



Instytut Farmakologii  
im. Jerzego Maja  
Polskiej Akademii Nauk



XLIII Szkoła Zimowa  
Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja  
Polskiej Akademii Nauk  
Kraków, 23-25 lutego 2026 r.

**Medycyna precyzyjna –  
od modelowania leków po praktykę kliniczną**

**Książka streszczeń**

Kraków 2026

**Redakcja techniczna i korekty**

Sabina Podlewska  
Małgorzata Borczyk

**Opracowanie typograficzne**

Marta Kowalska

© Copyright by Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk

ISBN

978-83-60270-12-7

**Skład i łamanie**

Marta Kowalska

**Druk**

Dagra-Druk  
Lazurowa 1, 31-343 Kraków

XLIII Szkoła Zimowa Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk  
dofinansowana ze środków programu „Otwarta Nauka”, nabór 2025

## Spis treści

Program .....	4
Streszczenia wykładów .....	10
Streszczenia posterów .....	43
Indeks wystąpień .....	153
Indeks autorów .....	161
Partnerzy .....	163

# Program

# Program XLIII Szkoły Zimowej IF PAN

23.02.2026 r. (poniedziałek)

## Warsztaty 10:00–13:00

- a) Genetyczne badania asocjacyjne w skali biobanków (dr Małgorzata Borczyk)
- b) AI w projektowaniu leków – od sekwencji celu biologicznego do struktury cząsteczki wiodącej (dr hab. Sabina Podlewska)

13:00–14:00 – lunch

## Wykład plenarny i otwarcie 14:00–15:00

14:00–14:15 – Otwarcie konferencji. Powitanie uczestników przez Dyрекcję IF PAN i kierownictwo Szkoły Zimowej, przedstawienie rysu historycznego Szkoły przez prof. dr hab. Barbarę Przewońką

14:15–15:00 – Wykład plenarny – prof. dr hab. Jacek Jemielity, Centrum Nowych Technologii Uniwersytetu Warszawskiego  
*Chemiczne modyfikacje mRNA do zastosowań terapeutycznych*

## Sesja 1 – Terapie genowe 15:00–17:00

15:00–15:30 – dr hab. Natalia Rozwadowska, prof. IGC PAN, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, Poznań  
*Terapia genowa ex vivo w praktyce: CAR-T jako model translacji od laboratorium do kliniki*

15:30–16:10 – przerwa kawowa połączona z sesją posterową

16:10–16:40 – prof. Darek Górecki, University of Portsmouth  
*Odpowiedź immunologiczna jako bariera w zastosowaniach terapii genowej*

16:40–17:10 – dr Aldona Chmielewska, AGO Alliance  
*Od mutacji do leku: terapie genowe w chorobach rzadkich na przykładzie syndromu AGO*

## **Flash Talks – prezentacje wybrane spośród nadesłanych abstraktów**

**17:10–18:00**

- 17:10–17:20 Przemysław Danek, *Wpływ związku CP-101,606 na ekspresję oraz aktywność enzymów cytochromu P450 w hodowli 2D i 3D ludzkich komórek wątroby* (P-11)
- 17:20–17:30 Yaroslav Lavrynychuk, *Badania nad białkami kompleksu degradosomu RNA u Mycobacterium tuberculosis jako droga do odkrycia nowych leków przeciwgruźliczych* (P-43)
- 17:30–17:40 Magdalena Maciuszek, *Cyfrowy fenotyp bólu: Zintegrowana analiza behawioralno-metaboliczna modelu neuropatii u samców myszy C57BL/6J* (P-45)
- 17:40–17:50 Elżbieta Wątor-Wilk, *Molekularne wytrychy i jak je znaleźć – krystalograficzny fragment screening na przykładzie ludzkiej syntazy deoksyhypyuzyny* (P-64)
- 17:50–18:00 Daniel Ziental, *Violaceina jako potencjalny sonouczulacz w terapii sonodynamicznej wobec czerniaka oraz wybranych patogenów chorobotwórczych* (P-71)
- 18:00-21:00 – bankiet powitalny

**24.02.2026 r. (wtorek)**

## **Sesja 2 – Nowe horyzonty w odkrywaniu leków małowcząsteczkowych**

**9:30–11:15**

- 9:30–10:00 – prof. dr hab. Krzysztof Kamiński, Wydział Farmaceutyczny UJ CM  
*Od koncepcji do kliniki – historia (R)-AS-1, pierwszego w klasie kandydata na lek przeciwpadaczkowy o nowym mechanizmie działania*
- 10:00–10:30 – dr hab. Łukasz Skalniak, prof. UJ, Wydział Chemii UJ  
*Chemia medyczna białka PD-L1: nowe strategie i nieoczekiwane obserwacje*
- 10:30–11:00 – dr hab. Paweł Siedlecki, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk  
*Modele przewidywania powinowactwa białko-ligand: od struktur statycznych do dynamiki molekularnej*

11:00–11:45 – przerwa kawowa połączona z sesją posterową

**Sesja 3 – Farmakogenetyka w dużej skali**  
**11:45–14:15**

11:45–12:15 – dr Marcin Piechota, Intelliseq, Instytut Farmakologii im. J. Maja  
Polskiej Akademii Nauk  
*Odkrycia Farmakogenetyczne w dobie wielkoskalowych baz danych  
klinicznych powiązanych z bankami genomów*

12:15–13:15 – dr n. med. Marzena Wojtaszewska, Uniwersytecki Szpital Kliniczny  
im. Fryderyka Chopina w Rzeszowie  
*Personalizacja leczenia nowotworów kobiecych oparta  
na profilowaniu genetycznym metodą NGS*

13:15–13:45 – dr Jakub Jończyk, Wydział Farmaceutyczny UJ CM  
*Strukturalna farmakogenomika w projektowaniu leku:  
od polimorfizmu do decyzji projektowych*

13:45–14:15 – wykład specjalny dr n. med Toni Andreu, Europejska Infrastruktura  
Zaawansowanych Badań Translacyjnych w Medycynie (gość  
zaproszony w ramach projektu PANERIS)  
*EATRIS, The European Infrastructure for Translational Medicine,  
a leading organization for the Personalized Medicine agenda:  
The rare diseases challenge*

14:15–15:15 – obiad

**Sesja 4 – Wyzwania w leczeniu i diagnostyce chorób ultrazadkich**  
**15:15–16:45**

15:15–15:45 – dr hab. n. med. Monika Gos, prof. IMiD, Zakład Genetyki Medycznej  
Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie  
*Rdzeniowy zanik mięśni – od badań podstawowych do terapii  
celowanej i diagnostyki populacyjnej*

15:45–16:15 – dr Kacper Łukasiewicz, Uniwersytet VIZJA  
*Nietypowe rozwiązania badawcze jako odpowiedź na wyzwania  
w poszukiwaniu terapii chorób rzadkich*

16:15–16:30 – mgr Justyna Walczuk, Fundacja MEK2 Research Foundation  
*Od n-of-1 do n-of-many: Jak MEK2 Research Foundation rozwija  
leczenie na ultra rzadką chorobę genetyczną*

16:30–16:45 – mgr Małgorzata Kośla, Fundacja PACS2 Research Foundation  
*Dolina Śmierci w badaniach translacyjnych, pacjenci budujący mosty  
i badacze stawiający filary*

16:45–17:10 – przerwa kawowa połączona z sesją posterową

**Flash Talks – prezentacje wybrane spośród nadesłanych abstraktów  
17:10–18:00**

- 17:10–17:20 Jakub Adamczyk, *Fingerprinty molekularne to mocne modele dla przewidywania własności peptydów* (P-01)
- 17:20–17:30 Patrycja Grabarczyk, *Wpływ N-metylowanych fragmentów insuliny na hamowanie agregacji rdzeni amyloidogennych beta-amyloidu (A $\beta$ )* (P-20)
- 17:30–17:40 Radosław Kitel, *Odkrycie kowalencyjnych inhibitorów oddziaływania PD-L1/PD-1* (P-31)
- 17:40–17:50 Kacper Kossakowski, *Blokowanie to przeszłość, degradacja to przyszłość: nowy kierunek (r)ewolucji w projektowaniu leków celujących w COX-2* (P-36)
- 17:50–18:00 Marta Radko, *Od danych do eksperymentu: studencka platforma do przewidywania toksyczności związków bioaktywnych PATmed* (P-56)
- 18:00-18:50 – Warsztaty 5R *Nowe podejście do znieczulenia zwierząt i nieinwazyjnych pomiarów ciśnienia krwi* [warsztaty praktyczne prowadzone przez firmę Animalab]
- 18:00-18:50 – równolegle: przerwa kawowa połączona z sesją posterową
- 19:00 – uroczysta kolacja

**25.02.2026 r. (środa)**

**Sesja 5 – Ku medycynie precyzyjnej w psychiatrii i neurologii  
09:30–11:15**

- 09:30–10:15 – dr Michał Ślęzak, Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT Polski  
Ośrodek Rozwoju Technologii  
*Astrocyty jako nowa przestrzeń interwencji w personalizowanej terapii chorób odstresowych*
- 10:15–10:45 – dr hab. Monika Bijata, Instytut Biologii Doświadczalnej  
im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk  
*Biomarkery skuteczności ketaminy jako narzędzie personalizacji terapii depresji*

- 10:45–11:15 – dr Magdalena Lebedzińska-Arciszewska, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk  
*Profilowanie metaboliczne jako wsparcie w poszukiwaniu ukierunkowanych terapii zaburzeń układu nerwowego*
- 11:15–11:35 – dr inż. Katarzyna Widerak, Analityk Genetyka / 10xGENOMICS  
Authorised Distributor  
*Transkryptomika przestrzenna jako narzędzie medycyny translacyjnej*
- 11:35–12:15 – przerwa kawowa + przekąski (mini-lunch)

**Sesja 6 – Big data w medycynie**  
**12:15–13:45**

- 12:15–12:45 – dr Jakub Wojciechowski, Sano – Centrum Zindywidualizowanej Medycyny Obliczeniowej  
*Metody bioinformatyczne w funkcjonalnej interpretacji ludzkiego mikrobiomu jelitowego*
- 12:45–13:15 – dr Krzysztof Rataj, Ardigen S.A  
*Wykorzystanie sztucznej inteligencji w projektowaniu leków biologicznych: możliwości i trudności*
- 13:15–13:45 – mgr inż. Dawid Ostrowski, Google  
*Otwarte modele sztucznej inteligencji w obszarze zdrowia, na przykładzie produktów Google oraz Google DeepMind*
- 13:45–14:30 – wykład zamknięcia – prof. dr hab. Andrzej Dziembowski, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej  
*Komórkowe i terapeutyczne mRNA – dlaczego ogony poli(A) są takie ważne*
- 14:30–14:45 – wręczenie nagród, podsumowanie i zamknięcie Szkoły (Dyrekcja IF PAN, kierownictwo Szkoły Zimowej)

# **Streszczenia wykładów**

# Chemiczne modyfikacje mRNA do zastosowań terapeutycznych

W-01

Jacek Jemielity<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centrum Nowych Technologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> ExploRNA Therapeutics Sp. z o. o., Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [j.jemielity@cent.uw.edu.pl](mailto:j.jemielity@cent.uw.edu.pl)

Technologia informacyjnego RNA (mRNA) zrewolucjonizowała współczesną medycynę, znajdując zastosowanie w wielu dziedzinach, od szczepionek po spersonalizowane terapie. Jednak jej szersze wykorzystanie nadal napotyka na przeszkody, takie jak ograniczona stabilność, nieoptymalna wydajność translacji i aktywacja układu odpornościowego. W ostatnich pracach naszej grupy zajęliśmy się tymi kwestiami, stosując dwa uzupełniające się podejścia. Po pierwsze, opracowaliśmy AvantCap, nową klasę syntetycznych analogów kapu, umożliwiających istotnie zwiększoną aktywność translacyjną mRNA (*J. Am. Chem. Soc.*, 2024). Po drugie, poczyniliśmy postępy w dziedzinie cyrkularnych RNA (circRNA), które wykazują wyjątkową stabilność i wydłużona w czasie translację. Nasze najnowsze badania (*Nat. Commun.*, 2025) opisują nową strategię wytwarzania cyrkularnego mRNA metodami chemicznymi o istotnych zaletach w stosunku do istniejących rozwiązań na tym polu. Innowacje te poszerzają zestaw narzędzi molekularnych dla terapii opartych na RNA, otwierając nowe możliwości dla szczepionek nowej generacji, terapii chorób rzadkich, edycji genomów i terapii komórkowych.

## Referencje

1. Warminski M., et al. Trinucleotide mRNA Cap Analogue N6-Benzylated at the Site of Posttranscriptional m6Am Mark Facilitates mRNA Purification and Confers Superior Translational Properties In Vitro and In Vivo. *J. Am. Chem. Soc.* 146, 8149–8163 (2024).
2. Wasinska-Kalwa M. et al. Chemical circularization of in vitro transcribed RNA for exploring circular mRNA design. *Nature Comm* 16, Art. No. 6455 (2025).

## **Terapia genowa ex vivo w praktyce: CAR-T jako model translacji od laboratorium do kliniki**

Natalia Rozwadowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Patologii Molekularnej, Instytut Genetyki Człowieka PAN ul. Strzeszyńska 32 60-479  
Poznań

adres e-mail osoby prezentującej: [nrozwad@man.poznan.pl](mailto:nrozwad@man.poznan.pl)

Terapie genowe ex vivo stanowią jeden z przykładów produktów leczniczych terapii zaawansowanej (ATMP), w których modyfikacja genetyczna komórek prowadzona jest poza organizmem pacjenta. W kolejnych krokach zmodyfikowane komórki podawane są w celu uzyskania efektu terapeutycznego. Na przykładzie produktu CAR-T zaprezentowane zostaną etapy rozwoju terapii od projektowanie konstruktów i jego funkcjonalności, poprzez badania przedkliniczne i proces wytwarzania, po ocenę kliniczną. Przedstawione zostaną także kluczowe ograniczenia, w tym ocena bezpieczeństwa modyfikacji genetycznej oraz wyzwania związane ze skutecznością kliniczną. Terapia CAR-T posłuży jako model terapii genowej ex vivo, ilustrując kluczowe wymagania i wyzwania procesu from bench to bedside w kontekście medycyny translacyjnej.

## Odpowiedź immunologiczna jako bariera w zastosowaniach terapii genowej

Dariusz C. Górecki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> School of Medicine, Pharmacy and Biomedical Sciences, University of Portsmouth, Portsmouth, United Kingdom

adres e-mail osoby prezentującej: [darek.gorecki@port.ac.uk](mailto:darek.gorecki@port.ac.uk)

Terapia genowa polega na leczeniu chorób poprzez dostarczanie egzogennych kwasów nukleinowych lub ukierunkowaną modyfikację genomu pacjenta. Charakteryzuje się ona ogromnym potencjałem terapeutycznym i jej zakres zastosowań szybko się poszerza. W przypadku niektórych schorzeń zarówno skuteczność, jak i profil bezpieczeństwa okazały się niezwykle obiecujące.

Jednak w innych badaniach klinicznych odnotowano ograniczone korzyści terapeutyczne, a w niektórych przypadkach również poważne działania niepożądane. Istotnym czynnikiem wpływającym na te wyniki jest odpowiedź immunologiczna, w której zarówno wektory dostarczające materiał genetyczny, jak i ekspresjonowane białka terapeutyczne działają jak antygeny.

Odpowiedź immunologiczna skierowana przeciwko wektorom stanowi uniwersalne wyzwanie we wszystkich platformach terapii genowej i jest intensywnie badana, co doprowadziło do opracowania licznych strategii jej ograniczania [1,2]. Natomiast odpowiedź immunologiczna wymierzona w białko terapeutyczne, zwłaszcza gdy jest ono rozpoznawane jako neo-antygen u osób z mutacjami typu null, stanowi bardziej złożoną i znacznie słabiej zbadaną przeszkodę [3].

Taka odpowiedź może wystąpić nawet przy zastosowaniu wektorów o niskiej immunogenności, i prowadzić do ostrych i potencjalnie ciężkich uszkodzeń oraz istotnie ograniczać możliwość długotrwałej ekspresji transgenu, niezbędnej dla skuteczności terapeutycznej.

W prezentacji omówione zostaną mechanizmy i konsekwencje odpowiedzi immunologicznych po terapii genowej. Co istotne, uwzględnienie i rozwiązanie tego problemu jest możliwe [2,4], i kluczowe dla poprawy długoterminowego powodzenia terapii genowych.

## Referencje

1. Byrne BJ, Flanigan KM, Matesanz SE, Finkel RS, Waldrop MA, D'Ambrosio ES, Johnson NE, Smith BK, Bönnemann C, Carrig S, Rossano JW, Greenberg B, Lalaguna L, Lara-Pezzi E, Subramony S, Corti M, Mercado-Rodriguez C, Leon-Astudillo C, Ahrens-Nicklas R, Bharucha-Goebel D, Gao G, Gessler DJ, Hwu WL, Chien YH, Lee NC, Boye SL, Boye SE, George LA. Current clinical applications of AAV-mediated gene therapy. *Mol Ther*. 2025, 33(6):2479-2516.
2. Leborgne C, Barbon E, Alexander JM, Hanby H, Delignat S, Cohen DM, Collaud F, Muraleetharan S, Lupo D, Silverberg J, Huang K, van Wittengerghe L, Marolleau B, Miranda A, Fabiano A, Daventure V, Beck H, Anguela XM, Ronzitti G, Armour SM, Lacroix-Desmazes S, Mingozzi F. IgG-cleaving endopeptidase enables in vivo gene therapy in the presence of anti-AAV neutralizing antibodies. *Nat Med*. 2020, 26(7):1096-1101.
3. Górecki DC, Kalinski P, Pomeroy J. Is dystrophin immunogenicity a barrier to advancing gene therapy for Duchenne muscular dystrophy? *Gene Ther*. 2025, 32(5):561-568.
4. Sharma D, Al-Khalidi R, Edgar S, An Q, Wang Y, Young C, Nowis D, Górecki DC. Co-delivery of indoleamine 2,3-dioxygenase prevents loss of expression of an antigenic transgene in dystrophic mouse muscles. *Gene Ther*. 2017, 24(2):113-119.

## Od mutacji do leku: terapie genowe w chorobach rzadkich na przykładzie syndromu AGO

Aldona Chmielewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> AGO Alliance Poland, Świeradowska 51B, 02-662, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [contact@agoresearch.org](mailto:contact@agoresearch.org)

Choroby rzadkie dotyczą łącznie ok. **3 milionów osób w Polsce** i mimo swojej nazwy stanowią istotne wyzwanie zdrowotne, społeczne i systemowe. Dla większości z nich wciąż nie istnieją terapie przyczynowe, a leczenie ogranicza się do opieki objawowej. Terapie genowe i oparte na kwasach nukleinowych oferują przełomową zmianę tego paradygmatu, umożliwiając bezpośrednią ingerencję w molekularne mechanizmy choroby.

Wystąpienie koncentruje się na roli terapii genowych w leczeniu chorób rzadkich, omawiając ich podstawowe strategie, potencjał kliniczny oraz ograniczenia. Szczególna uwaga zostanie poświęcona terapiom modulującym ekspresję genów na poziomie RNA oraz podejściom edycji genów, które coraz częściej przechodzą z fazy badań przedklinicznych do badań klinicznych.

Punktem odniesienia będzie **syndrom AGO** – ultra-rzadka choroba neurogenetyczna spowodowana mutacjami w genach **AGO1** i **AGO2**, kodujących białka Argonaute, kluczowe regulatory szlaków RNA. Na tym przykładzie pokazane zostanie, w jaki sposób zrozumienie mechanizmów molekularnych choroby umożliwi projektowanie terapii ukierunkowanych na jej pierwotną przyczynę.

Celem wystąpienia jest ukazanie, że terapie genowe mogą realnie zmieniać rokowanie pacjentów z chorobami rzadkimi oraz stanowią jeden z filarów przyszłej medycyny precyzyjnej.

### Referencje

1. Devinsky, Orrin *et al.*, Gene therapies for neurogenetic disorders, Trends in Molecular Medicine, 2025, Volume 31, Issue 9 p814-826.

## Od koncepcji do kliniki – historia (R)-AS-1, pierwszego w klasie kandydata na lek przeciwpadaczkowy o nowym mechanizmie działania

Krzysztof Kamiński<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii Farmaceutycznej, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [k.kaminski@uj.edu.pl](mailto:k.kaminski@uj.edu.pl)

Kwas glutaminowy (glutaminian), jest najważniejszym neuroprzekaźnikiem pobudzającym w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) ssaków i odgrywa kluczową rolę m.in. w procesach uczenia się, pamięci i koncentracji. W fizjologicznych warunkach zewnątrzkomórkowe stężenie glutaminianu w OUN jest niskie, a jego poziom pozostaje pod kontrolą transporterów aminokwasów pobudzających EAATs (*Excitatory Amino Acid Transporters*), wśród których zasadniczą funkcję regulacyjną pełni EAAT2, określane terminem GLT-1 u gryzoni. EAAT2/GLT-1 ulega ekspresji głównie na astrocytach i odpowiada za blisko 90% wychwytu tego neuroprzekaźnika z przestrzeni synaptycznej w OUN. Jego dysfunkcja, prowadzi zatem do patologicznego podwyższenia stężenia glutaminianu w OUN, co indukuje szereg efektów ekscytotoksycznych odgrywających kluczową rolę w przebiegu wielu chorób neuropsychiatrycznych, w tym przede wszystkim padaczki, choroby Alzheimer'a, choroby Parkinson'a, choroby Huntington'a, stwardnienia rozsianego, stwardnienia bocznego zanikowego, bólu neuropatycznego, depresji, schizofrenii, autyzmu, migreny i uzależnień. Warto również podkreślić, iż gwałtowny wzrost stężenia glutaminianu w OUN obserwowany jest w udarze niedokrwiennym, a także na skutek urazowego uszkodzenia mózgu. Z tego względu w ostatnich latach transporter EAAT2/GLT-1 stał się jednym z najbardziej obiecujących celów biologicznych w rozwoju leków działających w obrębie OUN. Zwiększenie jego efektywności, prowadzące do ograniczenia szkodliwego działania ekscytotoksycznego glutaminianu, może stanowić nowatorską i potencjalnie uniwersalną strategię terapeutyczną w leczeniu wielu chorób, w szczególności padaczki oraz schorzeń neurodegeneracyjnych. Mając na uwadze powyższe przesłanki, w prowadzonych przez nas badaniach otrzymano małowcząsteczkowy związek wiodący o symbolu

**(R)-AS-1.** Związek ten, będący pod względem mechanistycznym selektywnym pozytywnym allosterycznym modulatorem (PAM) transportera EAAT2/GLT-1, wykazuje silną i szeroką aktywność ochronną w kluczowych mysich i sznurzych modelach drgawek padaczkowych, w tym także lekoopornych. Warto podkreślić, iż pod względem mechanizmu działania, a przede wszystkim efektywności oraz profilu bezpieczeństwa, **(R)-AS-1** posiada istotną przewagę nad lekami przeciwpadaczkowymi stosowanymi obecnie w terapii. O atrakcyjności, przydatności klinicznej oraz dobrej tolerancji związku świadczy fakt, że jako pierwszy w swojej klasie (*first-in-class*) PAM transportera EAAT2/GLT-1 uzyskał on w styczniu 2025 roku status leku sierocznego (*orphan drug designation*, ODD), przyznany przez U.S. FDA, do terapii zespołu Dravet. W kwietniu tego samego roku rozpoczęto pierwszą fazę badań klinicznych z udziałem zdrowych ochotników, która obecnie dobiega końca. Osiągnięcie to stanowi istotny kamień milowy w rozwoju polskiej nauki w obszarze *life science* oraz przykład udanego transferu innowacyjnych technologii do praktyki klinicznej.

Badania zostały sfinansowane w części ze środków Narodowego Centrum Nauki – grant nr UMO-2022/45/B/NZ7/00598.

