LISOFYLLINE ON TGF-B INDUCED FIBROBLASTS TO MYOFIBROBLASTS TRANSITION IN BRONCHIAL ASTHMA.....	97
Katarzyna Wójcik-Pszczółka, Kinga Hińcza, Dawid Wnuk, Paulina Koczurkiewicz, Zbigniew Madeja, Elżbieta Pękala, Marta Michalik	
NEW ANALOGS OF THE COMPOUND HC-030031 AS POTENTIAL ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY STRUCTURES	99
Małgorzata Zygmunt, Grażyna Chłoń-Rzepa, Marek Bednarski, Magdalena Kotańska, Leszek Nowiński, Jacek Sapa	
HOPES AND FEARS USING NANOTECHNOLOGY TO IMPROVE HEALTH QUALITY OF FOOD	101
Małgorzata Schlegel-Zawadzka, Alicja Kasza, Ewa Błaszczyk-Bębenek	

INDEX

- Adamek Dariusz, 24, 64
- Baś Bogusław, 52
- Bednarski Marek, 99
- Błaszczyk-Bębenek Ewa, 90, 91,
101
- Bonar Emilia, 58
- Bottaro Francesca, 95
- Bubula Bartosz, 81
- Bułaś Lucyna, 73
- Chłoń-Rzepa Grażyna, 30, 32,
99
- Chłopicki Stefan, 50, 62, 86
- Cieślik Paulina, 25
- Cios Agnieszka, 30, 32
- Dąbek Dominika, 73
- Dąbrowska Monika, 81
- Dobosz Konrad, 54
- Dyduch Grzegorz, 64
- Fedyk-Łukasik Małgorzata, 95
- Fijałek Zbigniew, 16, 22
- Frąckiewicz Ewelina, 34, 71
- Furtak Michał, 66
- Gawlik Maciej, 36
- Gawlik Małgorzata, 36
- Gdula-Argasińska Joanna, 40
- Gocalińska Marlena, 30, 32
- Gołombiowska Krystyna, 25
- Gonciarz-Dytman Anna, 62
- Grad Piotr, 38
- Grodzicki Tomasz, 95
- Gruba Anna, 75
- Grzywacz Agata, 40, 66
- Hałaszk Patrycja, 42, 44, 68
- Hińcza Kinga, 97
- Hubicka Urszula, 46
- Jakubik Anna, 48
- Jarczewski Jarosław, 64
- Jarosz Magdalena, 34, 71
- Jękot Barbara, 42
- Kaczmarczyk Mateusz, 64
- Kała Katarzyna, 54, 66, 68
- Kamiński Jakub, 38
- Kasza Alicja, 101
- Kern Felix, 79
- Kij Agnieszka, 50
- Koczurkiewicz Paulina, 97
- Kotańska Magdalena, 99
- Krakowska Agata, 52, 54
- Kreżalek Remigiusz, 54
- Krośniak Mirosław, 71
- Kryczyk Agata, 46, 56, 75
- Kulig Katarzyna, 79
- Kurpińska Anna, 58, 86
- Kusek Magdalena, 25

- Kuś Kamil, 50
- Laidler Piotr, 9
- Laszczak Aleksandra, 84
- Librowski Tadeusz, 34, 60, 71
- Lipkowska Anna, 34, 60, 71
- Łojewski Maciej, 44
- Łukawska Małgorzata, 62
- Madeja Zbigniew, 97
- Malawska Barbara, 77
- Malikowska Natalia, 77, 79
- Maślanka Anna, 54
- Matyjaszczyk Karolina, 62
- Michalik Marta, 97
- Mikolaiczik Gerhard, 26
- Milian-Ciesielska Katarzyna, 64
- Młyniec Katarzyna, 83
- Muscat Caroline, 95
- Muszyńska Bożena, 40, 42, 44,
52, 54, 56, 66, 68, 75, 84
- Mytnik Katarzyna, 46
- Novak Paweł, 93
- Nowak Gabriel, 28
- Nowak Paulina, 73
- Nowiński Leszek, 99
- Noworyta-Sokołowska Karolina,
25
- Olbert Magdalena, 34, 71
- Opoka Włodzimierz, 16, 42, 52,
56, 75, 81
- Oszczapowicz Irena, 62
- Owca Michał, 40
- Pabel Jörg, 79
- Parnicka Agnieszka, 95
- Pękala Elżbieta, 97
- Pikor Natalia, 73
- Pilc Andrzej, 25
- Piotrowska Joanna, 56, 66, 75
- Piwowarczyk Joanna, 46
- Pochwat Bartłomiej, 28
- Podkowa Adrian, 77, 79
- Poznanski Noah John, 77
- Proniewski Bartosz, 50
- Przeklasa-Bierowiec Anna, 48
- Pytko-Polończyk Jolanta, 38, 48,
93
- Radwańska Edyta, 64
- Reczyński Witold, 52
- Rojowski Jacek, 42
- Rzewińska Aleksandra, 42, 44,
68
- Sałat Kinga, 77, 79
- Sapa Jacek, 10, 99
- Schlegel-Zawadzka Małgorzata,
90, 91, 101
- Siembak-Majewska Paulina, 88
- Sito Magdalena, 56
- Smolik Magdalena, 95

- Starek Małgorzata, 81
Starowicz Gabriela, 83
Steinskog Didrik, 77
Sternak Magdalena, 58
Sułkowska-Ziaja Katarzyna, 54,
66, 84
Suraj Joanna, 58, 86
Szafarz Małgorzata, 88
Szczeplik Katarzyna, 48
Szewczyk Agnieszka, 42
Szewczyk Bernadeta, 28
Szupiany-Janeczek Teresa, 93
Szymik Aleksandra, 42
- Śniechowski Maciej, 38
- Tokarski Krzysztof, 25
- Walczak Maria, 50, 58, 62, 86,
95
Wanner Klaus T., 79
Wierońska Joanna M., 25
Wietrzyk Joanna, 50
Wnuk Dawid, 97
Wojcieszak Ewelina, 79
Woźniak Monika, 25
Wójcik-Pszczółka Katarzyna, 97
Wyska Elżbieta, 30, 32, 88
- Zakrzewska Agnieszka, 50, 58
Zygmunt Małgorzata, 99
- Żwirska Jaśmina, 91
Żyła Kinga, 91

NOTES

CONFERENCE ROOM
Aquapark Poprad s.r.o.,
Športová 1397/1, 058 01 Poprad
Slovenská Republika