## Chemia medyczna białka PD-L1: nowe strategie i nieoczekiwane obserwacje

Radosław Kiteł<sup>1</sup>, Justyna Kocik-Król<sup>1</sup>, Damian Muszak<sup>1</sup>, Agnieszka Masłanka<sup>1,2</sup>, Ewa Surmiak<sup>1</sup>, Katarzyna Magiera-Mularz<sup>1</sup>, Bogdan Musielak<sup>1</sup>, Małgorzata Stec<sup>3</sup>, Marcin Surmiak<sup>4</sup>, Maciej Siedlar<sup>3</sup>, Aneta Nieznanska<sup>1</sup>, Michał Mikula<sup>5</sup>, Lukasz Skalniak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, Krakow, Poland

<sup>2</sup> Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Jagiellonian University, Krakow, Poland

<sup>3</sup> Department of Clinical Immunology, Institute of Pediatrics, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

<sup>4</sup> Bioengineering and Cell Imaging Laboratory, Center for the Development of Therapies for Civilization and Age-Related Diseases, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

<sup>5</sup> Department of Genetics, Maria Skłodowska-Curie National Research Institute of Oncology, Warsaw, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [lukasz.skalniak@uj.edu.pl](mailto:lukasz.skalniak@uj.edu.pl)

Jak przebiega proces optymalizacji struktury chemicznej potencjalnych leków? Dlaczego należy zachować pokorę we własnych osądach? Dlaczego warto znać podstawy badanych procesów i dlaczego warto otwierać się na akceptowanie nieprzewidzianych rezultatów? Wszystkiego tego dowiesz się na przykładzie naszej 10-letniej przygody z blokowaniem interakcji pomiędzy błonowymi białkami PD-1 i PD-L1.

Terapie oparte o blokowanie oddziaływania PD-1/PD-L1 z zastosowaniem przeciwciał terapeutycznych stały się w ostatnim dziesięcioleciu fundamentem współczesnej immunoterapii. Choć stworzenie małych, prawdopodobnie korzystniejszych w użyciu cząsteczek zdolnych zastąpić przeciwciała pozostaje ambitnym, nadal nieosiągniętym celem, droga do niego okazała się pełna wartościowych spostrzeżeń. Prace prowadzone przez grupy naukowe na całym świecie ujawniły szereg nieoczekiwanych mechanizmów oraz zjawisk, które poszerzyły nasze rozumienie interakcji PD-1/PD-L1 i inspirowały kolejne etapy badań. Nasze doświadczenia pokazują, że nawet jeśli ostateczny cel pozostaje odległy, to sam proces odkrywania może przynieść satysfakcję, jak również rezultaty o znacznej wartości poznawczej i praktycznej.

Praca współfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, przyznanych w ramach projektu Sonata Bis 11 nr 2021/42/E/NZ7/00422.

## Modele przewidywania powinowactwa białko-ligand: od struktur statycznych do dynamiki molekularnej

Paweł Siedlecki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Cheminformatyki i Modelowania Molekularnego, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Pawińskiego 5a, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [pawel@ibb.waw.pl](mailto:pawel@ibb.waw.pl)

Przewidywanie powinowactwa białko–ligand stanowi jedno z kluczowych wyzwań współczesnej chemii obliczeniowej, bioinformatyki oraz projektowania leków. Modele oparte na statycznych strukturach kompleksów, pochodzących z krystalografii rentgenowskiej lub modelowania molekularnego, stanowią fundament wielu metod stosowanych na różnych etapach procesu odkrywania związków biologicznie aktywnych. Podejście to umożliwiło rozwój klasycznych funkcji oceny oraz algorytmów uczenia maszynowego, skutecznie wykorzystywanych m.in. do wysokoprępastowego przeszukiwania dużych bibliotek chemicznych. Coraz wyraźniej widoczne stają się jednak ograniczenia wynikające z pomijania dynamiki oraz czasowej zmienności oddziaływań białko–ligand, w tym plastyczności kieszeni wiążącej i fluktuacji kontaktów molekularnych. Nowe kierunki rozwoju modeli przewidywania powinowactwa integrujące symulacje dynamiki molekularnej z metodami uczenia maszynowego i głębokiego dają nadzieję na bardziej realistyczny opis interakcji oraz ekstrakcję deskryptorów uwzględniających ich dynamiczny charakter. Jednocześnie podejścia te wiążą się z nowymi wyzwaniami, takimi jak ograniczona dostępność danych oraz konieczność znalezienia kompromisu pomiędzy kosztem obliczeniowym symulacji a uzyskiwanym zyskiem informacyjnym.

Badania współfinansowane w ramach środków Narodowego Centrum Nauki.

## Odkrycia Farmakogenetyczne w dobie wielkoskalowych baz danych klinicznych powiązanych z bankami genomów

Marcin Piechota<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Intelliseg S.A., Miechowska 5b/5, 30-055 Kraków

<sup>2</sup> Pracownia Farmakogenomiki, Instytut Farmakologii im. J. Maja Polskiej Akademii Nauk, Smętna 12 Kraków

adres e-mail osoby prezentującej: [piechota@intelliseg.pl](mailto:piechota@intelliseg.pl)

Duże bazy danych klinicznych, w których sekwencjonowanie całego eksomu lub genomu połączone jest z wieloletnią elektroniczną dokumentacją medyczną, zasadniczo zmieniają oblicze badań farmakogenomicznych. Zbiory te łączą wysoką rozdzielczość danych genomowych z długookresowymi informacjami o stosowanych terapiach, wynikach badań laboratoryjnych oraz przebiegu i efektach leczenia. Aby w pełni wykorzystać ich potencjał, konieczne jest adekwatne zaprojektowanie badania ze szczególnym uwzględnieniem metod statystycznych oraz strategii replikacji w procesie identyfikacji interakcji lek-genotyp. Istotnym i wciąż nierozwiązanym wyzwaniem pozostaje precyzyjne definiowanie fenotypów odpowiedzi na leki w oparciu o kody diagnostyczne (np. ICD) oraz dane dotyczące wydawanych recept. Po ich określeniu pojawiają się kolejne problemy analityczne, takie jak nielosowe przypisywanie pacjentów do farmakoterapii, stratyfikacja populacyjna czy obecność czynników zakłócających. Pomimo tych trudności, wyniki badań obejmujących leki stosowane w chorobach sercowo-naczyniowych, psychiatrii oraz zaburzeniach metabolicznych pokazują, że dane populacyjne umożliwiają przesuwanie farmakogenomiki w kierunku odkryć obejmujących cały genom człowieka.

## Personalizacja leczenia nowotworów kobiecych oparta na profilowaniu genetycznym metodą NGS

Marzena Wojtaszewska<sup>1,2</sup>, Monika Pępek<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Rzeszowie, ul. Szopena 2, 35-055 Rzeszów, Polska

<sup>2</sup> Wydział Medyczny, Collegium Medicum Uniwersytetu Rzeszowskiego, ul. Warzywna 1a, 35-310 Rzeszów, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [wojtaszewska@gmail.com](mailto:wojtaszewska@gmail.com)

Na raka piersi, jajnika i trzonu macicy zapada łącznie ok. 31 tysięcy kobiet, co stanowi 35% wszystkich nowotworów złośliwych u płci żeńskiej [1]. U podłoża genetycznego części z tych nowotworów leżą defekty mechanizmów naprawy DNA, których identyfikacja pozwala na zastosowanie nowoczesnego leczenia. Wykrycie specyficznych mutacji genetycznych pozwala także na stratyfikację ryzyka u pacjentek i deeskalację intensywności terapii w niektórych przypadkach [2,3]. Dzięki zastosowaniu metody sekwencjonowania następnej generacji diagnostyka wymienionych nowotworów jest możliwa do przeprowadzenia za pomocą pojedynczego, niewielkiego panelu NGS z wykorzystaniem technologii krótkich odczytów.

Panel typu *hybrid-capture* NGS dla 10 genów związanych z patogenezą nowotworów kobiecych (*BRCA1*, *BRCA2*, *POLE*, *POLD1*, *CTNNB1*, *TP53*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*) obejmował pełne sekwencje kodujące wymienionych genów. Walidacja zaprezentowanej metody została wykonana na 20 próbkach raka endometrium (materiał utrwalony, 12 próbek retrospektywnych i 8 prospektywnych) oraz na 4 próbkach retrospektywnych od pacjentek chorujących na raka piersi (krew obwodowa). Próbki do analiz retrospektywnych wytypowano na podstawie wyniku badania wykonanego w zewnętrznym laboratorium medycznym, w badaniu prospektywnym analizowano próbki nie poddane uprzednio diagnostyce. Wyniki badania NGS dla raka endometrium skorelowano z wynikami badania immunohistochemicznego ekspresji genów dMMR (*MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, *PMS2*) oraz genu *TP53*.

W wyniku analizy wykryto łącznie 38 wariantów patogennych, uzyskując 97% zgodność wyników. W przypadku uszkodzenia genów dMMR nie uzyskano założonej głębokości pokrycia dla wszystkich eksonów ba-

danych z uwagi na wysoką zawartość sekwencji repetytywnych (w przypadku *MSH2*, *MSH6*). Z uwagi na brak wykrytych wariantów w genie *PMS2* i przez wzgląd na obecność pseudogenów dla sekwencji tego genu odstąpiono od walidacji przydatności metody do diagnostyki tego genu do czasu pozyskania próbek z potwierdzonym zmutowanym statusem *PMS2*. Porównanie wyników badania immunohistochemicznego i molekularnego dało zbliżoną do raportowanej w literaturze zbieżności wyników (zgodność 90%, 18/20 wyników).

Wnioski: Sekwencjonowanie następnej generacji jest przydatnym i rzetelnym testem diagnostycznym do wykrywania istotnych klinicznie wariantów genetycznych w nowotworach złośliwych BRCA-zależnych oraz w raku trzonu macicy. Metoda NGS pozwala na jednoczasową detekcję zmian molekularnych, umożliwiających personalizację leczenia i stratyfikację pacjentek do grup rokowniczych.

### Referencje

1. Wojciechowska U, Barańska K, Miklewska M, Didkowska JA. Cancer incidence and mortality in Poland in 2020. *Nowotwory. Journal of Oncology* 2023, 73(3), 129-145.
2. Turk AA, Wisinski KB. PARP inhibitors in breast cancer: Bringing synthetic lethality to the bedside. *Cancer*. 2018;124(12), 2498-2506.
3. Corr B, Cosgrove C, Spinosa D, Guntupalli S. Endometrial cancer: molecular classification and future treatments. *BMJ Med*. 2022 31;1(1):, e000152.

## Strukturalna farmakogenomika w projektowaniu leku: od polimorfizmu do decyzji projektowych

Jakub Jończyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Chemii Leków, Katedra Chemii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [jakub.jonczyk@uj.edu.pl](mailto:jakub.jonczyk@uj.edu.pl)

Rozwój farmakogenomiki oraz gwałtowny wzrost dostępności danych strukturalnych istotnie zmieniają sposób, w jaki opisuje się i przewiduje odpowiedź na leki na poziomie molekularnym. Zasoby wariantów populacyjnych i klinicznych ujawniły wysoką zmienność sekwencji w genach kodujących białka stanowiące cele terapeutyczne, a równoległe postępy biologii strukturalnej i modelowania obliczeniowego umożliwiają interpretację tych wariantów w kontekście architektury kieszeni wiążących lub allosterycznych [1]. W konsekwencji nasuwa się pytanie, które warianty pozostają neutralnym tłem populacyjnym, a które w sposób mierzalny zmieniają powinowactwo, selektywność lub oporność – oraz jak taką informację wiarygodnie przekładać na decyzje projektowe.

W wystąpieniu omówione zostaną kluczowe mechanizmy wpływu wariantów białek docelowych na działanie leków, obejmujące bezpośrednie modyfikacje kieszeni wiążącej, efekty pośrednie zależne od dynamiki i allosterii, zmiany profilu off-target oraz mutacje oporności [2]. Przedstawione zostaną również główne ograniczenia aktualnych podejść: rozbieżności między predyktorami efektu wariantu, niepewność modeli w regionach o wysokiej zmienności i w obrębie izoform, a także ograniczona transferowalność wyników *in silico* do fenotypu biologicznego i klinicznego [3].

Na tym tle zaprezentowany zostanie pragmatyczny schemat analityczny łączący mapowanie wariantów na struktury białek, zastosowanie komplementarnych predyktorów oraz metod modelowania molekularnego z zasadami walidacji eksperymentalnej i jawnym raportowaniem niepewności. Celem jest uporządkowanie praktycznych kroków, które wspierają priorytetyzację hipotez i ograniczają ryzyko nadinterpretacji.

## Referencje

1. Correa Marrero M, Jänes J, Baptista D, Beltrao P. Integrating Large-Scale Protein Structure Prediction into Human Genetics Research. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2024, 25(1), 123-140. doi:10.1146/annurev-genom-120622-020615
2. Gerasimavicius L, Teichmann SA, Marsh JA. Leveraging protein structural information to improve variant effect prediction. *Curr Opin Struct Biol.* 2025;92:103023. doi:10.1016/j.sbi.2025.103023
3. Zhou Y, Arribas GH, Turku A, et al. Rare genetic variability in human drug target genes modulates drug response and can guide precision medicine. *Sci Adv.* 2021;7(36):eabi6856. doi:10.1126/sciadv.abi6856

## **EATRIS, The European Infrastructure for Translational Medicine, a leading organization for the Personalized Medicine agenda: The rare diseases challenge**

Toni Andreu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> EATRIS – The European Infrastructure for Translational Medicine

adres e-mail osoby prezentującej: [toniandreu@eatris.eu](mailto:toniandreu@eatris.eu)

Abstract: EATRIS, the European infrastructure for translational medicine, supports the development and implementation of personalized medicine and innovative therapies for rare diseases by bridging the gap between academic discovery and clinical application. Through its pan-European network of leading research centres, EATRIS provides integrated scientific, regulatory, and translational expertise across the full development pathway, from target identification and biomarker discovery to clinical proof-of-concept and early patient access.

In personalized medicine, EATRIS enables the translation of patient-stratified approaches by supporting the development and validation of biomarkers, advanced diagnostics, and data-driven tools that guide clinical decision-making. By fostering multidisciplinary collaboration and facilitating access to state-of-the-art platforms, EATRIS accelerates the development of tailored interventions that improve treatment efficacy and safety for individual patients.

In the field of rare diseases, where unmet medical needs are high and development pathways are complex, EATRIS plays a critical role in de-risking innovation. The infrastructure supports the co-development of orphan therapies, innovative trial designs, and regulatory strategies adapted to small patient populations, while promoting engagement with patient organisations and regulators. By coordinating expertise across Europe, EATRIS strengthens the efficiency, quality, and societal impact of translational research, contributing to faster and more equitable access to personalized solutions for patients with rare and complex conditions.

## Rdzeniowy zanik mięśni – od badań podstawowych do terapii celowanej i diagnostyki populacyjnej

Monika Gos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Genetyki Medycznej, Instytut Matki i Dziecka, ul. Kasprzaka 17a, Warszawa, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [monika.gos@imid.med.pl](mailto:monika.gos@imid.med.pl)

Rdzeniowy zanik mięśni (SMA) to jedna z częściej występujących, genetycznie uwarunkowanych chorób rzadkich. Jest to choroba neurodegeneracyjna, w przebiegu której obserwuje się utratę neuronów ruchowych i związany z tym zanik mięśni. Choroba ma różną ekspresję kliniczną, a klasyfikacja pacjentów odbywa się w oparciu o wiek wystąpienia objawów i nabyte w trakcie rozwoju ruchowe kamienie milowe. W najcięższych postaciach choroby, obserwowano wysoką śmiertelność wskutek niewydolności oddechowej.

Przyczyną SMA jest obecność patogennych wariantów w obu kopiach genu *SMN1* – w większości przypadków (95-97%) stwierdza się obecność homozygotycznej delecji eksonu 7 tego genu. Swoistym modyfikatorem przebiegu choroby jest gen *SMN2* – paralog genu *SMN1*, różniący się od niego kilkunastoma nukleotydami. Z obu genów powstaje transkrypt dla białka SMN, jednak w przypadku *SMN2* jest go ponad 5 razy mniej. Przy braku prawidłowego genu *SMN1*, ilość ta jest niewystarczająca, aby podtrzymać prawidłowe funkcjonowanie neuronów ruchowych. Ze względu na wysoką śmiertelność pacjentów z SMA prowadzone były badania podstawowe dotyczące genetycznego podłoża choroby i możliwości wykorzystania tej wiedzy do opracowania terapii celowanych. Efektem tych badań są dostępne leki wykorzystujące możliwość wprowadzenia prawidłowej kopii genu *SMN1* w wektorze wirusowym (onasemnogen abeparwówek) lub możliwość modyfikowania poziomu transkryptu powstającego z obecnego w komórkach genu *SMN2* (nusinersen, rysdyplam). W badaniach klinicznych wykazano, że opracowane leki wykazywały wysoką skuteczność terapeutyczną, zwłaszcza gdy były stosowane wcześniej, najlepiej w okresie przed wystąpieniem pierwszych objawów choroby. Spowodowało to potrzebę wprowadzenia badań, najlepiej o charakterze przesiewowym, które umożliwiłyby szybką iden-

tyfikację pacjentów, którzy odnieśliby korzyść z wczesnego wdrożenia leczenia.

Rdzeniowy zanik mięśni był jedną z pierwszych chorób, dla których wynik badania genetycznego stał się podstawą do potwierdzenia rozpoznania klinicznego. W Polsce badanie diagnostyczne w tym kierunku dostępne jest od ponad 25 lat. Od 2019 roku jest możliwość leczenia pacjenta z wykorzystaniem leków celowanych, a w 2021 roku uruchomiono program badań przesiewowych noworodków w kierunku SMA. Do chwili obecnej w ramach tego programu zidentyfikowano 156 pacjentów – u większości (ok. 95%) zostało włączone odpowiednie leczenie. Pacjenci, którzy nie przyjmują jeszcze dedykowanych leków, poddawani są aktywnej obserwacji, zaś ewentualne leczenie zostanie włączone po wystąpieniu pierwszych objawów klinicznych.

Dzięki wdrożonym rozwiązaniom systemowym SMA stało się modelowym przykładem choroby rzadkiej, dla której odpowiednia diagnostyka i leczenie zapobiegają występowaniu trwałej niepełnosprawności lub śmierci.

### Referencje

1. Gos M, Jędrzejowska M, Ołtarzewski M. „Badania przesiewowe noworodków w kierunku rdzeniowego zaniku mięśni w Polsce” Postępy Neonatologii (Advances in Neonatology) 2025, 31(3):9-16.

## **Nietypowe rozwiązania badawcze jako odpowiedź na wyzwania w poszukiwaniu terapii chorób rzadkich**

Kacper Łukasiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Nauk o Człowieku, Uniwersytet VIZJA, ul. Okopowa 59, Warszawa, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [k.lukasiewicz@vizja.pl](mailto:k.lukasiewicz@vizja.pl)

Typowy proces opracowania nowego leku typowo trwa około 10-15 lat i kosztuje od 1 do 2,5 miliarda dolarów. Proces ten wiąże się z rozległymi badaniami podstawowymi, przedklinicznymi a następnie klinicznymi. Aby stworzyć lek lub opracować terapię dla choroby rzadkiej niezbędna jest daleko idąca optymalizacja tego procesu. W ostatnich latach w proces rozwoju leków na choroby rzadkie włącza się coraz więcej organizacji badawczych prowadzonych przez rodziny i bliskich pacjentów. W jaki sposób w ten proces mogą włączyć się naukowcy, tak aby badania przekładały się na konkretne rozwiązania terapeutyczne? W trakcie wykładu zostaną przedstawione przykłady strategii badawczych we współpracy z kilkoma organizacjami badawczymi pacjentów i przełożenie tych nietypowych rozwiązań badawczych na przyspieszenie procesu opracowania leczenia.

## Od *n-of-1* do *n-of-many*: Jak MEK2 Research Foundation rozwija leczenie na ultra rzadką chorobę genetyczną

Justyna Walczuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> MEK2 Research Foundation, Aleja Jana Pawła II 59h/2, 15-753, Białystok, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [mek2research@gmail.com](mailto:mek2research@gmail.com)

Zespół sercowo-twarzowo-skrótny typu IV (CFC4) to ultra rzadka choroba genetyczna spowodowana patogennymi wariantami w genie MAP2K2. Choroba ma charakter wieloukładowy i progresywny. Konstytutywna aktywacja kinazy MEK2 (gain-of-function), skutkuje nadmierną aktywacją szlaku sygnałowego RAS–RAF–MEK–ERK. Zaburzenie to powoduje deregulację proliferacji, różnicowania i przeżycia komórek w wielu tkankach podczas rozwoju embrionalnego i postnatalnego. Analogiczny patomechanizm molekularny – nadaktywność szlaku MAPK – występuje również w innych chorobach należących do grupy RASopatii, takich jak zespoły Noonan, Costello czy NF1. Choć fenotyp kliniczny różni się w zależności od genu i wariantu, wspólny mechanizm molekularny czyni te jednostki potencjalnie podatnymi na podobne strategie terapeutyczne. Dotychczasowe badania przedkliniczne oraz obserwacje kliniczne wskazują, że inhibitory MEK mogą modulować nadmierną aktywność szlaku MAPK u pacjentów z RASopatiami. Leki te zostały pierwotnie opracowane do terapii onkologicznych, co wiąże się z istotną toksycznością i ogranicza ich długoterminowe stosowanie w populacji pediatrycznej. Celem działalności MEK2 Research Foundation jest identyfikacja nowych inhibitorów MEK o obniżonej toksyczności, dostosowanych do przewlekłego stosowania oraz charakteryzujących się dobrą penetracją bariery krew–mózg.

Zasoby badawcze fundacji obejmują linie fibroblastów skóry oraz linie iPSC wyprowadzone od pacjentki z wariantem c.619G>A (p.Glu207Lys) w genie MAP2K2. Fibroblasty wykorzystywane są do wysokoprzepustowego screeningu fenotypowego metodą cell painting oraz do analizy poziomów fosforylowanego ERK (phospho-ERK). Na bazie komórek iPSC tworzona jest linia izogeniczna przy użyciu technologii CRISPR-Cas9, a następnie prowadzone jest różnicowanie do neuronów, astrocytów oraz kardiomiocytów. Równolegle rozwijane są modele in vivo, obejmują-

ce mysz humanizowaną oraz model Danio rerio, wykorzystywane do dalszej walidacji skuteczności i bezpieczeństwa potencjalnych terapii. We współpracy z Instytutem Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk prowadzone jest modelowanie molekularne struktury MEK2 wraz z symulacjami oddziaływań z inhibitorami MEK.

Celem wystąpienia jest pokazanie, że pojedyncze inicjatywy pacjenckie mogą prowadzić do odkryć terapeutycznych istotnych dla szerszej grupy pacjentów poprzez celowanie w wspólny, molekularny mechanizm choroby.

### **Referencje**

1. Rodriguez-Viciana, P.; et al. Germline mutations in genes within the MAPK pathway cause cardio-facio-cutaneous syndrome. *Science*, 2006, 311.
2. Rauen, K.A.; et al. Cardio-facio-cutaneous syndrome: clinical features, diagnosis, and management guidelines. *Pediatrics*, 2011, 127.

## **Dolina Śmierci w badaniach translacyjnych, pacjenci budujący mosty i badacze stawiający filary**

Małgorzata Kośla<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fundacja PACS2 Research Foundation, ul. Grzybowska 2/31, 00-131 Warszawa, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [mkosla@pacs2research.org](mailto:mkosla@pacs2research.org)

Badania translacyjne w obszarze chorób ultra-rzadkich należą do najbardziej wymagających obszarów współczesnej medycyny. Jednostki te, stanowiące „długi ogon” chorób rzadkich, często pozostają poza zainteresowaniem przemysłu farmaceutycznego, a brak jednego sponsora odpowiedzialnego za proces rozwoju terapii end-to-end pogłębia zjawisko tzw. doliny śmierci - luki pomiędzy odkryciami przedklinicznymi a ich zastosowaniem klinicznym.

Wystąpienie bazuje na doświadczeniu rodziców dziecka dotkniętego ultra-rzadką chorobą jednogenową, syndromem PACS2, którzy w krótkim czasie doprowadzili do uruchomienia badań nad tą jednostką w kilkunastu ośrodkach badawczych na świecie oraz stworzyli realną perspektywę badań klinicznych. Przykład ten stanowi punkt wyjścia do szerszej refleksji nad barierami finansowymi, organizacyjnymi i regulacyjnymi, które systemowo ograniczają translację innowacji w chorobach ultra-rzadkich. Celem wystąpienia jest zaproszenie do refleksji nad tym, w jaki sposób badania nad chorobami ultra-rzadkimi mogą stać się nie tylko wyzwaniem, lecz także impulsem do nowych modeli współpracy i myślenia o translacji wiedzy naukowej do realnych korzyści klinicznych.

## Astrocyty jako nowa przestrzeń interwencji w personalizowanej terapii chorób od stresowych

Michał Ślęzak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupa Badawcza 'Biologii Astrocytów', P4Health, Sieć Badawcza Łukasiewicz – PORT, ul. Stabłowicka 147, Wrocław, Polska

Precyzyjna diagnostyka i skuteczne leczenie zaburzeń afektywnych pozostają poważnym wyzwaniem medycyny, głównie ze względu na złożony charakter tych chorób. Indywidualne objawy zaburzeń psychicznych wynikają z interakcji predyspozycji genetycznych, moderujących podatność na czynniki środowiskowe wywołujące chorobę, z których głównym jest stres. W naszych badaniach skupiamy się na komórkowych i molekularnych ścieżkach modyfikowanych przez stres, w celu identyfikacji nowych podejść terapeutycznych.

W wystąpieniu podsumuję wyniki naszych badań wskazujące, że astrocyty są kluczowym mediatorem ośrodkowych efektów zaburzeń sygnalizacji hormonów stresu. Wykazaliśmy, że głębokie zmiany transkrypcyjne gleju są główną cechą odróżniającą próbki mózgow od pacjentów z najpoważniejszymi zaburzeniami psychicznymi od kontrolnych. Dzięki zastosowaniu nowatorskiego protokołu wzbogacania jąder astrocytów uzyskaliśmy bezprecedensowy wgląd w molekularny program astrocytów w depresji i odkryliśmy, że receptor glikokortykoidowy (GR) jest głównym regulatorem tych zmian. Wykazaliśmy, że znaczna część patologicznej sygnatury astrocytów jest replikowana w modelu chronicznego stresu u gryzoni. Selektywna eliminacja receptora GR z astrocytów zapobiegała transkrypcyjnym, metabolicznym i behawioralnym skutkom przewlekłego stresu u myszy. Analiza ścieżek funkcjonalnych ujawniła m.in., że międzygatunkową cechą dysfunkcji astrocytów są zaburzenia gospodarki glutaminianem. Funkcjonalna manipulacja kluczowego enzymu *in vivo* prowadziła z kolei do wywołania selektywnych zaburzeń zachowania u gryzoni.

W drugiej części mojego wystąpienia omówię znaczenie opracowania odpowiednich narzędzi do walidacji szlaków specyficznych dla astrocytów

jako nowatorskiej strategii terapeutycznej w zaburzeniach związanych ze stresem. Między innymi, przedstawię nasze najnowsze wyniki, koncentrujące się na analizie roli wybranych genów specyficznych dla astrocytów w ośrodkowych efektach chronicznej aktywacji GR, z uwzględnieniem różnic płciowych.

### Referencje

1. Dalbeyler S *et al.* *bioRxiv* (2025). doi.org/10.1101/2025.04.04.646549.
2. Gover T & Slezak M. *Pharmacol Rep* 76, 1333–1345 (2024). doi.org/10.1007/s43440-024-00654-w

## **Biomarkery skuteczności ketaminy jako narzędzie personalizacji terapii depresji**

Monika Bijata<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, Warszawa, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [m.bijata@nencki.edu.pl](mailto:m.bijata@nencki.edu.pl)

Depresja lekooporna (ang. *treatment-resistant depression*, TRD) stanowi jedno z najpoważniejszych wyzwań współczesnej psychiatrii klinicznej. Znaczna część pacjentów nie uzyskuje wystarczającej poprawy po kolejnych liniach standardowego leczenia przeciwdepresyjnego, co wiąże się z dużym obciążeniem chorobą, pogorszeniem jakości życia oraz zwiększonym ryzykiem zachowań samobójczych. W tym kontekście wprowadzenie ketaminy oraz jej enancjomeru, esketaminy, znacząco zmieniło strategię terapeutyczne, oferując możliwość szybkiego działania przeciwdepresyjnego, również u pacjentów z TRD.

Jednocześnie odpowiedź na leczenie ketaminą i esketaminą pozostaje wyraźnie zróżnicowana. U części pacjentów obserwuje się wyraźną i trwałą poprawę, podczas gdy u innych efekt terapeutyczny jest słabszy lub krótkotrwały. Zmienność ta podkreśla potrzebę lepszego zrozumienia czynników warunkujących skuteczność leczenia oraz poszukiwania obiektywnych wskaźników, które mogłyby opisywać i porządkować tę heterogeniczność.

Coraz większe zainteresowanie budzi możliwość przewidywania skuteczności terapii za pomocą mierzalnych wskaźników biologicznych i klinicznych. Koncepcja biomarkerów skuteczności leczenia wpisuje się w nurt psychiatrii precyzyjnej, której celem jest odejście od podejścia jednolitego dla wszystkich pacjentów na rzecz lepszego dopasowania terapii do indywidualnych cech chorego. Biomarkery odpowiedzi na leczenie stanowią nie tylko potencjalne narzędzie predykcyjne, lecz także ważny element pogłębiania wiedzy o mechanizmach działania leków oraz o biologicznych podstawach zróżnicowanej odpowiedzi terapeutycznej.

## Profilowanie metaboliczne jako wsparcie w poszukiwaniu ukierunkowanych terapii zaburzeń układu nerwowego

Magdalena Lebiedzińska-Arciszewska<sup>1</sup>, Barbara Pakuła<sup>1</sup>, Agata Wydrych<sup>1</sup>, Dominik Cysewski<sup>3</sup>, Paolo Pinton<sup>4</sup>, Werner J H Koopman<sup>5</sup>, Agnieszka Dobrzyń<sup>2</sup>, Mariusz R Więckowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Biologii Mitochondriów i Metabolizmu, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Ludwika Pasteura 3, 02-093 Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Pracownia Sygnałów Komórkowych i Zaburzeń Metabolicznych, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Ludwika Pasteura 3, 02-093 Warszawa, Polska

<sup>3</sup> Centrum Medycyny Regeneracyjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Waszyngtona 15 B, 15-269 Białystok, Polska

<sup>4</sup> Department of Medical Sciences, Section of Experimental Medicine, Laboratory for Technologies of Advanced Therapies, University of Ferrara, Ferrara, Italy

<sup>5</sup> Department of Pediatrics, Amalia Children's Hospital, Radboud University Medical Center, Nijmegen, the Netherlands; Human and Animal Physiology, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands

adres e-mail osoby prezentującej: [m.lebiedzinska@nencki.edu.pl](mailto:m.lebiedzinska@nencki.edu.pl)

Wiele chorób, zarówno cywilizacyjne jak i rzadkie choroby neurorozwojowe, na poziomie komórkowym wiąże się z zaburzeniami w kluczowych szlakach metabolicznych, jednakże zaburzenia te wciąż pozostają niewystarczająco scharakteryzowane. Niedostatecznie poznany ich związek z rozwojem choroby utrudnia zaprojektowanie skutecznej farmakoterapii. Złożoność procesów metabolicznych oraz plastyczność komórek powodują, że aby uzyskać pełny obraz konsekwencji patogenicznej mutacji konieczne jest zastosowanie i zintegrowanie wielu technik i metod eksperymentalnych. W tym celu analizujemy parametry bioenergetyczne i aktywność wybranych szlaków metabolicznych, co w połączeniu z danymi proteomicznymi i metabolomicznymi, umożliwia funkcjonalną charakterystykę defektów leżących u podstaw wspomnianych schorzeń. Takie zintegrowane podejście pozwala na identyfikację kluczowych zaburzeń w szlakach metabolicznych, co przekłada się nie tylko na lepsze zrozumienie patogenezы badanych chorób, ale także na rozróżnienie ich pierwotnych przyczyn od wtórnych efektów adaptacyjnych. To z kolei pozwala zidentyfikować molekularne cele potencjalnej terapii. Precyzyjna wiedza na temat zmian w profilu metabolicznym wywołanych patogenną mutacją pozwala na ocenę działania związków chemicznych o poten-

cyjale terapeutycznym na poziomie komórkowym oraz wczesną selekcję najbardziej obiecujących kandydatów na leki. Testowanie skuteczności interwencji farmakologicznych w modelach opartych na liniach komórkowych pochodzących od pacjentów sprzyja rozwojowi terapii celowanych, a integracja danych eksperymentalnych, dotyczących metabolizmu komórkowego z danymi klinicznymi, może przyczynić się do bardziej racjonalnego i efektywnego opracowywania leków dla chorych m.in. na rzadkie schorzenia neurorozwojowe i neurodegeneracyjne.

Finansowanie: NCN UMO-2024/55/B/NZ4/02402.

## **Transkryptomika przestrzenna jako narzędzie medycyny translacyjnej**

Katarzyna Widerak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Analityk Genetyka ul. Żwirki i Wigury 101 lok. 5.22 02-089 Warszawa

Technologia Xenium in situ, oparta na transkryptomice przestrzennej, umożliwia szczegółowe mapowanie i analizę ekspresji genów, a także wybranych białek, bezpośrednio w próbkach tkanek. Zachowanie kontekstu przestrzennego pozwala na precyzyjne badanie interakcji pomiędzy komórkami, ocenę stopnia infiltracji komórek układu odpornościowego oraz analizę mikrośrodowiska badanej tkanki.

Zastosowanie tej technologii umożliwia identyfikację subpopulacji komórek, ich rozmieszczenia przestrzennego oraz wzajemnych oddziaływań, co wspiera wyznaczanie potencjalnych biomarkerów i lepsze zrozumienie mechanizmów progresji choroby.

Dzięki tym właściwościom platforma Xenium znajduje coraz szersze zastosowanie w badaniach między innymi z zakresu onkologii czy chorób neurodegeneracyjnych, stanowiąc istotne narzędzie medycyny translacyjnej. Umożliwia ona odkrywanie oraz wyjaśnianie mechanizmów biologicznych, które pozostawały niedostępne dla konwencjonalnych metod badawczych.

## **Metody bioinformatyczne w funkcjonalnej interpretacji ludzkiego mikrobiomu jelitowego**

Jakub Wojciechowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sano – Centrum Zindywidualizowanej Medycyny Obliczeniowej  
adres e-mail osoby prezentującej: [j.wojciechowski@sanoscience.org](mailto:j.wojciechowski@sanoscience.org)

Mikroorganizmy zasiedlające jelita tworzą niezwykle złożony ekosystem, który zdolny jest wpływać na wiele sposobów na nasze zdrowie. Przez wiele lat badania ludzkiego mikrobiomu jelitowego skupiały się na identyfikacji występujących w nim gatunków bakterii i grzybów. Choć podejście to zaowocowało odkryciem licznych powiązań między mikrobiomem, a występowaniem poważnych chorób, często okazuje się, że wnioski są specyficzne dla danej populacji lub grupy osób. Ten brak generalizowalności wyników zwykle związany jest z dużą zmiennością mikrobiomu jelitowego, zarówno w czasie jaki i pomiędzy różnymi populacjami. Rozwiązaniem tego problemu może być analizowanie mikrobiomu od strony funkcjonalnej, a nie koncentrowaniu się na obecności lub brak poszczególnych gatunków. W naszej pracy skupiamy się na opracowaniu nowych metod bioinformatycznych opartych na funkcjonalnej notacji białek pozwalających badać funkcjonalny potencjał bakterii kolonizujących nasze jelita.

## Wykorzystanie sztucznej inteligencji w projektowaniu leków biologicznych: możliwości i trudności

Krzysztof Rataj<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ardigen S.A., ul. Leona Henryka Sternbacha 1, 30-394 Kraków

adres e-mail osoby prezentującej: [krzysztof.rataj@ardigen.com](mailto:krzysztof.rataj@ardigen.com)

Sztuczna inteligencja jest mocno zintegrowana ze współczesnymi procesami projektowania leków. Na rynku pojawiają się doniesienia o kolejnych lekach zaprojektowanych z użyciem sztucznej inteligencji wchodzących do badań klinicznych. Firmy farmaceutyczne również nie zostają w tyle, inwestując mocno w rozwiązania oparte na AI w celu przyspieszenia procesu tworzenia leków.

Jednakże jednym z pól na którym sztuczna inteligencja dopiero zaczyna stawiać pierwsze pewne kroki jest domena leków biologicznych. Ze względu na dużą przestrzeń sekwencyjną i konformacyjną, oraz duży potencjał na niespecyficzną lub immunogeniczną, projektowanie peptydów, małych białek lub tzw. nanobodies jest problemem znacznie bardziej złożonym od projektowania leków małocząsteczkowych.

W tej krótkiej prezentacji przedstawię kilka z obecnie dostępnych metod wspomagających proces projektowania leków biologicznych, ich zalety i wady, oraz ich zastosowanie w rzeczywistych projektach poszukiwania nowych terapii.

## Otwarte modele sztucznej inteligencji w obszarze zdrowia, na przykładzie produktów Google oraz Google DeepMind

Dawid Ostrowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Google Switzerland, Brandschenkestrasse 110, 8002 Zürich, Szwajcaria  
adres e-mail osoby prezentującej: [dos@google.com](mailto:dos@google.com)

Rozwój multimodalnych modeli fundamentalnych otwiera nowe możliwości w zakresie diagnostyki, odkrywania leków i medycyny precyzyjnej. W niniejszym wystąpieniu zaprezentowane zostaną najnowsze narzędzia firmy Google, począwszy od rozwiązań wspierających praktykę kliniczną, a kończąc na modelowaniu molekularnych mechanizmów regulacji genomu.

Omówiona zostanie inicjatywa *Health AI Developer Foundations (HAI-DEF)* [1], udostępniająca specjalistyczne modele otwarte dla badaczy i deweloperów. Przedstawiony zostanie model *MedGemma* [2], zbudowany na architekturze *Gemma 3* [3], wykazuje zaawansowane zdolności rozumowania multimodalnego, osiągając wyniki porównywalne z wyspecjalizowanymi systemami w zadaniach takich jak generowanie opisów radiologicznych czy klasyfikacja obrazów histopatologicznych. Omówione zostaną również inne modele *HAI-DEF* jak np. *HeAR (Health Acoustic Representations)* [4], wykorzystujący uczenie samonadzorowane na 313 milionach próbek audio do wykrywania biomarkerów akustycznych, takich jak kaszel w przebiegu gruźlicy czy parametry spirometryczne.

W kontekście farmakologii systemowej zaprezentowany zostanie model *C2S-Scale (Cell2Sentence)* [5], który przekształca profile transkryptomyczne pojedynczych komórek w formę tekstową zdań komórkowych (*cell sentences*). Model ten, skalowany do 27 miliardów parametrów, umożliwia przeprowadzanie wirtualnych badań przesiewowych leków w specyficznych kontekstach komórkowych.

Wystąpienie zakończy prezentacja modelu *AlphaGenome* [6], który integruje przewidywanie funkcjonalnych ścieżek genomowych bezpośrednio z sekwencji DNA.

### Referencje

1. Kiraly, A. P. et al. Health AI Developer Foundations. arXiv, 2024, 2411.15128.
2. Yang, L.; Sellergren, A. et al. MedGemma Technical Report. arXiv, 2025.

## Streszczenia wykładów

3. Gemma Team; Kamath, A. et al. Gemma 3 Technical Report. arXiv, 2025, 2503.19786.
4. Baur, S.; Nabulsi, Z. et al. HeAR — Health Acoustic Representations. arXiv, 2024, 2403.02522.
5. Rizvi, S. A.; Levine, D. et al. Scaling Large Language Models for Next-Generation Single-Cell Analysis. bioRxiv, 2025.
6. Avsec, Ž.; Latysheva, N. et al. AlphaGenome: advancing regulatory variant effect prediction with a unified DNA sequence model. Google DeepMind Technical Report, 2025.

## Komórkowe i terapeutyczne mRNA – dlaczego ogony poli(A) są takie ważne

Andrzej Dziembowski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej. Trojdena 4 02-109, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Wydział biologii, Uniwersytet Warszawski, Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [adziembowski@iimcb.gov.pl](mailto:adziembowski@iimcb.gov.pl)

Szczepionki mRNA stały się rewolucją na rynku leków biologicznych i w istotny sposób przyczyniły się do opanowania pandemii koronawirusa. Zjawisko to wyraźnie zwiększyło zainteresowanie badaniami nad tym, jak regulowana jest stabilność mRNA w komórkach. Wiedza ta może stanowić podstawę do projektowania bardziej stabilnych, a przez to skuteczniejszych leków mRNA.

Zarówno terapeutyczne, jak i komórkowe mRNA mają bardzo podobną budowę, a szlaki ich degradacji są w dużej mierze zbieżne. Z drugiej strony, różne typy komórek – w tym komórki występujące w naszym organizmie – mogą znacząco różnić się pod względem przetwarzania i kontroli losów mRNA w cytoplazmie.

W swoim wykładzie przedstawię aktualny stan wiedzy na temat regulacji stabilności terapeutycznych i komórkowych mRNA, ze szczególnym uwzględnieniem roli ogonów poli(A). Podzielę się również wynikami naszych najnowszych badań pochodzących z laboratorium, które pozwoliły odkryć nieoczekiwany mechanizm stabilizacji mRNA stosowanego w szczepionkach<sup>1</sup>.

### Referencje

1. Karawczy i inni, Re-adenylation by TENT5A enhances efficacy of SARS-CoV-2 mRNA vaccines. *Nature*, 2025 May;641(8064):984-992.

# **Streszczenia posterów**

## Fingerprinty molekularne to mocne modele dla przewidywania własności peptydów

Jakub Adamczyk<sup>1</sup>, Piotr Ludynia<sup>1</sup>, Wojciech Czech<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Informatyki, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [jadamczy@agh.edu.pl](mailto:jadamczy@agh.edu.pl)

Zrozumienie właściwości peptydów, takich jak wykrywanie peptydów przeciwdrobnoustrojowych (AMP), często uznaje się za zadanie wymagające modelowania dalekozasięgowych oddziaływań molekularnych oraz konformacji peptydów. Motywuje to stosowanie złożonych modeli uczenia maszynowego (ML), takich jak grafowe sieci neuronowe (GNNs) oraz pretrenowane Protein Language Models (PLM). Nie jest jednak jasne, czy takie zależności dalekiego zasięgu są rzeczywiście niezbędne – i nie zostało to biologicznie udowodnione. W tej pracy badamy, czy tzw. fingerprinty molekularne, będące dobrze znanym narzędziem chemoinformatycznym dla małych związków, potrafią uchwycić zależność struktura-funkcja w przypadku peptydów. Ta reprezentacja na poziomie atomowym ma na celu dostarczenie bogatszej informacji niż modele oparte wyłącznie na sekwencji, zapewnienie większej efektywności niż podejścia strukturalne, a jednocześnie nie koduje żadnych zależności dalekiego zasięgu wynikających z konformacji (foldingu) peptydu.

Wyniki uzyskane na 132 zbiorach danych oraz 6 benchmarkach predykcji funkcji peptydów pokazują, że modele wykorzystujące fingerprinty molekularne w wersji zliczającej podstruktury (count), ECFP, Topological Torsion oraz RDKit, wraz z klasyfikatorem LightGBM osiągają najwyższą dotąd (SOTA) skuteczność [1]. Pomimo kodowania wyłącznie krótkozasięgowych cech molekularnych, modele te przewyższają podejścia oparte na GNNs oraz PLMs. Eksperymenty kontrolne z losowym tasowaniem sekwencji oraz zliczaniem aminokwasów potwierdzają, że fingerprinty – mimo iż z natury lokalne - wystarczają do wysokiej jakości predykcji właściwości peptydów. Nasze wyniki podważają domniemanie o konieczności modelowania oddziaływań dalekiego zasięgu i wskazują fingerprinty molekularne jako skuteczną, odporną na szum, oraz obliczeniowo efektywną metodę dla predykcji właściwości peptydów.

### Referencje

1. Adamczyk, J.; Ludynia, P.; Czech, W. Molecular Fingerprints Are Strong Models for Peptide Function Prediction. *arXiv preprint*, 2025, arXiv:2501.17901.

## Synergistyczna immunoterapia przeciwnowotworowa celująca w LAG-3+PD-L1 poprzez koadministrację durwalumabu i flawonoidu

P-02

Konrad Barnowski<sup>1,2</sup>, Wen Zhang<sup>3</sup>, Judyta Cielecka-Piontek<sup>4</sup>, Łukasz Skalniak<sup>2</sup>, Jacek Plewka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. prof. S. Łojasiewicza 11, Kraków, Polska

<sup>2</sup> Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Gronostajowa 2, Kraków, Polska

<sup>3</sup> College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, 866 Yuhangtang Rd, Hangzhou, Chiny

<sup>4</sup> Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego, ul. Fredry 10, Poznań, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [konrad.barnowski@doctoral.uj.edu.pl](mailto:konrad.barnowski@doctoral.uj.edu.pl)

LAG-3 to białko błonowe występujące na limfocytach T i B oraz komórkach NK. Po związaniu z ligandami, zatrzymuje ono aktywację wspomnianych komórek. Niektóre nowotwory dokonują nadmiernej ekspresji liganda LAG-3, białka MHCII, w konsekwencji prowadząc do ucieczki spod kontroli układu immunologicznego [1].

W naszych badaniach potwierdziliśmy, że synergistyczna terapia, oparta na jednoczesnym podaniu durwalumabu (leku anty-PD-L1) i flawonoidu jest skuteczna *in vivo*. Wykazaliśmy, że flawonoid bezpośrednio wiąże się do LAG-3 ( $MST$ ,  $K_D=4,6 \mu M$ ) oraz blokuje interakcje LAG-3/MHCII (HTRF,  $IC_{50}=19,3 \mu M$ ), potwierdzając jego mechanizm immunoterapeutyczny. Formułując flawonoid w syntetycznym polimerze udało się zwiększyć jego rozpuszczalność w wodzie, umożliwiając doustną administrację. Koadministracja z durwalumabem, okazała się skuteczna *in vivo* (model nowotworu jelita grubego hPD-L1-MC38 u myszy C57BL/6), zmniejszając masę guza lepiej niż składniki osobno. Nasze wyniki stanowią pierwszy dowód synergicznego działania przeciwciała monoklonalnego anty-PD-L1 i małych cząsteczek ukierunkowanych na interakcje LAG-3/MHCII *in vivo*. Odkrycia te otwierają nowe możliwości opracowania opłacalnych i potencjalnie dostępnych doustnie leków komplementarnych do obecnie stosowanych terapii.

Badania zostały przeprowadzone w ramach grantu OPUS „Innowacyjne małowcząsteczkowe inhibitory celujące w LAG-3 i kompleks MHCII do

immunoterapii nowotworów”, sfinansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (numer umowy UMO-2024/53/B/NZ7/02801).

## Referencje

- 1 Maruhashi, T.; Sugiura, D.; Okazaki, I.; Okazaki, T. LAG-3: from molecular functions to clinical applications, *J Immunother Cancer.*, 2020, 8(2), e001014.

P-03

## Receptory purynergiczne jako cele terapeutyczne – wysokie powinowactwo a selektywność leków. Czy klastry boru mogą stanowić rozwiązanie?

Katarzyna Bednarska-Szczepaniak<sup>1,2</sup>, Zbigniew J. Leśnikowski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Chemii Medycznej, Instytut Biologii Medycznej PAN, ul. Lodowa 106, Łódź, Polska

<sup>2</sup> Krajowa Biblioteka Związków Chemicznych POL-OPENSREEN, Instytut Biologii Medycznej PAN, ul. Lodowa 106, Łódź, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [kbednarska@cbm.pan.pl](mailto:kbednarska@cbm.pan.pl)

Receptory purynergiczne P1, zwłaszcza podtypy A<sub>2A</sub> i A<sub>3</sub>, są atrakcyjnymi celami terapeutycznymi, lecz w projektowaniu ligandów utrzymanie wysokiego powinowactwa przy jednoczesnym uzyskaniu selektywności pozostaje kluczowym ograniczeniem. Klastry boru (karborany), jako bioizostery pierścienia fenyloвого i trójwymiarowe farmakofory hydrofobowe mogą być częściowym rozwiązaniem tego dylematu. W naszych badaniach oceniliśmy, czy modyfikacja adenozyne klastrami boru w porównaniu z podstawnikiem fenylowym pozwala zwiększyć selektywność względem danych podtypów receptorów purynergicznych przy zachowaniu powinowactwa. Zsyntetyzowane i ocenione biblioteki pochodnych adenozyne z klastrami boru porównano z analogami fenyłowymi pod kątem wiązania do A<sub>2A</sub>/A<sub>3</sub> (radioligand displacement assay) i w dokowaniu do receptora *in silico* [1, 2]. Aktywność funkcjonalną oceniano w testach

aktywacji płytek oraz funkcji neutrofilii *in vitro* [3,4]. W badaniach porównawczych karboran vs fenyl uzyskano zgodność między wynikami dokowania molekularnego a testami wiązania ligandu. W porównywalnych parach (karboran ↔ fenyl) analogi z klastrami boru wykazywały z reguły niższe bezwzględne powinowactwo, ale wyższą selektywność względem receptora A<sub>3</sub>, co wskazuje na możliwość kompromisu między selektywnością a powinowactwem do receptora.

### Referencje

1. Bednarska-Szczepaniak, K.; Mieczkowski, A.; Kierozalska, A.; Pavlović Saftić, D.; Głabała, K.; Przygodzki, T.; Stańczyk, L.; Karolczak, K.; Watała, C.; Rao, H.; Gao, Z.-G.; Jacobson, K. A.; Leśnikowski, Z. J. Synthesis and evaluation of adenosine derivatives as A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> and A<sub>3</sub> adenosine receptor ligands containing boron clusters as phenyl isosteres and selective A<sub>3</sub> agonists. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 223, 113607.
2. Vincenzi, M.; Bednarska, K.; Leśnikowski, Z. J. Comparative Study of Carborane- and Phenyl-Modified Adenosine Derivatives as Ligands for the A<sub>2A</sub> and A<sub>3</sub> Adenosine Receptors Based on a Rigid *in Silico* Docking and Radioligand Replacement Assay. *Molecules*, 2018, 23(8), 1846.
3. Bednarska, K.; Olejniczak, A. B.; Wojtczak, B. A.; Sułowska, Z.; Leśnikowski, Z. J. Adenosine and 2'-deoxyadenosine modified with boron cluster pharmacophores as new classes of human blood platelet function modulators. *ChemMedChem*, 2010, 5(5), 749–756.
4. Bednarska, K.; Olejniczak, A. B.; Piskala, A.; Klink, M.; Sułowska, Z.; Leśnikowski, Z. J. Effect of adenosine modified with a boron cluster pharmacophore on reactive oxygen species production by human neutrophils. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2012, 20(22), 6621–6629.

## $\beta$ -kariofilen łagodzi zaburzenia behawioralne indukowane MK-801 w szczurzym modelu schizofrenii

Magdalena Białon<sup>1</sup>, Katarzyna Popiołek-Barczyk<sup>1</sup>, Mateusz Królewski<sup>1</sup>, Żaneta Broniowska<sup>1</sup>, Agnieszka Wąsik<sup>1</sup>, Katarzyna Starowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [bialon@if-pan.krakow.pl](mailto:bialon@if-pan.krakow.pl)

**Wstęp:** Schizofrenia jest przewlekłą chorobą psychiczną dotykającą około 240 milionów osób na świecie [1] i objawia się symptomami pozytywnymi (halucynacje), negatywnymi (wycofanie społeczne) oraz deficytami poznawczymi (zaburzenia pamięci). Obecne leki przeciwpsychotyczne skutecznie łagodzą objawy pozytywne, lecz mają ograniczony wpływ na pozostałe symptomy, a około 30% pacjentów pozostaje opornych na leczenie [2], co podkreśla potrzebę nowych strategii terapeutycznych.  $\beta$ -kariofilen (BCP), naturalny terpen obecny m.in. w *Cannabis sativa* L., działa jako selektywny agonista receptora kannabinoidowego typu 2 (CB2R) i wykazuje właściwości przeciwzapalne, antyoksydacyjne i przeciwłękowe [3]. Dysfunkcja układu endokannabinoidowego obserwowana w badaniach przedklinicznych i klinicznych sugeruje jego rolę w patofizjologii schizofrenii.

**Metody:** Samce szczurów szczepu Wistar otrzymały dootrzewnową iniekcję BCP (25 mg/kg) oraz MK-801 (0.1 mg/kg), który stanowi zwierzęcy model schizofrenii, odzwierciedlający charakterystyczne dla tej choroby zachowania. Po 30 minutach od ostatniego podania, zostały przeprowadzone testy behawioralne: otwartego pola (aktywność motoryczna), podniesionego labiryntu krzyżowego (lęk), interakcji socjalnych (zachowania socjalne) oraz rozpoznawania nowego obiektu (zaburzenia pamięci).

**Rezultaty:** BCP zniwelowało hiperaktywność indukowaną podaniem MK-801. W teście podniesionego labiryntu krzyżowego, podanie BCP zwiększyło u szczurów % czasu spędzonego w otwartych ramionach aparatu. W teście rozpoznawania nowego obiektu, podanie MK-801 wywołało silne zaburzenia pamięci, natomiast podanie BCP istotnie zniwelowało ten efekt i przywróciło parametry do wartości kontrolnych. W teście interakcji socjalnych, BCP nie odwróciło obniżonej liczby i czasu interakcji socjalnych wywołanych podaniem MK-801.

**Wnioski:** BCP wykazuje działanie prokognitywne i przeciwłękowe oraz łagodzi hiperaktywność w zwierzęcym modelu schizofrenii. Wyniki wskazują, że modulacja układu kannabinoidowego może stanowić obiecujący kierunek terapeutyczny w leczeniu tej choroby.

Badanie zostało sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (NCN) w ramach grantu nr 2022/45/N/NZ7/04059.

### Referencje

1. Institute of Health Metrics and Evaluation (IHME). Global Health Data Exchange (GHDx). <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/27a7644e8ad28e739382d31e77589dd7> (Acc. 25 Sep2021).
2. Diniz E, Fonseca L, Rocha D, Trevizol A, Cerqueira R, Ortiz B, Brunoni AR, Bressan R, Correll CU, Gadelha A. Treatment resistance in schizophrenia: a meta-analysis of prevalence and correlates. *Braz J Psychiatry*. 2023, 45(5):448-458.
3. Ricardi C, Barachini S, Consoli G, Marazziti D, Polini B, Chiellini G. Beta-Caryophyllene, a Cannabinoid Receptor Type 2 Selective Agonist, in Emotional and Cognitive Disorders. *Int J Mol Sci*. 2024 25(6):3203.

## Badanie przeciwłękowego i neurochemicznego mechanizmu mikrodawkowania psylocybiny u szczurów

P-05

Agnieszka Bysiek<sup>1</sup>, Maja Gramatyka<sup>1</sup>, Krystyna Gołębiewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zespół II, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja, Zakład Farmakologii i Biostruktury Mózgu, 31-343 Kraków, ul. Smętna 12, Polska, adres e-mail osoby prezentującej: [bysiek@if-pan.krakow.pl](mailto:bysiek@if-pan.krakow.pl)

Psylocybina, reprezentująca klasę serotonergicznych psychodelików wzbudza obecnie zainteresowanie ze względu na sugerowane działanie terapeutyczne w zaburzeniach lękowych, depresji, w terapii bólu oraz w chorobach neurodegeneracyjnych takich jak choroba Parkinsona czy choroba Alzheimera. W badaniach klinicznych i modelach zwierzęcych

wykazano skuteczność jednorazowego podania psylocybiny w leczeniu lęku i lekoopornej depresji. Alternatywą do klinicznie efektywnych dawek psychodelików jest stosowanie ich małych dawek, ale podawanych w dłuższym okresie czasu czyli w schemacie „mikrodawkowania”. Mikrodawkowanie może dawać korzyści terapeutyczne, takie jak poprawa nastroju, kreatywności, zmniejszanie lęku, chronicznego bólu, bólu migrenowego, ale z małym ryzykiem działań niepożądanych, np. halucynacji czy zaburzeń postrzegania. Mikrodawkowanie definiowane jest jako kilkukrotne podanie psychodelików w różnych odstępach czasu w ilości 1/10 dawki wywołującej efekt terapeutyczny.

Celem naszych badań było określenie efektywności psylocybiny w dawce 0.06 mg/kg (sc) podawanej dorosłym szczurom Wistar-Han przez okres 2 tygodni w odstępach dwudniowych. Psylocybina wywoływała niewielkie działanie halucynogenne określane w teście potrząsania głową (Wet Dog Shakes; WDS), działała przeciwlękowo w teście podniesionego labiryntu (Elevated Plus Maze; EPM), ale nie wykazała tego działania w teście jasnego/ciemnego pudełka (Light Dark Box; LDB). Obserwowano ponadto niewielki, ale znamieny statystycznie wzrost aktywności motorycznej i zachowania kompulsywnego na wolnym polu oraz zwiększenie eksploracji oświetlonego pola centralnego (Open Field Test; OFT). Nie stwierdzono wpływu na funkcje kognitywne w teście rozpoznania nowego obiektu (Novel Object Recognition Test, NORT) oraz nie obserwowano oksydacyjnego uszkodzenia materiału genetycznego we frakcji jądrowej pozyskanej z kory czołowej i hipokampa szczurów.

Otrzymane wyniki wskazują, że psylocybina podawana w schemacie mikrodawkowania może wpływać korzystnie na poziom lęku, aktywność poszukiwawczą zwierząt i nie powodować zmian uszkodzeniowych DNA, ale może wywoływać działanie psychotomimetyczne.

## **Behavioral effects of adolescent social isolation and resocialization in female mice**

P-06

Magdalena Chrószcz<sup>1</sup>, Klaudia Misiótek<sup>1</sup>, Łukasz Szumiec<sup>1</sup>, Jan Rodriguez Parkitna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Molecular Neuropharmacology, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, Smetna 12, 31-343 Krakow, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [chroszcz@if-pan.krakow.pl](mailto:chroszcz@if-pan.krakow.pl)

Adolescence is a critical period for the development of adult social and emotional behaviors. It is associated with increased sensitivity to social cues and heightened neuroplasticity in neuronal pathways involved in social interactions. Isolation disrupts these processes but it remains unclear to what extent its effects are persistent or whether they are reversible. In this study, female C57BL/6J mice were socially isolated for 2 weeks between PND 21 and 35, and subsequently resocialized with same-sex, age-matched peers. Behavioral testing was conducted in two separate cohorts after 2 and 7 weeks of social housing. The test battery included assessment of anxiety-like behavior, social interaction, social dominance, and cognitive function. Our preliminary results indicated no significant behavioral effects of adolescent isolation stress at either time point. However, a trend toward reduced time spent in the center of the open field was observed in a younger cohort. This result suggests a mild and possibly transient increase in anxiety-like behavior after isolation. Further studies with larger sample sizes and inclusion of both sexes are needed to clarify the long-term outcomes of adolescent social deprivation and their modulation by social reintegration.

## **Zróźnicowanie zmian w ekspresji proteomu mitochondrialnego komórek mikrogleju w odpowiedzi na degenerację neuronów vs astrocytów istoty czarnej mózgu szczura**

Tatsiana Chubukova<sup>1</sup>, Przemysław Mielczarek<sup>1,2</sup>, Justyna Kadłuczka<sup>1</sup>, Agata Maziak<sup>1</sup>, Adam Roman<sup>1</sup>, Katarzyna Z. Kuter<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN; Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Katedra Chemii Analitycznej i Biochemii, Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica; al. Adama Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [chubuk@if-pan.krakow.pl](mailto:chubuk@if-pan.krakow.pl)

Funkcjonowanie astrocytów i neuronów jest silnie ze sobą powiązane, zwłaszcza w procesach metabolizmu energetycznego. Co ciekawe, śmierć astrocytów aktywuje odpowiedź mikrogleju w znacznie większym stopniu niż degeneracja neuronów.

Celem badania było porównanie proteomu mitochondrialnego komórek mikrogleju aktywowanych degradacją neuronów lub astrocytów. 7-dniowa infuzja fluorocytrynianu do istoty czarnej (SN) uszkodziła 30% astrocytów. Podobną degenerację neuronów dopaminergicznych wywołano podaniem 6-OHDA do MFB [doi: 10.1007/s12035-017-0529z]. Mikroglej, wyselekcjonowany z tkanki SN mózgu za pomocą FACS, został zbadany pod kątem proteomu mitochondrialnego przy użyciu timsTOF Pro 2 i spektrometrii masowej. Analizę danych przeprowadzono za pomocą Perseus 2.0.11, Python 3.11.7, STRING DB.

W odpowiedzi na śmierć astrocytów komórki mikrogleju zwiększyły ekspresję 8 białek mitochondrialnych i indukowały ekspresję dodatkowych 23 białek. Zgrupowane zostały w 4 główne klastry: 1) białka opiekuńcze, w tym zależne od ATP; 2) metabolizm pirogronianu i cykl kwasu cytrynowego; 3) aktywność regulatora syntazy tlenu azotu; 4) mitochondrialny kompleks syntazy ATP transportującej protony, fragment katalityczny F(1), wiązanie angiostatyny. Zaobserwowano ponadto, że zwiększenie ilości Cox4i1, Vat1, Hspa9, Atp5f1c, Vdac2 i Prdx1 było specyficzne dla aktywacji mikrogleju zależnej od astrocytów.

W odpowiedzi na degenerację neuronów dopaminergicznych komórki mikrogleju zwiększyły ekspresję tylko 2 białek mitochondrialnych i indukowały ekspresję 4 białek. Białka te utworzyły 2 klastry: 1) metabo-

lizm kwasu 2-oksokarboksylowego, cykl TCA (Got2, Idh2, Ldha, Nme2); 2) aktywność dehydrogenazy mleczanowej (Calm3, Ywhah). Wszystkie 6 białek uległo również zmianie w odpowiedzi mikrogleju na śmierć astrocytów.

Co ciekawe, białko Park7 (DJ-1), biorące udział w mechanizmach choroby Parkinsona, wykazywało zróżnicowaną ekspresję w mikrogleju aktywowanym przez śmierć astrocytów, ale nie w mikrogleju aktywowanym przez neurodegenerację. Dane te wskazują, że zarówno umierające astrocyty, jak i neurony wywołują zbliżone adaptacje mitochondrialne w aktywowanym mikrogleju, jednak w różnym stopniu. Mikroglej aktywowany przez dysfunkcję astrocytów jest znacznie bardziej patogeniczny i może przyczyniać się do rozwoju choroby Parkinsona.

Finansowanie: NCN UMO-2017/27/B/NZ7/00289, statut IFPAN, przy udziale infrastruktury CEPHARES.

## **Cell Painting + AI oraz proteomika fibroblastów w repozycjonowaniu leków dla zespołu PACS2 (DEE66)**

P-08

Dominik Cysewski<sup>1,2</sup>, Kacper Łukasiewicz<sup>4</sup>, Jeroen Esselink<sup>3</sup>, Gurvan Mahe<sup>3</sup>, Tomasz Kowalczyk<sup>1</sup>, Arkadiusz Żbikowski<sup>1</sup>, Gabriela Żynel<sup>1</sup>, Peter Racz<sup>3</sup>, Małgorzata Kośła<sup>2</sup>, Piotr Kośła<sup>2</sup>, André van Marle<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska

<sup>2</sup> Fundacja PACS2 Research Foundation, Warszawa, Polska

<sup>3</sup> Charles River Laboratories, Lejda, Holandia

<sup>4</sup> Uniwersytet VIZJA, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [dominik.cysewski@umb.edu.pl](mailto:dominik.cysewski@umb.edu.pl)

Zespół PACS2 (DEE66) jest ultraradką encefalopatią padaczkową, dla której nie ma leczenia przyczynowego. Repozyjonowanie leków wymaga efektywnego, powtarzalnego readoutu komórkowego. Do badania przesiewowego (screeningu) wykorzystano linie fibroblastów wypro-

wadzone z materiału pobranego od sióstr bliźniaczek: jednej z mutacją PACS2 E209K oraz drugiej – bez mutacji (WT). Charles River Laboratories przeprowadziło eksperyment metodą Cell Painting z obrazowaniem w płytkach 384-dołkowych (CV8000) oraz ekstrakcją >3500 cech na komórkę (CellProfiler). Dane analizowano w podejściu „unbiased” w KNI-ME (PCA), a XGBoost wykorzystano do klasyfikacji „zdrowy/chorobowy” i wyliczenia odsetka komórek o fenotypie zdrowym na dołek. Przesiano ~6000 związków pod kątem repozycjonowania, a aktywność wybranych substancji weryfikowano w seriach dawko-zależnych. Zebrane dane obrazowe analizowane były w alternatywnym pipeline obliczeniowym SPRING AI, uwzględniającym informacje patomechanizmie mutacji, dostarczając oddzielnej listy hitów. Równolegle wykonano analizę transkryptomyczną oraz ilościową proteomikę LC-MS/MS fibroblastów PACS2 vs WT. Do oznaczeń proteomicznych wykorzystano <4000 komórek na dołek. Model zapewnił szerokie okno testu. Zidentyfikowano 68 hitów, z czego 30 potwierdzono jako zwiększające odsetek komórek o fenotypie zdrowym bez spadku liczby jąder. Analiza w przestrzeni PCA (CCDC) pozwoliła wskazać 5 związków priorytetowych. Proteomika dostarczyła niezależnej warstwy mechanistycznej do interpretacji fenotypu i priorytetyzacji kandydatów.

Integracja Cell Painting/AI z proteomiką w modelu o ograniczonym tle genetycznym tworzy skalowalną platformę medycyny precyzyjnej dla chorób rzadkich: od fenotypowego screeningu „rescue” po mechanistyczne uwiarygodnienie kandydatów lub ich eliminację.

## Referencje

1. Zbikowski A, Kowalczyk T, Kasperek P, Prohazka J, Sedlacek R, Ciborowski M, Cysewski D, Łukasiewicz K. Understanding PACS2 syndrome's pathomechanism by studying E209K and E211K mutations. *Mamm Genome*. 2025 Jun;36(2):363-371. doi: 10.1007/s00335-024-10098-5. Epub 2024 Dec 30. PMID: 39738582.

## Alternatywna rola ligazy PafA oraz jej znaczenie dla rozwoju i fizjologii *Streptomyces venezuelae*

P-09

Jan Czachorowski<sup>1</sup>, dr hab. Marcin Szafran<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Molekularnej, Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, Fryderyka Joliot-Curie 14a, 50-300 Wrocław, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [jan.czachorowski.m@gmail.com](mailto:jan.czachorowski.m@gmail.com)

*Streptomyces* to glebowe bakterie z grupy promieniowców, odpowiedzialne za produkcję wielu metabolitów wtórnych, w tym antybiotyków. Wśród promieniowców występuje unikatowa, ograniczona wyłącznie do tej grupy, modyfikacja potranslacyjna białek (PTM) zwana pupylacją. Znaczenie pupylacji w komórce jest analogiczne do eukariotycznej ubikwitynacji i w głównej mierze wiąże się z kierowaniem docelowych białek do degradacji w proteasomie poprzez kowalencyjne przyłączenie do nich białka Pup. Ligaza PafA jest kluczowym enzymem tego procesu i odpowiada za wytworzenie połączenia między Pup a docelowym białkiem [1].

Delecja genu *pafA* w *Streptomyces venezuelae* powoduje zaburzenia rozwoju, takie jak powstawanie zarodników pozbawionych nukleoidu oraz spadek odporności na stres. Co istotne, zaobserwowane zaburzenia nie występują w przypadku delecji pozostałych białek systemu pupylacji [2]. Sugeruje to istnienie alternatywnej funkcji PafA, niezwiązanej z jej aktywnością ligazy. Funkcję tę badano w niniejszej pracy z wykorzystaniem bakteryjnego systemu dwuhybrydowego. Wykazano brak interakcji PafA z wybranymi białkami, a jednocześnie przeszukano bibliotekę genomową *S. venezuelae*, co ujawniło trzech potencjalnych partnerów białkowych PafA, którzy mogą wyjaśniać jej alternatywną rolę w komórce oraz obserwowany fenotyp.

### Referencje

1. Pearce, M.; Mintseris, J. Ubiquitin-like protein involved in the proteasome pathway of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2008, 322, 1104-1107.
2. Szafran, M.; i in. Nieopublikowana praca.

## Pochodne triazyny jako dualne inhibitory 5-HT<sub>6</sub>/FAAH o potencjalnym działaniu przeciwko chorobie Alzheimera

Kinga Czarnota-Łydka<sup>1,2</sup>, Barbara Mordyl<sup>3</sup>, Monika Głuch-Lutwin<sup>3</sup>, Grzegorz Satała<sup>4</sup>, Patryk Pyka<sup>1,2</sup>, Leonardo Brunetti<sup>5</sup>, Luca Piemontese<sup>5</sup>, Katarzyna Kucwaj-Brysz<sup>1</sup>, Antonio Carrieri<sup>5</sup>, Jadwiga Handzlik<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Medyczna 9, 30-688, Kraków, Polska

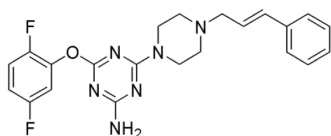
<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, św. Łazarza 15, 31-530, Kraków, Polska

<sup>3</sup> Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688, Kraków, Polska

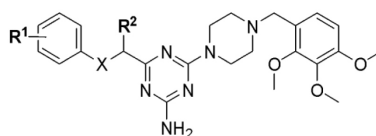
<sup>4</sup> Katedra Chemii Leków, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN, Smętna 12, 31-343, Kraków, Polska

<sup>5</sup> Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet im. Aldo Moro w Bari, Via Orabona 4, 70125, Bari, Włochy  
adres e-mail osoby prezentującej: [kinga.czarnota@doctoral.uj.edu.pl](mailto:kinga.czarnota@doctoral.uj.edu.pl)

Choroba Alzheimera (AD) to wyniszczające schorzenie neurologiczne dotykające około 50 milionów ludzi na całym świecie, charakteryzujące się przede wszystkim degradacją synaps oraz postępującym pogorszeniem funkcji poznawczych. Ze względu na złożoną, wieloczynnikową etiologię AD, projektowanie ligandów wielocelowych (MTDLs) stało się obiecującą strategią terapeutyczną w walce z tą skomplikowaną patologią. W ramach niniejszych badań zaprojektowano i zsyntezowano trzy nowe pochodne 1,3,5-triazyny – **KC-32**, **MG-3** i **PPK-30** – jako potencjalne dualne ligandy receptora serotoninowego 5-HT<sub>6</sub> (5-HT<sub>6</sub>R) oraz enzymu hydrolazy amidów kwasów tłuszczowych (FAAH).



**KC-32**



**MG-3** R<sup>1</sup>: H, R<sup>2</sup>: diMe; X: S

**PPK-30** R<sup>1</sup>: H, R<sup>2</sup>: diMe; X: Se

Rysunek 1. Struktury badanych związków

W ramach oceny biologicznej wyznaczono powinowactwo badanych pochodnych do receptora 5-HT<sub>6</sub> oraz ich aktywność hamującą wobec FAAH. Badania uzupełniono o testy funkcjonalne i ocenę neuroprotekcji na linii HT-22. Związki te wykazały znaczący potencjał neuroprotektoryny w modelach toksyczności wywołanej  $\beta$ -amyloidem i glutaminianem.

Badania zostały częściowo sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (grant UMO-2022/45/N/NZ7/01850 oraz UMO-2023/51/B/NZ7/02177) oraz Studenckie Koło Naukowe Chemii Medycznej działające przy Katedrze Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków UJ CM.

## Wpływ związku CP-101,606 na ekspresję oraz aktywność enzymów cytochromu P450 w hodowli 2D i 3D ludzkich komórek wątroby

P-11

Przemysław Jan Danek<sup>1</sup>, Władysława Anna Daniel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [danek@if-pan.krakow.pl](mailto:danek@if-pan.krakow.pl)

**Wstęp:** Ludzkie komórki wątroby (hepatocyty) są uważane za złoty standard w badaniach metabolizmu i toksyczności leków. Hepatocyty zawierają większość enzymów niezbędnych do metabolizmu leków, w tym cytochromy P450 (CYP). Ostatnie badania wykazały, że hodowle hepatocytów w modelu 3D (sferoidy) utrzymywały żywotność i funkcje wątroby na poziomie fizjologicznym przez co najmniej 5 tygodni, bez zmian aktywności enzymów CYP podczas długotrwałej kultury. Hepatocyty w modelu 3D zachowują profil metaboliczny świeżo wyizolowanych hepatocytów, co czyni je odpowiednimi do badań *in vitro* długoterminowego metabolizmu czy toksyczności. Związek CP-101,606 jest selektywnym antagonistą podjednostki GluN2B receptora NMDA i może być

wykorzystywany w leczeniu zaburzeń depresyjnych. Nasze wcześniejsze badania wykazały jego wpływ na enzymy CYP w wątrobie szczura.

**Materiały i Metody:** Eksperymenty przeprowadzono *in vitro* przy użyciu ludzkiej linii komórkowej HepaRG. Sferoidy (3D) lub komórki (2D) traktowano różnymi stężeniami CP-101,606 (0,05-200  $\mu\text{M}$ ) przez okres 7 dni, oceniając cytotoksyczność za pomocą testów CCK-8, MTT i Cell-Titer-Glo® 3D. Następnie związek CP-101,606 dodano do medium hodowlanego w stężeniach terapeutycznych: 0,1, 0,3 i 1  $\mu\text{M}$ . Aktywność enzymów CYP oznaczono w medium hodowlanym przy użyciu specyficznych reakcji. Stężenia substratów i ich metabolitów w medium hodowlanym mierzono za pomocą HPLC z detekcją UV lub fluorescencyjną. Ekspresję genów CYP (poziomy mRNA) określono metodą qRT-PCR.

**Wyniki:** Najwyższe badane stężenia, znacznie przekraczające poziomy terapeutyczne (200  $\mu\text{M}$ ), okazały się toksyczne dla hodowli 2D i 3D. Stosowane stężenia terapeutyczne nie były cytotoksyczne dla komórek wątroby. 7 dniowa ekspozycja na związek CP-101,606 skutkowała obniżeniem aktywności enzymu CYP2D6 dla wszystkich badanych stężeń, zarówno w modelu 2D, jak i 3D. Stężenie 0,3  $\mu\text{M}$  zwiększyło aktywność enzymu CYP2C9 w hodowli 3D. Wszystkie badane stężenia terapeutyczne CP-101,606 zwiększały ekspresję genu *CYP1A2* w modelu 2D, a najwyższe stosowane stężenia terapeutyczne obniżały ekspresję enzymu CYP2D6 w obu modelach. Natomiast najwyższe stężenie terapeutyczne badanego związku zwiększyło ekspresję genu *CYP3A4* w modelu 3D. Zastosowane specyficzne induktory enzymatyczne zwiększały ekspresję i aktywność odpowiednich enzymów CYP.

**Dyskusja:** Otrzymane wyniki wskazują, że model hodowli 3D jest bardziej czuły na zmiany aktywności enzymów CYP, a wyniki aktywności są wyższe niż w modelu 2D. W wątrobie obserwuje się hamujące działanie CP-101,606 na aktywność CYP2D6 w obu modelach. Ponieważ CYP2D6 jest zaangażowany w metabolizm wielu substancji neuroaktywnych, można założyć, że CP-101,606 oprócz działania farmakologicznego, może również spowolnić metabolizm jednocześnie podawanych substratów i prowadzić do interakcji farmakokinetycznych między lekami.

Podziękowania: Projekt współfinansowany z projektu OPUS 26 nr 2023/51/B/NZ4/01847 z Narodowego Centrum Nauki (Kraków, Polska) oraz ze środków statutowych Instytutu Farmakologii im J. Maja Polskiej Akademii Nauk (Kraków, Polska).

## Wpływ naturalnych związków bioaktywnych na ruchliwość larw *Danio rerio*

Katarzyna Dominiak<sup>1,2</sup>, Michał Szulc<sup>3</sup>, Maciej Stawny<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej, Rokietnicka 3, 60-806 Poznań

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Szkoła Doktorska, Bukowska 70, 60-812 Poznań

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Zakład Farmakologii, Rokietnicka 3, 60-806 Poznań

adres e-mail osoby prezentującej: [katarzyna.dominiak@student.ump.edu.pl](mailto:katarzyna.dominiak@student.ump.edu.pl)

Naturalne związki bioaktywne, takie jak honokiol, magnolol, cyjanidyna, fisetyna, nobiletyna i tangeretyna, cieszą się coraz większym zainteresowaniem ze względu na działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne i przeciwutleniające. Dodatkowo coraz więcej badań wskazuje, że niektóre z tych substancji mogą aktywować jądrowy receptor FXR, który odgrywa kluczową rolę w regulacji metabolizmu lipidów i ochronie wątroby. Tym samym w kontekście chorób wątroby związanych z żywieniem pozajelitowym, modulowanie aktywności FXR może stanowić obiecujące podejście terapeutyczne. Celem niniejszego badania była ocena wpływu związków na aktywność ruchową larw *Danio rerio*.

Dla każdego związku przygotowano po trzy stężenia roztworów (500, 100 i 10 µg/l), jednocześnie nie przekraczając maksymalnego stężenia DMSO wynoszącego 0,5%. Larwy były eksponowane na działanie roztworów przez 48 godzin (3dpf - 5dpf), a ich aktywność mierzono na podstawie odległości przebytej w warunkach jasnych i ciemnych. Ocena ruchliwości organizmów umożliwiła określenie aktywności neurobehavioralnej i wpływu związku na organizm.

Cyjanidyna znacznie zmniejszała ruchliwość larw we wszystkich stężeniach (10–500 µg/l;  $p < 0,01$ ), co wskazało działanie uspokajające. Fisetyna wywoływała działanie uspokajające w stężeniu 500 µg/l ( $p = 0,012$ ), natomiast działanie obserwowane w stężeniu 100 µg/l było podobne, ale nie osiągnęło istotności statystycznej. Honokiol i magnolol wywoływały głównie działanie uspokajające przy stężeniu 500 µg/l ( $p = 0,0025$  i  $p = 0,0023$ ). Nobiletyna umiarkowanie zmniejszała ruchliwość przy stężeniu 500 µg/l ( $p = 0,037$ ), natomiast tangeretyna silnie zmniejszała ruchliwość we wszystkich stężeniach ( $p < 0,001$ ).

Wyniki badania sugerują, że wybrane związki mogą modulować aktywność ruchową larw *Danio rerio* w sposób zależny od stężenia. Dlatego też mogą one potencjalnie wpływać na funkcjonowanie układu nerwowego i być stosowane jako naturalne modulatory neuroaktywności.

Podziękowania: Autorzy pragną podziękować pani Emilii Cichej (Zwierzętarnia, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu) za udostępnienie sprzętu badawczego i larw *Danio rerio*, co przyczyniło się do pomyślnego zakończenia badania.

Finansowanie: Praca została sfinansowana z grantu OPUS nr 2022/45/B/NZ7/01056 Narodowego Centrum Nauki.

P-13

### **Ligand-specific modulation of 5-HT1A–5-HT2B receptor dimerization revealed by FRET analysis**

Magdalena Kolasa<sup>1</sup>, Ewa Błasiak<sup>2</sup>, Julia Stawiarz<sup>2</sup>, Karolina Dobranowska<sup>2</sup>, Paulina Pabian<sup>2</sup>, Joanna Solich<sup>2</sup>, Ryszard Bugno<sup>3</sup>, Marta Dziedzicka-Wasylewska<sup>1,2</sup>, Agata Faron-Górecka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, Zakład Farmakologii, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Zakład Biochemii Fizycznej, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

<sup>3</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie, Zakład Chemii Leków, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

adres e-mail osoby prezentującej: [gorecka@if-pan.krakow.pl](mailto:gorecka@if-pan.krakow.pl)

Klasyczne substancje psychodeliczne, w tym psylocyna, wywierają swoje główne efekty poprzez aktywację receptora serotoninowego 5-HT2A, który odgrywa kluczową rolę w modulacji percepcji, nastroju oraz potencjału terapeutycznego tych związków. Niemniej coraz więcej danych wskazuje, że efekty tych substancji mogą być także modulowane poprzez ich interakcje z innymi receptorami serotonergicznymi, których znaczenie pozostaje w dużej mierze nieznane.

Do tej grupy należą receptory 5-HT1A oraz 5-HT2B, do których psylocyna wykazuje odpowiednio umiarkowane (63nM) i wysokie powinowactwo (4.7nM) [1]. Wykazano, że receptory serotoniny 5-HT1A i 5-HT2B mogą tworzyć heterodimery oraz współklastrować w błonie komórkowej neuronów serotonergicznym, a ich współobecność moduluje pobudliwość neuronów poprzez regulację kanałów potasowych zależnych od  $Ca^{2+}$  [2]. Wyniki te wskazują, że interakcje pomiędzy tymi receptorami stanowią istotny poziom regulacji funkcji neuronów serotonergicznym. Niewiele jednak wiadomo na temat wpływu poszczególnych ligandów serotonergicznym na dynamikę tych interakcji oraz ich organizację.

W tym kontekście zanalizowaliśmy w komórkach HEK293 zależne od obecności ligandów i zmienne w czasie interakcje współekspresujących receptorów znakowanych fluorescencyjnie. Do oceny bliskości receptorów zastosowano techniki Försterowskiego Rezonansowego Transferu Energii (FRET), w tym pomiary oparte na fotowysyłaniu akceptora oraz mikroskopii FLIM, natomiast wpływ aktywacji receptorów na sygnalizację wewnątrzkomórkową oceniano z wykorzystaniem techniki HTRF. Stymulacja selektywnymi agonistami indukowała wyraźne, specyficzne dla ligandów zmiany wydajności FRET, wskazujące na zróżnicowaną modulację dynamiki oddziaływania receptorów. Podczas gdy selektywni agonisci receptorów 5-HT1A oraz 5-HT2B prowadzili do obniżenia efektywności FRET, psylocyna utrzymywała podwyższony poziom bliskości receptorów, co może sugerować jej wpływ na stabilizację kompleksu 5-HT1A–5-HT2B.

Badania zostały sfinansowane z grantu OPUS NCN UMO-2024/53/B/NZ7/00671 (Kierownik: Agata Faron-Górecka) oraz z działalności statutowej Zakładu Farmakologii IF PAN w Krakowie.

Część badań została wykonana w oparciu z wykorzystaniem infrastruktury CEPHARES IF PAN współfinansowanej przez Unię Europejską – Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego w ramach Działania 4.2 Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020.

## Referencje

1. [www.guidetopharmacology.org](http://www.guidetopharmacology.org)
2. Benhadda A.; Delhay C.; Moutkine I.; Marques X.; Russeau M.; Le Magueresse C.; Roumier A.; Lévi S.; Maroteaux L. 5-HT1A and 5-HT2B receptor interaction and co-clustering regulate serotonergic neuron excitability. *iScience*. 2023, 26(8),107401.

## **Nowy agonista, związek MD5 moduluje dystrybucję receptora FPR2 w komórkach mikrogleju: badania w modelu immunoaktywacji**

Jakub Frydrych<sup>1</sup>, Alicja Majewska<sup>1</sup>, Ewa Trojan<sup>1</sup>, Agnieszka Basta-Kaim<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja, Polska Akademia Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

Mikroglej jest główną populacją komórek odpornościowych ośrodkowego układu nerwowego i odgrywa kluczową rolę w regulacji odpowiedzi zapalnej poprzez dynamiczną adaptację fenotypową do sygnałów środowiskowych. Przewlekły proces zapalny w mózgu stanowi istotny czynnik progresji chorób neurodegeneracyjnych. W mechanizmach terminacji procesu zapalnego duże znaczenie odgrywa sprzężony z białkiem G, receptor formylowych peptydów 2 (FPR2). Jego rola homeostaticzna wynika z możliwości mediowania sygnałów pro-zapalnych, jak i pro-wyciszających w zależności od specyfiki wiązania liganda (agonisty) i następczej aktywacji różnych wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych [1, 2]. Ekspresja FPR2 została opisana w wielu typach komórek odpornościowych, w tym mikrogleju [1]

Celem niniejszego badania była ocena wpływu przedłużonej, 24-godzinnej stymulacji lipopolisacharydem (LPS) oraz modulacji odpowiedzi immunologicznej tych komórek przez nowy, syntetyczny mocznikopochodny ligand – związek MD5 na dystrybucję receptora FPR2 w pierwotnych komórkach mikrogleju. Hodowle pierwotne zakładano z 1-2-dniowych osesków myszy C57BL/6J. Do analizy subkomórkowej lokalizacji FPR2 zastosowano konfokalną immunofluorescencję. Receptor FPR2 oraz marker mikrogleju Iba-1 barwiono przy użyciu znakowanych przeciwciał, cytoszkielekt aktynowy (F-aktyna) wizualizowano za pomocą fluorescencyjnej faloindy, a jądra komórkowe znakowano barwnikiem Hoechst. Analiza ilościowa obrazów fluorescencyjnych (system Opera Harmony) wykazała, że stymulacja LPS prowadzi do silnej translokacji FPR2 do jądra, natomiast kostymulacja LPS z MD5, powoduje jednocześnie znaczący spadek sygnału cytoplazmatycznego i wzmożoną lokalizację FPR2 zarówno w jądrze, jak i na błonie komórkowej.

Nasze wyniki wskazują, że lokalizacja receptora FPR2 podlega dynamicznej regulacji w mikrogleju w odpowiedzi na przedłużoną aktywację zapalną oraz modulację „pro-wyciszającą” przez zastosowany związek. Sugerujemy, że zmiany w dystrybucji receptora FPR2 mogą stanowić istotny mechanizm kontrolujący fenotyp mikrogleju oraz potencjalny punkt uchwytu dla strategii terapeutycznych ukierunkowanych na ograniczenie przewlekłego procesu zapalnego.

### Referencje

1. Tylek K, Trojan E, Regulska M, Lacivita E, Leopoldo M, Basta-Kaim A. Formyl peptide receptor 2, as an important target for ligands triggering the inflammatory response regulation: a link to brain pathology. *Pharmacol Rep.* 2021 Aug;73(4):1004-1019. doi: 10.1007/s43440-021-00271-x. Epub 2021 Jun 8. PMID: 34105114; PMCID: PMC8413167.
2. Trojan E, Leśkiewicz M, Lacivita E, Leopoldo M, Basta-Kaim A. The Formyl Peptide Receptor 2 as a Target for Promotion of Resolution of Inflammation. *Curr Neuropharmacol.* 2023 May 18;21(7):1482-1487. doi: 10.2174/1570159X20666220913155248. PMID: 36100993; PMCID: PMC10472803.

Supported by the grant no. 2021/43/B/NZ4/01133, National Science Centre, Poland (Task 2).

## **Wirtualny skrining biblioteki związków w poszukiwaniu potencjalnej polifarmakologii, obejmującej TAAR1, SERT, MAO-B**

Milena Dobrowolska<sup>1</sup>, Zbigniew Gajda<sup>1,2</sup>, Kamil Kuder<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum, Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, ul. Św. Łazarza 16, 31-530 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [zbigniew.gajda@doctoral.uj.edu.pl](mailto:zbigniew.gajda@doctoral.uj.edu.pl)

Polifarmakologia ośrodkowego układu nerwowego stanowi obiecujące podejście terapeutyczne w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych współtowarzyszących z zaburzeniami nastroju, m.in. chorobą Parkinsona ze współistniejącą depresją. Jednoczesna modulacja kilku układów monoaminergicznych może prowadzić do poprawy zarówno objawów motorycznych, jak i niemotorycznych [1]. Receptor związany z aminami śladowymi 1 (TAAR1), transporter serotoniny (SERT) oraz monoamino-oksydaza B (MAO-B) należą do celów białkowych istotnych w regulacji neuroprzekaznictwa dopaminergicznego i serotonergicznego, a ich skojarzona modulacja może stanowić obiecującą strategię terapeutyczną [2-3].

W niniejszej pracy przeprowadziliśmy wirtualny skrining biblioteki związków opracowanych w Katedrze Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków UJCM, w celu identyfikacji ligandów o potencjalnym, wielocelowym profilu aktywności wobec TAAR1, SERT i MAO-B. Badania wykonaliśmy z wykorzystaniem metod dokowania molekularnego oraz symulacji dynamiki molekularnej, co pozwoliło na wytypowanie związków o obliczonym, korzystnym profilu oddziaływań z wybranymi celami molekularnymi. Uzyskane wyniki stanowią punkt wyjścia do modyfikacji strukturalnych i dalszych badań eksperymentalnych w kontekście choroby Parkinsona ze współistniejącymi objawami depresyjnymi.

Badania częściowo finansowane ze środków statutowych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum – N42/DBS/000385. Prace wykonano w ramach SKN „Metody Komputerowe w poszukiwaniu substancji leczniczych”.

## Referencje

1. Gajda, Z.; Hawrylak, M.; Handzlik, J.; Kuder, K. Perry Disease: Current Outlook and Advances in Drug Discovery Approach to Symptomatic Treatment, *Int J Mol Sci*, 2024, 25(19), 10652.
2. Guan, W. The role of trace amine-associated receptor 1 (TAAR1) in the pathophysiology and treatment of depression, *Curr Neuropharmacol*, 2025, Online ahead of print.
3. Raevsky, OA.; Mukhametov, A.; Grigorev, VY.; Ustyugov, A. et al. Applications of Multi-Target Computer-Aided Methodologies in Molecular Design of CNS Drugs, *Curr Med Chem*, 2018, 25(39), 5293-5314.

## **Pierwsza kolekcja inhibitorów mitochondrialnej kinazy adenylanowej 4 (AK4) zidentyfikowana metodą wysokopręstowego screeningu związków naturalnych**

P-16

Sandra Gajewska<sup>1</sup>, Michał Piotr Marszał<sup>1</sup>, Magdalena Wujak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Chemii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, 85-089 Bydgoszcz

adres e-mail osoby prezentującej: [sandra.gajewska@cm.umk.pl](mailto:sandra.gajewska@cm.umk.pl)

Ludzka kinaza adenylanowa 4 (AK4) jest zlokalizowana w macierzy mitochondrialnej i pełni funkcję białka odpowiedzi na stres, kluczowego dla przeżycia i proliferacji komórek. Należy do rodziny fosfotransferaz i – ze względu na długość domeny LID – klasyfikowana jest jako kinaza adenylanowa typu długiego. AK4 odgrywa istotną rolę w regulacji apoptozy, funkcji mitochondriów oraz oporności na leki przeciwnowotworowe. Enzym ten promuje przeprogramowanie metabolizmu energetycznego poprzez przesunięcie szlaków w kierunku glikolizy, indukując przejście epitelialno-mezenchymalne, co sprzyja transformacji nowotworowej i przerzutowaniu [1]. W ostatnich latach AK4 zyskała znaczenie jako nowy marker diagnostyczny i prognostyczny oraz potencjalny cel terapeutyczny, szczególnie w raku płuca. Dane literaturowe wskazują

na istotną **nadekspresję AK4 w gruczolakoraku płuca** w porównaniu z tkanką prawidłową, przy czym jej **podwyższony poziom** koreluje z **bardziej zaawansowanym stadium choroby oraz niekorzystnym rokowaniem**. **Wyciszenie ekspresji AK4** ogranicza potencjał inwazyjny linii komórkowych raka płuca, co potwierdzono również w mysim modelu ksenograftu [2]. Pomimo rosnącego zainteresowania biologiczną funkcją AK4, w literaturze opisano dotychczas jedynie znikomą liczbę inhibitorów kinaz adenylanowych. Co istotne, najsilniejsze z nich – polifosforany dinukleotydów, np. diadenozyno-pentafosforan ( $Ap_5A$ ), nie hamują izoenzymów typu długiego, w tym AK4. W odpowiedzi na brak skutecznych modulatorów farmakologicznych, po raz pierwszy przeprowadziliśmy wysokoprzepustowy screening (HTS) biblioteki związków naturalnych wobec AK4. Badania wykonano z wykorzystaniem zoptymalizowanego przez nas testu luminescencyjnego, który charakteryzuje się wysoką czułością i powtarzalnością, co czyni go odpowiednim do analiz o wysokiej przepustowości. W wyniku screeningu, zidentyfikowaliśmy szereg związków hamujących z różną wydajnością aktywność AK4 przy stężeniu 50  $\mu M$ , a wybrane związki poddaliśmy walidacji metodą HPLC w celu potwierdzenia efektu hamowania enzymatycznego. Ostatecznie wyłoniono 34 związki o potwierdzonej aktywności hamującej AK4. Związki te stanowią obiecujące rusztowania strukturalne do dalszych modyfikacji chemicznych, ukierunkowanych na opracowanie selektywnych inhibitorów AK4 o zwiększonym potencjale terapeutycznym.

## Referencje

1. Klepinin A, Zhang S, Klepinina L, et al. Adenylate Kinase and Metabolic Signaling in Cancer Cells. *Front Oncol.* 2020;10:660.
2. Yi-Hua Jan, Hong-Yuan Tsai, Chih-Jen Yang, et al., Adenylate Kinase-4 Is a Marker of Poor Clinical Outcomes That Promotes Metastasis of Lung Cancer by Downregulating the Transcription Factor ATF3, *Cancer Res*, 2012, 72, 5119-5129

**Wpływ produktu uzyskanego na bazie MSC o nazwie  
ABX-0707 na pierwotną współhodowlę neuronów  
korowych z komórkami glejowymi w szczurzym modelu  
asfiksji neonatalnej *in vitro***

P-17

Justyna Gargas<sup>1</sup>, Karolina Ziąbska-Pacześ<sup>1</sup>, Maja Pelczarska<sup>2</sup>, Aleksandra Pobudkiewicz<sup>2</sup>, Monika Rytel<sup>2</sup>, Anna Sarnowska<sup>2</sup>, Joanna Sypecka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Neurobiologii Naprawczej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Adolfa Pawińskiego 5, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Platforma Badań Translacyjnych w zakresie Medycyny Regeneracyjnej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Adolfa Pawińskiego 5, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [jgargas@imdik.pan.pl](mailto:jgargas@imdik.pan.pl)

Problem asfiksji neonatalnej dotyka milionów noworodków rocznie. Mimo wielu badań, jedyną dostępną terapią jest hipotermia terapeutyczna, która obarczona jest skutkami ubocznymi i nie może być stosowana każdorazowo. U dzieci, które doświadczyły niedotlenienia-niedokrwienia dochodzi do uszkodzenia mózgu, co prowadzi do niepełnosprawności, a w wielu przypadkach do śmierci. Ze względu na rosnące potrzeby znalezienia terapii neuronaprawczej, w niniejszych badaniach wyprowadzono model współhodowli pierwotnych neuronów korowych z komórkami glejowymi pochodzącymi z mózgow osesków stada Wistar. Ponieważ komórki tworzące tkankę nerwową mózgu są współzależne, postanowiono przeprowadzić symulację warunków *in vivo* poprzez stworzenie modelu współhodowli neuronów z progenitorami komórek oligodendrocytarnych (OPCs), które wspierają funkcjonowanie neuronów, odpowiedzialne są za ich mielinizację, a także należą do komórek niezwykle wrażliwych na uraz hipoksyjno-i chemiczny. Część komórek tworzących współhodowlę hodowano w warunkach kontrolnych (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), natomiast pozostałe poddawano procedurze niedoboru tlenu i glukozy (OGD), co imituje niedotlenienie w warunkach *in vitro*. Po OGD do współhodowli dodawano produkt uzyskany na bazie MSC o nazwie ABX-0707 w różnych stężeniach. Następnie, po upływie 24h zbierano pożywki aby sprawdzić czy badany produkt jest cytotoksyczny oraz dodawano barwnik Sytox, aby ocenić przeżywalność komórek. Ze wstępnych ustaleń wynika, że produkt ABX-0707 nie jest cytotoksyczny dla współhodowli neuronów z komór-

kami glejowymi, a w grupie po OGD działa protekcyjnie z zauważalnym efektem dawkozależnym. Ze względu na pozytywne wyniki wstępne, w przyszłości zostaną przeprowadzone badania nad wpływem produktu ABX-0707 na sekretom komórkowy, a w konsekwencji na oddziaływania międzykomórkowe, z wykorzystaniem testów ELISA oraz Luminex.

Badania finansowane przez Agencję Badań Medycznych w ramach Krajowego Planu Odbudowy.

P-18

### **Badanie zgodności predykcji interakcji międzylekowych: porównanie frakcji metabolizowanych ( $f_m$ ) wyznaczonych w ludzkich hepatocytach i w rekombinowanych izoformach cytochromu P450**

Dawid Gogola<sup>1,2,3</sup>, Sanja Novak Ratajczak<sup>3</sup>, Ewelina Gabor-Worwa<sup>3</sup>, Anna Kowal-Chwast<sup>3</sup>, Gniewomir Latacz<sup>2</sup>, Krzysztof Brzózka<sup>3</sup>, Kamil Kuś<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, ul. Łazarza 16, 31-530 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Ryvu Therapeutics, ul. Sternbacha 2, 30-394 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [dawid.gogola@doctoral.uj.edu.pl](mailto:dawid.gogola@doctoral.uj.edu.pl)

Frakcja metabolizowana ( $f_m$ ) przez poszczególne izoformy cytochromu P450 (CYP) stanowi kluczowy parametr w ilościowej ocenie ryzyka interakcji lek-lek (DDI), ponieważ wprost warunkuje przewidywaną zmianę ekspozycji leków będących ofiarą interakcji wyrażaną jako zmiana całkowitej ekspozycji AUC (AUCR). W pracy zestawiono dwie strategie *in vitro* wyznaczania  $f_m$  dla głównych izoform CYP (1A2, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4 oraz 3A5): podejście oparte na fenotypowaniu reakcji metabolicznych w ludzkich hepatocytach oraz z użyciem rekombinowanych enzymów CYP (rCYP). Otrzymane wartości  $f_m$  wykorzysta-

no następnie jako dane wejściowe do mechanistycznego modelowania statycznego w celu oszacowania AUCR w wybranych scenariuszach DDI, zgodnie z podejściem rekomendowanym przez Międzynarodową Radę Harmonizacji Wymagań Technicznych dla Rejestracji Produktów Leczniczych Stosowanych u Ludzi (ICH) do translacji danych *in vitro* na predykcję kliniczną interakcji 9 par lek-lek [1]. Wyniki modelowania porównano z wartościami AUCR raportowanymi w badaniach klinicznych DDI. Wykazano większą dokładność predykcji przy zastosowaniu  $f_m$  wyznaczonych w hepatocytach niż w przypadku fenotypowania za pomocą rCYP. Obserwacje te pozostają spójne z doniesieniami wskazującymi na wyższą trafność odwzorowania ekspozycji *in vivo* przy estymacji  $f_m$  w hepatocytach w porównaniu z układami rekombinowanymi [2]. Uzyskane rezultaty sugerują, że hepatocyty *in vitro* stanowią bardziej wiarygodną podstawę do wyznaczenia  $f_m$  na potrzeby predykcji klinicznie istotnych DDI, wspierając ocenę bezpieczeństwa farmakoterapii oraz decyzje dotyczące dawkowania w badaniach klinicznych.

## Referencje

- 1 International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Drug Interaction Studies (M12). ICH Harmonised Guideline, 2024, M12, 1-74.
- 2 Lindmark, Bo; Lundahl, Anna; Kanebratt, Kajsa P.; Andersson, Tommy B.; Isin, Emre M. Human hepatocytes and cytochrome P450-selective inhibitors predict variability in human drug exposure more accurately than human recombinant P450s. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(11), 2116-2129.

## Ligaza E3 Von Hippel-Lindau jako cel molekularny – badania strukturalne i biochemiczne z użyciem jęgo ligandów oraz sond PROTAC

Katarzyna Golebiowska-Mendroch<sup>1,2</sup>, Jacek Plewka<sup>2</sup>, Katarzyna Magiera-Mularz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet Jagielloński, ul. prof. S. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [k.golebiowska@doctoral.uj.edu.pl](mailto:k.golebiowska@doctoral.uj.edu.pl)

Postępy w terapiach celowanych znacząco zmieniły współczesną onkologię. Jedną z przełomowych osiągnięć w tej dziedzinie są sondy PROTAC (*Proteolysis-Targeting Chimeras*), czyli chimery ukierunkowane na proteolizę, stanowiące nową klasę cząsteczek zaprojektowanych do indukowania selektywnej degradacji białek onkogennych [1]. PROTAC to związki bifunkcyjne, składające się z dwóch cząsteczek, które wiążą się odpowiednio do jednego z dwóch ligandów – jednego skierowanego przeciwko białku docelowemu, a drugiego przeciwko ligazie E3, połączonych elastycznym łącznikiem. Rekrutacja ligazy E3 prowadzi do ubikwitynacji, a następnie degradacji docelowego białka przez proteasom. Jedną z ligaz E3 jest białko von Hippel-Lindau (VHL), które w kompleksie z Elonginą B i Elonginą C, jest obecnie przedmiotem badań przedklinicznych pod kątem jej potencjału terapeutycznego.

W naszych badaniach udało się uzyskać prawidłowo sfałdowany i stabilny kompleks VHL-Elongina B-Elongina C (VBC), co potwierdzono za pomocą metod nano-różnicowej fluorescencyjnej spektroskopii skaningowej (*nano-Differential Scanning Fluorimetry*, nanoDSF) oraz dynamicznego rozpraszania światła (*Dynamic Light Scattering*, DLS). Następnie zastosowaliśmy mikroskalową termoforezę (*MicroScale Thermophoresis*, MST) w celu scharakteryzowania interakcji wiązania pomiędzy VBC a panelem ligandów małych cząsteczkowych. Analizie poddano znany ligand VH032 oraz PROTAC XY028-133, zaprojektowany do celowania w kinazy zależne od cykliny 4 i 6 (CDK4/6), będącymi kluczowymi regulatorami cyklu komórkowego. Oceniliśmy również tworzenie się i stabilność kompleksów obejmujących VBC, PROTAC i CDK4/6. Aby uzyskać wgląd w strukturę tych dwuskładnikowych interakcji oraz

rozpoczęliśmy próby ko-krystalizacji z wybranymi związkami (badania w toku).

Uzyskane wyniki stanowią podstawę do lepszego zrozumienia mechanizmów oddziaływania związków małowcząsteczkowych oraz sond PROTAC z kompleksem VBC. Wiedza ta może się przyczynić do rozwoju racjonalnych strategii projektowania i optymalizacji chimer PROTAC, zwłaszcza w obszarze łącznika, co w konsekwencji może prowadzić do opracowania bardziej efektywnych terapii przeciwnowotworowych.

#### Podziękowania

Badania wykonano w ramach projektu OPUS 22, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, nr UMO-2021/43/B/NZ7/03170.

#### Referencje

1. Hsia, O., Hinterndorfer, M., Cowan, A.D. *et al.* Targeted protein degradation via intramolecular bivalent glues. *Nature* 2024, 627, 204–211.

## Wpływ N-metylowanych fragmentów insuliny na hamowanie agregacji rdzeni amyloidogennych beta-amyloidu (A $\beta$ )

P-20

Patrycja Grabarczyk<sup>1</sup>, Zofia Wysoczyńska<sup>1</sup>, Beata Kolesińska<sup>1</sup>, Justyna Frączyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka, ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [250902@edu.p.lodz.pl](mailto:250902@edu.p.lodz.pl)

Choroby neurodegeneracyjne stanowią poważne wyzwanie zdrowotne, szczególnie w przypadku starzejących się społeczeństw. W 2021 roku choroby neurodegeneracyjne dotknęły 3,4 miliarda osób na świecie (43,1% populacji globalnej) i były przyczyną 11,1 miliona zgonów, a prognozy wskazują na dalszy wzrost tej liczby do 2050 roku. Do najczęstszych jednostek chorobowych należą choroba Alzheimera, Parkinsona oraz stwardnienie zanikowe boczne (ALS), których wspólną cechą

jest patologiczna agregacja białek i powstawanie struktur amyloidowych w ośrodkowym układzie nerwowym [1].

Podstawą molekularną tych schorzeń jest nieprawidłowe fałdowanie białek prowadzące do tworzenia nierozpuszczalnych złożeń o strukturze  $\beta$ -kardki, charakterystycznych dla amyloidoz i chorób konformacyjnych [2]. W Instytucie Chemii Organicznej Politechniki Łódzkiej podjęto badania nad wykorzystaniem peptydowych (N-metylowane fragmenty insuliny) inhibitorów agregacji insuliny w celu oceny ich potencjalnej aktywności anty-agregacyjnej względem białek odpowiedzialnych za rozwój chorób neurodegeneracyjnych. Przyjęto, że inhibitory agregacji insuliny mogą również oddziaływać na 1-42  $\beta$ -amyloid,  $\alpha$ -synukleinę oraz dysmutazę ponadtlenkową (SOD1) [3,4], gdyż mechanizm tworzenia złożeń amyloidowych jest identyczny i nie zależy od struktury agregującego białka. Wykazano wcześniej, że N-metylowane analogi rdzeni amyloidogennych insuliny (A13–19 LYQLENY oraz B12–17 VEALYL) skutecznie hamują agregację hormonu [5].

W ramach przeprowadzonych badań zsyntetyzowano pięć analogów fragmentów insuliny:  $^{12}\text{VEA}(\text{N-Me})\text{LYL}^{17}$ ,  $^{12}\text{VEAL}(\text{N-Me})\text{YL}^{17}$ ,  $^{12}\text{VEA}(\text{N-Me})\text{LY}(\text{N-Me})\text{L}^{17}$ ,  $^{12}\text{VEALY}(\text{N-Me})\text{L}^{17}$  oraz  $^{12}\text{VEA}(\text{N-Me})\text{L}(\text{N-Me})\text{YL}^{17}$  metodą syntezy na fazie stałej z użyciem triazynowych reagentów kondensujących [6]. Czystość i strukturę otrzymanych związków potwierdzono metodą LC-MS, natomiast ich zdolność hamowania agregacji rdzeni amyloidogennych 1-42  $\beta$ -amyloidu oceniono z wykorzystaniem testów z czerwiecią Kongo, tioflawiną T oraz technik mikroskopowych.

Podziękowania: Badania zrealizowano w ramach programu E2TOP Politechniki Łódzkiej. Wsparcie finansowe dla Patrycji Grabarczyk.

## Referencje

1. Soto, C.; Pritzkow, S. *Nature Neuroscience* 2018, 21, 1332–1340.
2. Chiti, F.; Dobson, C.M. *Annual Review of Biochemistry* 2017, 86, 27–68.
3. Selkoe, D.J.; Hardy, J. *EMBO Molecular Medicine* 2016, 8, 595–608.
4. Knowles, T.P.J.; Vendruscolo, M.; Dobson, C.M. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2014, 15, 384–396.
5. Swiontek, M.; Wasko, J.; Fraczyk, J.; Galecki, K.; Kaminski, Z.J.; Kolesinska, B. *Molecules* 2019, 24, 3706.
6. Kolesińska, B.; Roźniakowski, K.K.; Fraczyk, J.; Relich, I.; Papini, A.M.; Kamiński, Z.J. *European Journal of Organic Chemistry* 2015, 401–408

## Gdy chemia podąża za biologią: poszukiwania nowych degraderów IKK $\beta$ kontrolujących stan zapalny

P-21

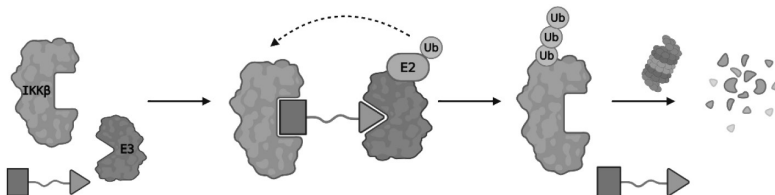
Natalia Gućwa<sup>1,2</sup>, Anna Pasięka<sup>2</sup>, Paula Zaręba<sup>2</sup>, Justyna Godyń<sup>2</sup>, Natalia Szała<sup>2</sup>, Izidor Sosič<sup>3</sup>, Anna Więćkowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Łazarza 16, 31-530 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Wydział Farmacji, Uniwersytet w Lublanie, Aškerčeva cesta 7, SI-1000 Lublana, Słowenia  
adres e-mail osoby prezentującej: [natalia.gucwa@doctoral.uj.edu.pl](mailto:natalia.gucwa@doctoral.uj.edu.pl)

Powiązanie konkretnego białka z rozwojem choroby i modulacja jego aktywności nie zawsze przekładają się na sukces terapeutyczny. Przykładem takiego białka jest kinaza IKK $\beta$  – kluczowy enzym odpowiedzialny za aktywację kanonicznego szlaku NF- $\kappa$ B. Dotychczasowe próby opracowania małowcząsteczkowych inhibitorów IKK $\beta$  nie zakończyły się sukcesem klinicznym, głównie ze względu na współtowarzyszące działania niepożądane [1]. Celowana degradacja białek jest nowoczesną strategią farmakologiczną opartą na selektywnym usuwaniu białek z wykorzystaniem systemu ubikwityna-proteasom. Obiecującą klasą degraderów są PROTACs (PROteolysis Targeting Chimeras), czyli heterobifunkcyjne cząsteczki łączące ligand białka docelowego z ligandem ligazy E3 poprzez linker. PROTACs działają w mechanizmie katalitycznym, w którym krótkotrwałe wiązanie z białkiem docelowym umożliwia utworzenie kompleksu trójściadnikowego z ligazą E3, prowadząc do ubikwitynacji i degradacji białka. W odróżnieniu od klasycznych in-



Rysunek 1. Schemat mechanizmu działania PROTACs

hibitorów, których skuteczność wymaga trwałego zajęcia miejsca wiążącego białka, mechanizm działania PROTACs umożliwia stosowanie niższych stężeń związku, ograniczając ryzyko toksyczności [2]. Prezentowane badania dotyczą syntezy oraz oceny aktywności biologicznej nowych PROTACs, ukierunkowanych na kinazę IKK $\beta$  zaprojektowanych w oparciu o strukturę literaturowego inhibitora IKK $\beta$ .

### Referencje

1. Zhang, J.; et al. I $\kappa$ B kinase  $\beta$  (IKK $\beta$ ): Structure, transduction mechanism, biological function, and discovery of its inhibitors. *Int. J. Biol. Sci.* 2023, 19(13), 4181–4203.
2. Békés, M.; et al. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2022, 21, 181–200.

Badania zostały sfinansowane ze środków grantu NCN: OPUS 24+LAP/Weave 2022/47/1/NZ7/03324.

## **Celowana analiza metabolomiczna związków nukleozydowych: walidacja potencjalnych biomarkerów nowotworów układu moczowo-płciowego**

Wiktoria Struck-Lewicka<sup>1</sup>, Julia Jacyna-Gębala<sup>1</sup>, Marcin Markuszewski<sup>2</sup>, Piotr Gutknecht<sup>3</sup>, Michał J. Markuszewski<sup>1</sup>, Danuta Siłuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

<sup>2</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra i Klinika Urologii, ul. M. Smoluchowskiego 17, 80-214 Gdańsk

<sup>3</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra Medycyny Rodzinnej, Dębinki 2, 80-211 Gdańsk  
adres e-mail osoby prezentującej: [julia.jacyna-gebala@gumed.edu.pl](mailto:julia.jacyna-gebala@gumed.edu.pl)

Związki nukleozydowe stanowią produkty przemian zachodzących w obrębie RNA i DNA. Formy zmodyfikowane (głównie poprzez metylację) nie mogą być wykorzystywane do syntezy nowych cząsteczek i są wyda-

lane z moczem w stanie niezmienionym. Aby potwierdzić ich potencjał jako markerów zwiększonego tempa przemian RNA i DNA, charakterystycznego dla wielu chorób nowotworowych, przeprowadzono badania wstępne obejmujące zarówno niecelowaną, jak i celowaną analizę metabolomiczną w wybranych punktach czasowych [1,2]. Wyniki badań pozwoliły na potwierdzenie, iż podwyższone poziomy modyfikowanych związków nukleozydowych w moczu różnicują próbki pobrane przed resekcją guza pęcherza moczowego od próbek pobranych dwa tygodnie po resekcji i mają potencjał wskaźników diagnostycznych.

Niniejsze badanie polegało na analizie celowanej (ilościowej) panelu 11 nukleozydów deoksynukleozydów w celu zweryfikowania ich przydatności jako biomarkerów nowotworów układu moczowo-płciowego. Analizy przeprowadzono na próbkach moczu pobranych od pacjentów z pęcherza moczowego (n=90), pacjentów z rakiem prostaty (n=105) i zdrowych ochotników (n=171, grupa kontrolna). Uzyskane w wyniku analiz LC-QqQ/MS zbiory danych znormalizowano w oparciu o ciężar właściwy moczu, a następnie poddano analizie statystycznej. Największy potencjał dyskryminacyjny badanych związków zaobserwowano w grupie pacjentów z nowotworem pęcherza moczowego – stężenia 9 z 11 związków były podwyższone ( $p \leq 0,05$ ) w odniesieniu do grupy kontrolnej.

### Finansowanie

Agencja Badań Medycznych: Krajowy Plan Odbudowy i Zwiększania Odporności (KPO), Komponent D Efektywność, dostępność i jakość systemu ochrony zdrowia (projekt nr 2024/ABM/03/KPO/KPOD.07.07-IW.07-0075/24-00).

### Referencje

1. Jacyna, Julia; et al.; Pre- and post-resection urine metabolic profiles of bladder cancer patients: results of preliminary studies on time series metabolomics analysis, *Cancers*, 2022, 14, art. ID 1210.
2. Artymowicz, Małgorzata; et al.; Targeted quantitative metabolomics with a linear mixed-effect model for analysis of urinary nucleosides and deoxynucleosides from bladder cancer patients before and after tumor resection, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2023, 415, 5511-5528.

## Cytokompatybilność nanocząstek magnetycznych w komórkach SH-SY5Y: wpływ czasu ekspozycji i różnicowania na żywotność i cytotoksyczność

Anna Haduch<sup>1</sup>, Renata Pukło<sup>1</sup>, Ana C. Moreno Maldonado<sup>2</sup>, Patricio Alastuey<sup>2</sup>, Gerardo F. Goya<sup>2</sup>, Wojciech Kuban<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Zakład Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Universidad de Zaragoza - Instituto de Nanociencia y Materiales de Aragón, Facultad de Ciencias; C/ Pedro Cerbuna, 12; 50009 Zaragoza, Hiszpania

adres e-mail osoby prezentującej: [haduch@if-pan.krakow.pl](mailto:haduch@if-pan.krakow.pl)

**Wprowadzenie:** Nanocząstki magnetyczne są coraz częściej rozważane jako narzędzia do zastosowań neurobiomedycznych, m.in. w podejściach opartych o oddziaływanie magnetomechaniczne oraz chemoenzymatyczne. W takich zastosowaniach kluczowe jest bezpieczeństwo, ponieważ komórki neuronalne są wrażliwe na zaburzenia metabolizmu, stres oksydacyjny oraz uszkodzenia błon. Zanim przejdzie się do bardziej złożonych modeli, konieczna jest więc ocena cytokompatybilności w warunkach obejmujących różny czas ekspozycji i różny fenotyp komórek. Celem pracy było porównanie cytokompatybilności i profilu cytotoksyczności trzech formułacji nanocząstek magnetycznych oraz wskazanie wariantu o najkorzystniejszym profilu do dalszych badań. Analizowano nanocząstki heksaferrytu baru  $BaFe_{12}O_{19}$ : B2Pa (bez powłoki) oraz B2Pa@PEG (powlekane PEG; poly(ethylene glycol) bis(3-aminopropyl)), a także nanocząstki ferrytynu manganowego  $MnFe_2O_4$  (M35).

**Metody:** Badania wykonano na komórkach SH-SY5Y w dwóch wariantach: niezróżnicowanym oraz po różnicowaniu do fenotypu neuronalno-podobnego, aby uwzględnić możliwe różnice we wrażliwości komórek. Komórki inkubowano z nanocząstkami B2Pa, B2Pa@PEG i M35 w zakresie 0–250  $\mu\text{g/mL}$  przez 24, 48 i 96 h. Cytokompatybilność oceniano dwoma testami: CCK-8 (żywotność/aktywność metaboliczna) oraz LDH (uszkodzenie błony komórkowej jako wskaźnik cytotoksyczności). Wyniki przedstawiano jako wartości względem kontroli wpływu rodzaju nanocząstek, dawki, czasu i fenotypu komórkowego.

Wyniki: B2Pa@PEG utrzymywały wysoką żywotność (~95–110%) i niski sygnał LDH (wzrost głównie przy najwyższych dawkach). B2Pa był dobrze tolerowane po 24–48 h, natomiast po 96 h w komórkach niezróżnicowanych CCK-8 spadał do ~60–70% (250 µg/mL) z równoczesnym wzrostem LDH do ~20–25%. M35 wykazywały najsilniejsze, fenotypowo-zależne efekty: w komórkach niezróżnicowanych CCK-8 obniżał się po 96 h do ~10–15% (250 µg/mL) bez wzrostu LDH, natomiast w komórkach zróżnicowanych obserwowano wyraźny wzrost LDH już po 24 h (do ~130–140% przy 250 µg/mL) przy umiarkowanym spadku CCK-8 (~65–85%).

Wnioski: PEGylacja heksaferrytu baru poprawia cytotokompatybilność, a B2Pa@PEG jest najbardziej obiecującym wariantem do dalszych badań. M35 daje najsilniejsze i zależne od fenotypu efekty, zwłaszcza w komórkach zróżnicowanych. Dlatego dla M35 potrzebne są dodatkowe testy i dobranie bezpiecznego zakresu stężeń.

Badania sfinansowane ze środków grantu M-ERA.NET 3 Call 2023 (NCN), nr 2023/05/Y/NZ5/00256.

## PharmGScore - continuous scoring of pharmacogenetic variation

P-24

Jacek Hajto<sup>1</sup>, Małgorzata Borczyk<sup>1</sup>, Marcin Piechota<sup>1</sup>, Sylwia Grubarek<sup>1</sup>, Paula Konowska<sup>1</sup>, Dżesika Hoinkis<sup>1</sup>, Michał Korostyński<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Pharmacogenomics, Department of Molecular Neuropharmacology, Maj Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [hajto@if-pan.krakow.pl](mailto:hajto@if-pan.krakow.pl)

**Background:** Pharmacogenomics (PGx) is shifting toward a more personalized approach, addressing the individuality of each person. While traditional star allele nomenclature is clinically useful, it fails to capture the cumulative impact of rare, novel, or complex variants, leaving

drug response variability largely unexplained. We hypothesized that PharmGScore, a novel continuous gene-specific functional scoring tool, would outperform categorical classifications in predicting adverse drug reactions (ADRs) and safe dosing requirements.

**Materials and Methods:** We first validated our ensemble predictor, PharmGScore, against known star alleles (n=541) and deep-mutational scanning datasets (n=1,381) for *CYP2C19* protein abundance. Subsequently, we extended the analysis to the full UK Biobank European cohort (~350,000 participants). We extracted clinical phenotypes from primary care and hospital records, including maintenance dosage (defined as a stable daily dose >90 days), therapy switching (a proxy for non-response/intolerance), and specific ADRs such as dizziness and giddiness (R42) or orthostatic hypotension (I95.1) linked to a prescribed drug. We performed gene-based association testing using REGENIE to handle population structure and imbalance in rare ADR phenotypes. Finally, we applied CI-GWAS (Causal Inference for Multiple Risk Factors) to disentangle direct pharmacogenetic effects from pleiotropic confounders (e.g., BMI, comorbidities).

**Results:** In baseline evaluations, PharmGScore achieved an AUC of 0.85 for classifying known star alleles and an AUC of 0.95 for *in vitro* CYP2C19 abundance, outperforming all other tools (CADD, SIFT, etc.). In the initial UK Biobank analysis (n=200k), higher PharmGScore values were associated with elevated antidepressant ADR risk (OR 1.24, 95% CI 1.05–1.47), surpassing star allele-based predictions. Preliminary analyses in the expanded European cohort confirm these trends.

**Conclusions:** PharmGScore effectively quantifies the functional impact of variants across both experimental assays and clinical sequencing data. While traditional star alleles remain essential for clinical guidelines, continuous functional scoring offers a powerful complementary approach for identifying association signals in large-scale cohorts. Integrating continuous scoring with large genome-wide association models, such as REGENIE, enhances the resolution of pharmacogenomic studies. However, further prospective validation is required to translate these population-level associations into individual clinical decision support.

## **Wpływ modyfikacji pierścienia pirazolu w pochodnych 1,3,5-triazyny na dualną modulację 5-HT<sub>6</sub>R i RIPK1 – białkowych celów w poszukiwaniu nowych terapii choroby Alzheimerera**

Julia Pakulska<sup>1,2</sup>, Kinga Czarnota-Łydka<sup>1,2</sup>, Magdalena Hawrylak<sup>1,2</sup>, Barbara Mordyl<sup>3</sup>, Monika Głuch-Lutwin<sup>3</sup>, Grzegorz Satała<sup>4</sup>, Małgorzata Wiecek<sup>1</sup>, Katarzyna Kucwaj-Brysz<sup>1</sup>, Sabina Podlewska<sup>4</sup>, Jadwiga Handzlik<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Medyczna 9, 30-688, Kraków, Polska

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, św. Łazarza 15, 31-530, Kraków, Polska

<sup>3</sup> Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688, Kraków, Polska

<sup>4</sup> Katedra Chemii Leków, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN, Smętna 12, 31-343, Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [j.handzlik@uj.edu.pl](mailto:j.handzlik@uj.edu.pl)

Od ponad 20 lat receptor serotoninowy 5-HT<sub>6</sub> (5-HT<sub>6</sub>R) jest popularnym celem białkowym w poszukiwaniu leku przeciw chorobie Alzheimerera (AD). Przemawia za tym jego unikalna lokalizacja - niemal wyłącznie zawężona do ośrodkowego układu nerwowego (OUN), z wysoką dystrybucją w obszarach mózgu odpowiedzialnych za procesy kognitywne, w szczególności w hipokampie i korze przedczołowej. Obiecujące dla terapii AD wyniki badań przedklinicznych z wykorzystaniem ligandów 5-HT<sub>6</sub>R, jak dotąd jednak nie przełożyły się na efektywność u pacjentów i żaden spośród 17 antagonistów 5-HT<sub>6</sub>R w testach klinicznych, nie przeszedł pomyślnie III fazy, tym samym dowodząc, że selektywna modulacja 5-HT<sub>6</sub>R może być niewystarczająca w terapii tej złożonej choroby neurodegeneracyjnej. Stąd obecne poszukiwania skoncentrowane są na podejściach polifarmakologicznych, które oprócz doraźnej poprawy samopoczucia i funkcji poznawczych pacjenta, równocześnie przeciwdziałająby neurodegeneracji. W myśl tego, nasze najnowsze badania skupiają się na poszukiwaniu dualnych modulatorów: 5-HT<sub>6</sub>R oraz białka RIPK1, które stanowi najważniejszą kinazę szlaku nekroptozy – śmierci komór-

kowej powiązanej z procesami neurodegeneracyjnymi. Interesującym podejściem w tych badaniach okazało się wprowadzenie układu pirazolu do struktur uprzednio znalezionych 1,3,5-triazynowych selektywnych antagonistów 5-HT<sub>6</sub>R.

Celem niniejszych badań była ocena wpływu topologii, podstawienia i typu linkera pierścienia pirazolu przyłączonego do pierścienia triazyny na dualną modulację 5-HT<sub>6</sub>R/RIPK1. Badania objęły trzy różne ścieżki syntetyczne związków z anelowanym bądź alkilo-podstawionym układem pirazolu, ocenę powinowactwa do 5-HT<sub>6</sub>R i inhibicji RIPK1 w testach *in vitro* oraz wspomaganą komputerowo analizę zależności struktura-aktywność. Wyniki wykazały najlepsze właściwości dualnego inhibitora 5-HT<sub>6</sub>R/RIPK1 dla pochodnej z ugrupowaniem metylopirazolu (**KCH-1**), podczas gdy układ anelowanego pirazolu warunkował selektywną aktywność inhibitora RIPK1. Związek **KCH-1** został wytypowany jako struktura wiodąca do szerszych modyfikacji chemicznych.

Badania zostały częściowo sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (grant UMO-2023/51/B/NZ7/02177).

## Pochodne triazyny w poszukiwaniu podwójnych modulatorów nekroptozy/kinazy RIPK1 i receptora serotoninowego 5-HT<sub>6</sub> o potencjalnym wykorzystaniu w terapii choroby Alzheimera

P-26

Magdalena Hawrylak<sup>1,2</sup>, Mateusz Brzońska<sup>1</sup>, Małgorzata Więcek<sup>2</sup>, Kinga Czarnota-Łydka<sup>1,2</sup>, Barbara Mordyl<sup>3</sup>, Monika Głuch-Lutwin<sup>3</sup>, Grzegorz Satała<sup>4</sup>, Sabina Podlewska<sup>4</sup> oraz Jadwiga Handzlik<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688, Kraków

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, św. Łazarza 15, 31-530, Kraków

<sup>3</sup> Katedra Farmakobiologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688, Kraków

<sup>4</sup> Katedra Chemii Leków, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343, Kraków

adres e-mail osoby prezentującej: [magdalena.hawrylak@doctoral.uj.edu.pl](mailto:magdalena.hawrylak@doctoral.uj.edu.pl)

Choroba Alzheimera (AD) stanowi obecnie poważny problem cywilizacyjny, na który wciąż brakuje skutecznej terapii. Ostatnie doniesienia wskazują na relatywnie nowe cele biologiczne, które biorą udział w patogenezie tej choroby. Nekroptoza okazała się istotnym czynnikiem powodującym utratę neuronów w AD. Wobec tego obiecującym celem molekularnym wydaje się być kinaza RIPK1, będąca kluczowym mediatorem szlaku nekroptozy [1]. Wśród modulatorów tego procesu można zidentyfikować związki o chemotypie podobnym do triazyny, takie jak silny inhibitor RIPK1 – tozasertib [2]. Innym istotnym celem jest receptor serotoninowy 5-HT<sub>6</sub> (5-HT<sub>6</sub>R), którego zarówno antagoniści, jak i agoniści wykazali pozytywny wpływ na zaburzenia pamięci w badaniach *in vivo* [3].

Celem niniejszego badania było znalezienie pochodnych triazyny posiadających podstawnik β-naftolowy, będących podwójnymi modulatorami RIPK1 i 5-HT<sub>6</sub>R. Związki uzyskano w syntezach typu one-pot. Zbadano ich powinowactwo do 5-HT<sub>6</sub>R oraz % hamowania RIPK1 w stężeniu 10 μM. Przeprowadzono dokowanie molekularne, aby przeanalizować interakcje badanych struktur z obydwojema celami białkowymi. Otrzymano związki hamujące RIPK1 powyżej 50% oraz wykazujące nanomolar-

ne powinowactwo do 5-HT<sub>6</sub>R. Struktury tego typu wydają się być obiecujące do dalszych badań i rozwoju w kierunku terapii AD.

Badania są częścią projektu NCN OPUS UMO-2023/51/B/NZ7/02177 (K/NCN/000379) wspieranego przez Narodowe Centrum Nauki.

### Referencje

1. Caccamo A, Branca C. et al. Necroptosis activation in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*, 2017, 9, 1236-1246.
2. Zhuang C, Chen F. Small-Molecule Inhibitors of Necroptosis: Current Status and Perspectives. *J Med Chem*, 2020, 63, 1490-1510.
3. Sudoł S, Kucwaj-Brysz K. et al. Chlorine substituents and linker topology as factors of 5-HT<sub>6</sub>R activity for novel highly active 1,3,5-triazine derivatives with procognitive properties in vivo. *Eur J Med Chem*, 2020, 203, 112529.

## Wielkie zbiory danych z selekcji bibliotek znakowanych DNA (DEL) – potencjał i ograniczenia w uczeniu maszynowym

Adam Hogendorf

Zakład Chemii Leków, Instytut Farmakologii im. J. Maja PAN  
adres e-mail osoby prezentującej: [ahogen@if-pan.krakow.pl](mailto:ahogen@if-pan.krakow.pl)

Wiele współczesnych metod obliczeniowych stosowanych do przewidywania wiązania małych cząsteczek z celami biologicznymi opiera się na modelach o złożonej architekturze.<sup>1</sup> Często wynika to nie tyle z natury samego problemu, co z ograniczeń dostępu do danych treningowych. Zbiory danych wykorzystywane w badaniach nad małymi cząsteczkami mają zazwyczaj niewielki rozmiar i są niespójne, ponieważ pochodzą z różnych laboratoriów i były generowane w odmiennych układach eksperymentalnych, przy użyciu różnych technik. W konsekwencji ich przydatność do trenowania modeli uczenia maszynowego jest istotnie ograniczona.

Biblioteki znakowane DNA (DEL) stanowią jakościowo inne podejście, pozwalając na równoległe badanie miliardów cząsteczek w ramach pojedynczych eksperymentów, tzw. selekcji opartych na powinowactwie, przy jednoczesnym znacznym obniżeniu kosztów w stosunku do „tradycyjnych” metod. Dane generowane w ten sposób powstają w jednolitych warunkach i obejmują duże, spójne fragmenty przestrzeni chemicznej. Mimo niewątpliwie ogromnych zalet zbiorów danych z selekcji DEL, ich wykorzystanie nadal stanowi wyzwanie. Wynika to m.in. z faktu, że obserwowane tzw. wzbogacenia (ang. enrichments) nie przekładają się wprost na stałe wiązania do celów biologicznych. Ponadto dane z DEL zawierają duży odsetek wyników fałszywie negatywnych.

Analiza danych z selekcji biblioteki ukierunkowanej na miejsca wiążące  $\text{NAD}^+$ , na enzymach z rodziny polimeraz poli-(ADP-rybozy),<sup>2</sup> oraz re-synteza dużego zbioru „hitów” i ich pochodnych pozwoliła na pierwszą, systematyczną analizę wpływu linkera na częstość wyników fałszywie negatywnych, oraz ich wpływu na skuteczność uczenia maszynowego.<sup>3</sup> W pracy przeanalizowano również różne metody balansowania danych klasyfikacyjnych na przykładzie danych z selekcji na PARP2.

## Referencje

1. <http://www.incompleteideas.net/InIdeas/BitterLesson.html>.
2. Yuen L. H.; Dana S.; Liu Y.; Bloom S. I.; Thorsell A.; Neri D.; Donato A. J.; Kireev D.; Schüler H.; Franzini R. M. A Focused DNA-Encoded Chemical Library for the Discovery of Inhibitors of  $\text{NAD}^+$ -Dependent Enzymes *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141 (13), 5169-5181.
3. Montoya A. L. ‡; Hogendorf A. S. ‡; Tingey S.; Kuberan A.; Yuen L. H.; Schüler H.; Franzini R. M.; Widespread false negatives in DNA-encoded library data: how linker effects impair machine learning-based lead prediction *Chem. Sci.*, 2025, 16, 10918-10927.

## Nowe metoksyfenylowe pochodne 1,3,4-tiadiazolu jako potencjalne inhibitory aromatazy – projektowanie, synteza i ocena aktywności *in vitro*

Sara Janowska<sup>1</sup>, Olga Szewczyk-Roszczenko<sup>2</sup>, Piotr Roszczenko<sup>2</sup>,  
Anna Bielawska<sup>2</sup>, Monika Wujec<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Katedra Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Jaczewskiego 8b, 20-090 Lublin, Polska

<sup>2</sup> Katedra Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Kilińskiego 1, 15-089 Białystok, Polska

<sup>3</sup> Katedra Chemii Organicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4A, 20-093 Lublin, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [sarajanowska@umlub.edu.pl](mailto:sarajanowska@umlub.edu.pl)

Rak piersi pozostaje najczęstszym nowotworem złośliwym wśród kobiet na świecie, a ograniczona selektywność i narastająca oporność na obecne terapie wymuszają poszukiwanie nowych związków terapeutycznych<sup>1</sup>. Aromataza, kluczowy enzym w szlaku biosyntezy estrogenów, jest uznanym celem molekularnym w leczeniu hormonozależnych nowotworów<sup>2</sup>. W niniejszym badaniu zaprojektowano i zsyntetyzowano dziesięć nowych, potencjalnych niesteroidowych inhibitorów aromatazy – pochodnych 1,3,4-tiadiazolu zawierających w strukturze dwa monopodstawione pierścienie aromatyczne. Istotnym elementem strukturalnym była obecność ugrupowania *para*-metoksyfenylowego lub *orto*-metoksyfenylowego w pozycji 5 układu 1,3,4-tiadiazolu. Cytotoksyczność otrzymanych związków oceniono na dwóch liniach komórkowych raka piersi: MCF-7 (estrogenozależna) oraz MDA-MB-231 (estrogenoniezależna). Wszystkie testowane związki wykazały zależną od stężenia aktywność cytotoksyczną wobec komórek MCF-7, przy czym najsilniejsze działanie zaobserwowano dla związku SJT97 ( $IC_{50} = 0.89 \mu M$ ). Co istotne, związek ten odznaczał się niską toksycznością wobec prawidłowych ludzkich komórek w warunkach *in vitro*. Żaden z badanych związków nie wykazał istotnej aktywności wobec komórek estrogenoniezależnych MDA-MB-231, co sugeruje ich selektywność wobec estrogenozależnych komórek nowotworowych. Uzyskane wyniki sugerują mechanizm działania związany z inhibicją aromatazy i wskazują, że metoksyfenylopodstawione pochodne

1,3,4-tiadiazolu stanowią obiecujący szkielet do projektowania nowych, selektywnych i mniej toksycznych inhibitorów aromatazy.

### Referencje

- (1) Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R. L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021, 71 (3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
- (2) Janowska, S.; Holota, S.; Lesyk, R.; Wujec, M. Aromatase Inhibitors as a Promising Direction for the Search for New Anticancer Drugs. *Molecules* 2024, 29 (2), 346. <https://doi.org/10.3390/molecules29020346>.

## Selektywność funkcjonalna i aktywność biologiczna pochodnych 1,3,5-triazyny jako modulatorów receptora histaminowego H<sub>4</sub> w zwierzęcych modelach stanów zapalnych

P-29

Tadeusz Karcz<sup>1</sup>, Agnieszka Olejarz-Maciej<sup>1</sup>, Dorota Łażewska<sup>1</sup>, Małgorzata Więcek<sup>1</sup>, Katarzyna Kamińska<sup>1</sup>, Maristella Adami<sup>2</sup>, Steffen Pockes<sup>3</sup>, Laura J Humphrys<sup>3</sup>, Gregory S. Whitehead<sup>4</sup>, Katarzyna Szczepańska<sup>5</sup>, Donald N. Cook<sup>4</sup>, Katarzyna Kieć-Kononowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Zakład Farmakologii, Uniwersytet w Parmie, Via Volturno 39, 43100 Parma, Włochy

<sup>3</sup> Instytut Farmacji, Uniwersytet w Ratyźbonie Universitätsstraße 31, 93053 Regensburg, Niemcy

<sup>4</sup> Narodowy Instytut Nauk o Zdrowiu Środowiskowym (NIEHS), 111 T.W. Alexander Drive, Bldg. 101, Durham, NC 27709, USA

<sup>5</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [t.karcz@uj.edu.pl](mailto:t.karcz@uj.edu.pl)

Receptory histaminowe H<sub>4</sub> (H<sub>4</sub>R) odgrywają kluczową rolę w modulacji odpowiedzi immunologicznej, szczególnie w procesach zapalnych i rekrutacji komórek układu odpornościowego [1]. W niniejszej pracy

zbadano serię pochodnych 1,3,5-triazyny wykazujących silne powinowactwo do  $H_4R$ , potwierdzone wartościami  $K_i$  w zakresie nanomolarnym. Związki te wykazują różną aktywność wewnętrzną w szlakach sygnałowych zależnych od białek G oraz  $\beta$ -arestyny, przy czym obserwowana selektywność funkcjonalna zależy od schematu podstawienia pierścienia tiofenowego połączonego z rdzeniem triazynowym. Podstawienie grupą metylową, atomem chloru lub bromu w pozycji 3 pierścienia tiofenowego skutkują właściwościami agonistycznymi w szlaku  $\beta$ -arestynowym, natomiast podstawienia w pozycjach 4 lub 5 prowadzą do antagonizmu  $\beta$ -arestynowego. Badania *in vivo* w modelu astmy wykazały istotne zmniejszenie stanu zapalnego dróg oddechowych dla trzech wybranych izomerów pozycyjnych, co potwierdza potencjał terapeutyczny opracowanych połączeń. Jednocześnie, różna aktywność wewnętrzna w szlaku  $\beta$ -arestynowym nie koreluje bezpośrednio ze skutecznością *in vivo*, co sugeruje udział dodatkowych mechanizmów w obserwowanych efektach przeciwzapalnych. Uzyskane wyniki dostarczają nowych informacji na temat złożonej relacji pomiędzy selektywnością funkcjonalną, a efektami terapeutycznymi w chorobach zapalnych.

Badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu Sonata 16 (2021/43/D/NZ7/02190).

## Referencje

1. Thurmond RL. The histamine  $H_4$  receptor: from orphan to the clinic. *Frontiers in Pharmacology*, 2015, 6 1–11.

## Zmiany profilu lipidowego wybranych struktur mózgu myszy C57Bl/6J, w odpowiedzi na chroniczne leczenie SSRI - w analizie FTIR

P-30

Aleksandra Karska<sup>1</sup>, Joanna Depciuch<sup>2</sup>, Helena Domin<sup>1</sup>, Katarzyna Stachowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Instytut Fizyki Jądrowej im. Henryka Niewodniczańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Radzikowskiego 152, 31-342 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [karska@if-pan.krakow.pl](mailto:karska@if-pan.krakow.pl)

**Wprowadzenie:** Selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI) są powszechnie stosowanymi lekami przeciwdepresyjnymi [1]. Jednak ich wpływ na skład lipidowy mózgu nie został dotąd w pełni poznany. W niniejszym badaniu oceniono wpływ chronicznego podawania fluoksetyny (10 mg/kg *i.p.*, 28 dni) lub escitalopramu (2 mg/kg *i.p.*, 28 dni) na profil biochemiczny wybranych struktur mózgu myszy szczepu C57Bl/6J, ze szczególnym uwzględnieniem zmian lipidowych.

**Materiały i metody:** Bezpośrednio po ostatniej iniekcji badanych związków, zwierzęta poddano dekapitacji, a struktury mózgowe pobrano zgodnie z koordynatami Paxinos i Franklin, 2001 [2]. Do analizy hipokampa oraz kory czołowej zastosowano spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) w połączeniu z analizą głównych składowych (PCA).

**Wyniki:** We wszystkich badanych strukturach wykazano obecność pasm FTIR charakterystycznych dla lipidów, fosfolipidów, białek oraz węglowodanów. Zmiany związane z leczeniem były najbardziej widoczne w lipidowych pasmach drgań rozciągających  $\text{CH}_2$  i  $\text{CH}_3$  ( $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ), które odzwierciedlają zawartość i organizację łańcuchów lipidowych.

**W hipokampie** oba leki z grupy SSRI powodowały spadek absorbancji związanej z lipidami, przy czym escitalopram wywoływał silniejsze efekty. Dodatkowe przesunięcia pasm przypisywanych drganiom grup fosforanowych fosfolipidów, drganiom rozciągającym estrowym  $\text{C}=\text{O}$  oraz pasmom lipidów nienasyconych sugerują istotną przebudowę estrów lipidowych oraz zmiany w dynamice błon komórkowych. **W korze czołowej** zaobserwowano największe zmniejszenie zawartości lipidów, szczególnie

po podaniu escitalopramu. Przesunięcia pasm amidowych wskazują również na współwystępujące zmiany w strukturze drugorzędowej białek.

**Wnioski:** Przewlekłe leczenie SSRI indukuje swoiste dla regionu zmiany biochemiczne w mózgu myszy, które dotyczą głównie składu lipidowego oraz jego organizacji strukturalnej. Różnice pomiędzy fluoksetyną a escitalopramem wskazują na odmienne molekularne mechanizmy działania tych leków w tkance mózgowej. Dodatkowo, uzyskane wyniki potwierdzają przydatność spektroskopii FTIR w połączeniu z analizą wielowymiarową do wykrywania subtelnych, zależnych od struktury zmian neurochemicznych, związanych z długotrwałą ekspozycją na leki przeciwdepresyjne.

#### Referencje

1. Adjei, K.; Adunlin, G.; Ali, A. A. Impact of sertraline, fluoxetine, and escitalopram on psychological distress among United States adult outpatients with a major depressive disorder. *Healthcare (Basel)*, 2023, 11, 740.
2. Paxinos, G.; Franklin, K. B. J. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. (2nd ed). San Diego: Academic Press Eds. 2001, 2001.

## Odkrycie kowalencyjnych inhibitorów oddziaływania PD-L1/PD-1

Radosław Kitel<sup>1</sup>, Agnieszka Maślanka<sup>1,2</sup>, Wiktor Uzar<sup>1,2</sup>, Damian Muszak<sup>1</sup>, Piotr Wilk<sup>3</sup>, Bożena Skupień-Rabian<sup>3,4</sup>, Urszula Jankowska<sup>3,4</sup>, Łukasz Skalniak

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków, Polska

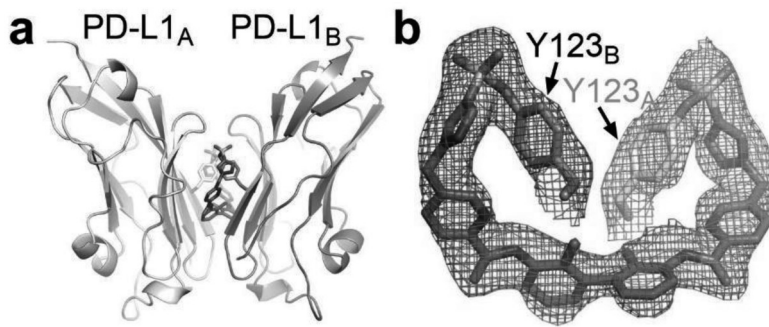
<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. prof. S. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Uniwersytet Jagielloński, Małopolskie Centrum Biotechnologii, ul. Gronostajowa 7A, 30-387

<sup>4</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, ul. Gronostajowa 7A, 30-387

adres e-mail osoby prezentującej: [radoslaw.kitel@uj.edu.pl](mailto:radoslaw.kitel@uj.edu.pl)

Oddziaływanie między receptorem programowanej śmierci, PD-1, a jego ligandem, PD-L1, stanowi główny cel terapeutyczny w immunoterapii nowotworów [1]. W praktyce klinicznej oddziaływanie to jest hamowane przez zastosowanie przeciwciał anty-PD-1 i anty-PD-L1. Terapie te prowadzą do długotrwałych remisji jedynie u około 10-30% pacjentów, podkreślając konieczność poszukiwania nowych metod terapeutycznych. Alternatywnym podejściem jest zastosowanie małowiązujących inhibitorów oddziaływania PD-L1/PD-1. Opisane do tej pory małowiązujące związki celujące w PD-L1 wykazują wyłącznie odwracalny charakter wiązania, co zmniejsza ich skuteczność terapeutyczną. W tym kontekście racjonalne jest zaprojektowanie kowalencyjnych inhibitorów oddziaływania PD-L1/PD-1. W niniejszej pracy odkryto pierwsze w klasie kowalencyjne inhibitory indukujące nieodwracalną dimeryzację PD-L1 hamując w ten sposób jego oddziaływanie z PD-1. Najaktywniejszy związek, CLIP-2 (ang. Cross-Linking Inhibitor of PD-L1) wiąże się z PD-L1 przez utworzenie wiązania kowalencyjnego z resztami tyrozyny 123A i B, co potwierdzono z zastosowaniem krystalografii rentgenowskiej (Rysunek 1). Co więcej, związek ten wykazuje założony mechanizm również w układach komórkowych, wykazując lepszy profil cytotoksyczny niż jego odwracalny prekursor. Podsumowując, CLIP-2 stanowi związek wiodący w opracowaniu nowej klasy kowalencyjnych inhibitorów celujących w PD-L1.



Rysunek 1. Inhibicja PD-L1 indukowana nieodwracalną dimeryzacją przez związek CLIP-2; a) ogólna struktura krystaliczna dimeru, b) mapa gęstości elektronowej pokazująca chemiczną modyfikację reszt tyrozyny 123A i B

#### Referencje

1. A. Ribas, J. D. Wolchok. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade, *Science*, 2018, 359, 1350–1355.

## Molekularne efekty działania psylocybiny w korze przedczołowej - analiza proteomiczna w komórkach neuronalnych i nieneuronalnych

P-32

Magdalena Kolasa<sup>1</sup>, Adam Roman<sup>2</sup>, Przemysław Mielczarek<sup>3</sup>, Paulina Pabian<sup>1</sup>, Agata Faron-Górecka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacology, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Poland

<sup>2</sup> Laboratory of Flow Cytometry, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Poland

<sup>3</sup> Laboratory of Proteomics and Mass Spectrometry, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [gaska@if-pan.krakow.pl](mailto:gaska@if-pan.krakow.pl)

### Wstęp

Psylocybina zyskała znaczną uwagę jako nowy lek przeciwdepresyjny, szczególnie ze względu na swoją skuteczność w leczeniu depresji lekoopornej. Powszechnie uznaje się, że psylocybina oddziałuje przede wszystkim na korę przedczołową, jednak mechanizmy leżące u podstaw jej działania nie są jeszcze poznane. Celem niniejszego badania było określenie poziomów ekspresji białek po podaniu psylocybiny i scharakteryzowanie molekularnych ścieżek związanych z jej podaniem.

### Materiały i metody

W badaniu wykorzystano dwa szczepy szczurów: Wistar Kyoto (WKY, zwierzęcy model depresji lekoopornej) oraz Wistar Han (WIS, grupa kontrolna). Psylocybinę podano jednokrotnie w dawce 0,3 mg/kg, a analizę proteomiczną wykonano po 7 dniach od podania leku. Poziom białek oznaczono za pomocą spektrometrii mas oddzielnie dla populacji komórek neuronalnych i nieneuronalnych, które wyizolowano z kory przedczołowej metodą sortowania komórek aktywowanego fluorescencją (FACS). Wyniki przeanalizowano statystycznie z zastosowaniem dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) w celu oceny efektu szczepu i podania leku.

### Wyniki

Oznaczenia proteomiczne pozwoliły na scharakteryzowanie puli białek charakterystycznych dla komórek neuronalnych i nieneuronalnych. Stwierdzono zależne od szczepu różnice w ekspresji białek w obu badanych populacjach komórek, przy czym więcej różnic zaobserwowano

w komórkach nieneuronalnych. Podanie psylocybiny wpływało na ekspresję białek zaangażowanych głównie w szlaki metaboliczne oraz procesy przetwarzania RNA.

### **Wnioski**

Uzyskane wyniki wskazują na istotne różnice molekularne w ekspresji białek pomiędzy szczepami szczurów WKY i WIS, widoczne zarówno w warunkach bazalnych, jak i po podaniu psylocybiny.

### Finansowanie

Badanie zostało sfinansowane z grantu wewnętrznego Intramural „Exploring molecular correlates of psilocybin action in the animal model of treatment-resistant depression” oraz ze środków działalności statutowej Zakładu Farmakologii.

## **Hybrydowe podłoża stałe o wysokiej pojemności do syntezy długich oligonukleotydów stosowanych w terapiach kwasami nukleinowymi**

Oskar Kołacki<sup>1</sup>, Stanisław Trzeciński<sup>1</sup>, Krzysztof Waligórski<sup>2</sup>, Katarzyna Kolet<sup>2</sup>, Jolanta Brzezińska<sup>1</sup>, Marcin Chmielewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, ul. Noskowskiego 12/14, Poznań, Polska

<sup>2</sup> FutureSynthesis sp. z o.o., ul. Rubież 46B 61-612 Poznań

adres e-mail osoby prezentującej: [okolacki@ibch.poznan.pl](mailto:okolacki@ibch.poznan.pl)

Wydajność podłoży stałych stanowi kluczowe ograniczenie w syntezie ultradługich oligonukleotydów metodą syntezy na podłożu stałym, gdzie pojemność załadunku, efektywność syntezy oraz końcowa czystość produktu stają się coraz bardziej krytyczne w przypadku bardzo długich sekwencji DNA i RNA ( $n > 150$ ). W niniejszej pracy przedstawiamy hybrydowe podłoża stałe złożone z nieorganicznego nośnika krzemionkowego (szkło o kontrolowanej porowatości, CPG 2000) funkcjonalizowanego warstwą polikationową, zaprojektowane w celu przewyższenia ograniczeń po-

jemności i czystości charakterystycznych dla materiałów komercyjnych. Opracowane hybrydowe podłoża charakteryzują się wyższą gęstością optyczną produktu głównego w porównaniu ze standardowymi podłożami komercyjnymi (~31 vs ~29) oraz osiągają efektywność syntezy na poziomie około 83%, wobec ~75% dla podłoży komercyjnych w porównywalnych warunkach. Co istotne, materiał hybrydowy zachowuje pojemność załadunku ( $40,83 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) porównywalną z niskoporowatym CPG 1000 ( $39,5 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), pomimo zmniejszonej nieorganicznej powierzchni właściwej, co wskazuje na bardziej efektywne wykorzystanie dostępnej powierzchni w trakcie syntezy.

Zaprezentowany materiał może być bezpośrednio wdrożony na standardowych platformach syntezy na podłożu stałym, umożliwiając wysokoczystą, wysokoprzepustową i skalowalną produkcję oligonukleotydów. Zdolność do niezawodnej syntezy długich oligonukleotydów wspiera zaawansowane technologie, w tym procesy składania genów, terapię DNA/RNA, długie sondy hybrydacyjne oraz programowalne nanostruktury kwasów nukleinowych.

**Warianty utraty funkcji w nowych farmakogenach są powiązane z fenotypami skuteczności leczenia depresji: analiza ~75.000 pacjentów z UK Biobanku**

P-34

Paula Konowalska<sup>1</sup>, Sylwia Grubarek<sup>1</sup>, Paweł Pienkowski<sup>1</sup>, Jacek Hajto<sup>1</sup>, Bartosz Baszkiewicz<sup>1</sup>, Dzesika Hoinkis<sup>1</sup>, Marcin Piechota<sup>1</sup>, Michał Korostynski<sup>1</sup>, Małgorzata Borczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Farmakogenomiki, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Kraków, Polska

Wykorzystując dane z sekwencjonowania całego genomu (WES) oraz powiązaną z nimi elektroniczną dokumentację medyczną (EHR) z UK Biobanku, przeanalizowaliśmy dane ~75.000 osób, które kiedykolwiek

miały przypisane przez lekarza leki przeciwdepresyjne. Warianty LoF o wysokiej wiarygodności zidentyfikowano za pomocą narzędzi LOF-TEE oraz VEP. Na podstawie recept z EHR opracowano indywidualne profile terapeutyczne, z których wyodrębniono ilościowe parametry skuteczności leczenia: maksymalną dawkę leku, czas trwania najdłuższego ciągłego cyklu leczenia oraz liczbę poszczególnych okresów leczenia. Związek między skumulowanym obciążeniem wariantami LoF (gene-level LoF burden score) dla 9906 genów a powyższymi parametrami zbadano za pomocą regresji liniowej z uwzględnieniem współzmiennych. Zidentyfikowaliśmy 198 genów istotnie powiązanych z fenotypami skuteczności leczenia. Wśród nich stwierdzono silną nadreprezentację genów zaangażowanych w procesy ADME (wchłanianie, dystrybucję, metabolizm i wydalanie substancji). Analiza wzbogacenia szlaków wykazała istotny udział układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS) (np. *CREB3L2*, *CALML4*, *CAMK2G*, *CAMK1G*) oraz szlaku glukuronidacji (np. *UGDH*, *UGT1A9*, *UGT2B7*, *UGT1A6*). Wyniki te wskazują, że warianty LoF w konkretnych genach związanych z układem RAAS, glukuronidacją i innymi procesami ADME wpływają na skuteczność leków przeciwdepresyjnych, odkrywając potencjalne mechanizmy genetyczne lekooporności i różnorodności odpowiedzi na leczenie. Przedstawiliśmy zestaw nowych farmakogenów o bezpośrednim znaczeniu funkcjonalnym dla metabolizmu leków. Praca ta dostarcza dowody dla psychiatrii precyzyjnej i wskazuje konkretne cele dla przyszłych testów farmakogenomicznych.

## Czas przebywania antagonistów receptora 5-HT<sub>2A</sub>: nowe dane z badań nad pochodnymi ritanseryny

Szymon K. Kordylewski<sup>1</sup>, Kinga Kurowska<sup>1</sup>, Krystyna Nęcza<sup>1</sup>, Dorota Satała<sup>1,2</sup>,  
Ryszard Bugno<sup>1</sup>, Sabina Podlewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farymologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-315 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Zakład Biochemii Porównawczej i Bioanalitiky, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [kordyl@if-pan.krakow.pl](mailto:kordyl@if-pan.krakow.pl)

W ostatniej dekadzie obserwuje się wyraźny wzrost zainteresowania zagadnieniem czasu przebywania ligandu w kieszeni wiążącej receptora (ang. *residence time*, RT). Parametr ten jest postulowany jako potencjalnie lepszy predyktor aktywności wewnętrznej (ang. *efficacy*) kompleksu ligand-receptor niż klasyczne miary powinowactwa (ang. *affinity*).<sup>1,2</sup> Dotychczas jednak badania tego zjawiska stosunkowo rzadko obejmowały receptory sprzężone z białkami G (GPCR).

Celem naszych badań było systematyczne zbadanie tego zagadnienia poprzez uzyskanie biblioteki związków o zbliżonym powinowactwie do receptora 5-HT<sub>2A</sub>, lecz zróżnicowanym czasie przebywania w miejscu wiążącym. Jako strukturę wyjściową wybraliśmy ritanserynę – dobrze scharakteryzowanego antagonistę 5-HT<sub>2A</sub> i zsyntetyzowaliśmy bibliotekę jej pochodnych. Dla wszystkich związków przeprowadziliśmy badania *in vitro*, które potwierdziły długi RT dla ritanseryny ( $68 \pm 0.96$  min) oraz pozwoliły zidentyfikować zarówno analogi o jeszcze dłuższym RT (do  $123 \pm 11$  min), jak i związki o znacząco krótszym RT ( $8.5 \pm 5.5$  min).

Uzupełniająco wykonaliśmy klasyczne, jak i bardziej zaawansowane symulacje komputerowe, które umożliwiły scharakteryzowanie ścieżek i mechanizmów dysocjacji ligandów z receptora 5-HT<sub>2A</sub>. Analizy te wykazały udział stabilizacji pozy jak i zachowania ligandów w tzw. drugiej kieszeni wiążącej (ang. *secondary binding pocket*) w procesie dysocjacji.

Badania realizowane w ramach grantu OPUS nr 2023/49/B/NZ7/03340 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

## Referencje

1. Kordylewski, S. K.; Bugno, R.; Podlewska, S. Residence Time in Drug Discovery: Current Insights and Future Perspectives. *Pharmacological Reports* 2025. <https://doi.org/10.1007/s43440-025-00748-z>.
2. Copeland, R. A. Evolution of the Drug-Target Residence Time Model. *Expert Opin. Drug Discov.* 2021, 16 (12), 1441–1451. <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1948997>.

P-36

## **Blokowanie to przeszłość, degradacja to przyszłość: nowy kierunek (r)ewolucji w projektowaniu leków celujących w COX-2**

Kacper Kossakowski<sup>1,2</sup>, Anna Pawełczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Szkoła Doktorska UMP, ul. Fredry 10, 61-701 Poznań, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [kacper.kossakowski@student.ump.edu.pl](mailto:kacper.kossakowski@student.ump.edu.pl)

**Wstęp:** Cyklooksygenaza-2 (COX-2) ulega podwyższonej ekspresji w stanach zapalnych oraz w różnych typach nowotworów. Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) hamują jej aktywność enzymatyczną, lecz pozostawiają nienaruszone pozakatalityczne funkcje proonkogenne. Technologia chimer ukierunkowanych na proteolizę (PROTAC) oferuje zmianę tego klasycznego paradygmatu farmakologii poprzez indukowanie proteosomalnej degradacji COX-2, co pozwala na przezwycięzenie ograniczeń klasycznej inhibicji [1].

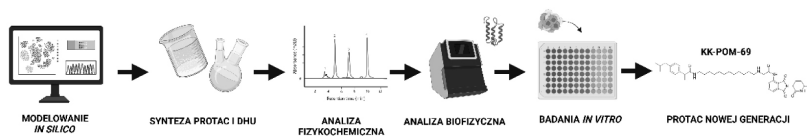
**Cele:** Głównym zadaniem badawczym jest opracowanie biblioteki PROTAC zdolnych do degradacji COX-2, opartych na różnych NLPZ, wykorzystujących zoptymalizowane linkery i ligandy rekrutujące E3 ligazy, w tym nowe pochodne dihydrouracylu (DHU) jako ligandy cereblonu

(CRBN), a następnie ocena wpływu degradacji COX-2 na procesy pro-onkogenne.

**Metody:** Badanie obejmuje projektowanie *in silico* (dokowanie i dynamika molekularna), syntezę organiczną z pełną charakterystyką strukturalną, ocenę fizykochemiczną, analizę biofizyczną trójskładnikowych kompleksów oraz ocenę biologiczną: cytotoksyczność, analiza degradacji COX-1/COX-2 (ELISA) oraz RT-qPCR poziomu ekspresji cytokin prozapalnych.

**Wyniki:** Do tej pory otrzymano 18 związków PROTAC oraz 8 ligandów DHU. Wstępne badania biologiczne pozwoliły na zidentyfikowanie cząsteczki KK-POM-69 – opartej na ibuprofenie i pomalidomidzie z 12-węglowym linkerem alkiowym – jako PROTAC degradującego istotnie statystycznie ( $p < 0.05$ ) COX-2 na poziomie 25%.

**Wnioski i perspektywy:** Badanie potwierdza koncepcję degradacji COX-2 zależnej od CRBN, jednak obecna skuteczność degradacyjna wymaga optymalizacji. Wyniki sugerują, że choć długie łańcuchy alkiowe skutecznie naśladują naturalny substrat – kwas arachidonowy – w miejscu wiązania z COX-2, to ich znaczna hydrofobowość i niska rozpuszczalność ograniczają potencjał degradacyjny. Dalsze prace obejmą modyfikację linkerów i wdrożenie hydrofilowych ligandów DHU, co stanowić będzie fundament dla rozwoju nowej klasy leków celujących w COX-2.



Ryc. 1. Schemat planu badań

Finansowanie: Grant Badawczy Szkoły Doktorskiej, finansowany ze środków statutowych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (nr grantu: 176/2025/DGB).

## Referencje

1. Kossakowski K, Jurga M, Pawelczyk A. How to design PROTAC molecules? A practical guide to proteolysis-targeting chimeras. *Farm Pol*, 2025, 81(4), 195-211.

## Oś staw-mózg: wpływ obwodowej degradacji tkanki chrzęstnej na profil neurochemiczny struktur podkorowych mózgu

Mateusz Królewski<sup>1</sup>, Nicolo Bittoni<sup>1</sup>, Magdalena Białoń<sup>1</sup>, Katarzyna Starowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [krolew@if-pan.krakow.pl](mailto:krolew@if-pan.krakow.pl)

**Wstęp:** Osteoartroza (OA) jest postępującą chorobą obejmującą degradację całego stawu, charakteryzującą się erozją chrząstki stawowej, patologicznym remodelingiem kości podchrzęstnej oraz niskiego stopnia stanem zapalnym tkanek miękkich. Schorzenie to prowadzi do przewlekłych dolegliwości bólowych u ponad 300 milionów osób na świecie, wynikających z interakcji czynników biomechanicznych, genetycznych oraz zapalnych. Postępująca destrukcja struktur stawowych sprzyja rozwojowi sensytyzacji obwodowej i ośrodkowej, co w sposób trwały obniża jakość życia pacjentów. Skuteczna terapia osteoartrozy wymaga zatem wielokierunkowego hamowania progresji zmian strukturalnych przy jednoczesnej modulacji mechanizmów bólu przewlekłego.

**Metody:** Badanie przeprowadzono na samcach szczurów rasy Wistar (225–250 g). Model OA indukowano dostawową (i.a.) iniekcją monodooctanu sodu (MIA; 2 mg/50 µl 0,9% NaCl). Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta otrzymujące roztwór soli fizjologicznej. W celu oceny nadwrażliwości przeprowadzono test von Frey’a w odpowiedzi na bodźce dotykowe oraz test zimnej płytki w odpowiedzi na bodźce termiczne. Izolację struktur mózgu (hipokamp i prążkowie) wykonano w 3., 6. i 10. tygodniu od indukcji OA. Stężenia interleukin 6 (IL-6) oraz 10 (IL-10) oznaczono przy użyciu testów immunoenzymatycznych ELISA.

**Wyniki:** Podanie MIA (i.a.) wywołało trwałą nadwrażliwość mechaniczną i termiczną obserwowaną we wszystkich punktach czasowych, co wraz z narastającą reakcją w teście von Frey’a potwierdza postępujący rozwój neuropatycznej komponenty bólu. Analiza biochemiczna wykazała modulację poziomów cytokin, wykazującą asymetrię między półkulami mózgu. W prążkowie odnotowano postępujący wzrost stężenia IL-6 oraz IL-10 w półkuli kontralateralnej (przeciwnej do podania MIA),

przy czym poziomy IL-10 utrzymywały się na podwyższonym poziomie długotrwale. W hipokampie zaobserwowano odmienną dynamikę: we wczesnej fazie poziom obu interleukin był istotnie wyższy w półkuli kontralateralnej w porównaniu do grupy kontrolnej, jednak w miarę postępu choroby stężenia te ulegały obniżeniu. W półkuli ipsilateralnej poziomy cytokin pozostawały zbliżone do wartości kontrolnych, z wyjątkiem 10. tygodnia, w którym odnotowano spadek poziomu IL-6 w hipokampie u zwierząt z modelem MIA.

**Wnioski:** Wyniki wskazują na silną, asymetryczną odpowiedź neuroimmunologiczną w strukturach podkorowych, występująca głównie w półkuli kontralateralnej, co koreluje z drogami przewodzenia sygnału nocycyptywnego. Długotrwałe utrzymywanie się wysokiego poziomu przeciwzapalnej IL-10 w prążkowie może sugerować aktywację procesów neuroprotekcyjnych w odpowiedzi na przewlekły stres bólowy. Z kolei obserwowany spadek poziomu cytokin w hipokampie w późnej fazie modelu może świadczyć o wyczerpaniu mechanizmów kompensacyjnych i postępującej dysfunkcji struktur zaangażowanych w przetwarzanie emocjonalno-poznawcze bólu.

Badanie zostało sfinansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2019/35/B/NZ7/01176.

## **Proteomika osocza/surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego w stwardnieniu zanikowym bocznym: timsTOF Pro 2 (PASEF), DIA-NN i AI**

Przemysław Mielczarek<sup>1</sup>, Kinga Szafran-Pilch<sup>1</sup>, Wojciech Kuban<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN, Zakład Farmakokinetyki i Metabolizmu Leków, Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [kuban@if-pan.krakow.pl](mailto:kuban@if-pan.krakow.pl)

Celem projektu premodiALS jest identyfikacja wczesnych (presymptomatycznych) sygnatur stwardnienia zanikowego bocznego (ALS) w osoczu/surowicy oraz płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i uchwycenie zmian towarzyszących fenokonwersji (przejściu do fazy objawowej) [1]. Materiał biologiczny pobierany jest według znormalizowanych procedur na wizycie bazowej (V0) oraz po 12 miesiącach (V1), co umożliwi analizy podłużne i porównania grupowe w kohorcie ryzyka i we wczesnej chorobie [1].

Analiza proteomu będzie prowadzona metodą LC-MS/MS na spektrometrze timsTOF Pro 2 (Bruker) z separacją jonów w TIMS i akwizycją PASEF, sprzężonym z kapilarnym LC Ultimate 3000 [2] Pomiar w trybie DIA zapewni wysoką kompletność i powtarzalność ilościowania; dla osocza/surowicy i PMR zostaną przygotowane odrębne biblioteki widm, dostosowane do specyfiki tych matryc. Przetwarzanie danych zostanie wykonane w DIA-NN, który wykorzystuje głębokie sieci neuronowe oraz strategie korekcji interferencji i błędów sygnału, z kontrolą q-value/FDR na poziomie peptydów i białek [3]. Uzyskana macierz intensywności białek/peptydów stanowi podstawę do analiz statystycznych i porównań grupowych.

Uzyskana macierz ilościowa zostanie następnie użyta do treningu nadzorowanego modelu deep learning (DeeL) w celu wykrycia subtelnych różnic między osobami fenokonwertowanymi a kontrolą oraz wyprowadzenia minimalnego, replikowalnego panelu biomarkerów [4], [5]. Walidacja będzie prowadzona w schemacie nested CV z podziałem osobniczym (grouped CV), a selekcja cech zostanie oparta o stabilne metody doboru zmiennych, ograniczające nadmierne dopasowanie [6].

## Referencje

1. L. Tzeplaeff *et al.*, "Identification of a presymptomatic and early disease signature for amyotrophic lateral sclerosis (ALS): protocol of the premodiALS study," *Neurol Res Pract*, vol. 7, no. 1, p. 56, Aug. 2025.
2. F. Meier *et al.*, "Online Parallel Accumulation-Serial Fragmentation (PASEF) with a Novel Trapped Ion Mobility Mass Spectrometer," *Mol Cell Proteomics*, vol. 17, no. 12, pp. 2534–2545, Dec. 2018.
3. V. Demichev, C. B. Messner, S. I. Vernardis, K. S. Lilley, and M. Ralser, "DIA-NN: neural networks and interference correction enable deep proteome coverage in high throughput," *Nat Methods*, vol. 17, no. 1, pp. 41–44, Jan. 2020.
4. J. You *et al.*, "Plasma proteomic profiles predict individual future health risk," *Nat Commun*, vol. 14, no. 1, p. 7817, Nov. 2023.
5. E. Hartman *et al.*, "Interpreting biologically informed neural networks for enhanced proteomic biomarker discovery and pathway analysis," *Nat Commun*, vol. 14, no. 1, p. 5359, Sep. 2023.
6. J. Hédou *et al.*, "Discovery of sparse, reliable omic biomarkers with Stabl," *Nat Biotechnol*, vol. 42, no. 10, pp. 1581–1593, Oct. 2024.

Badania sfinansowane ze środków grantu JPco-fuND2 Call 202; Nr 2021/03/Y/NZ7/00111.

## Optymalizacja pochodnych 5-spirohydantoiny w poszukiwaniu nowych struktur wiodących w terapii glejaka wielopostaciowego

Katarzyna Kucwaj-Brysz<sup>1</sup>, Kinga Czarnota-Łydka<sup>1,2</sup>, Jakub Wiechetek<sup>1</sup>,  
Aleksandra Mąsior<sup>1</sup>, Danuta Jantas<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Medyczna 9, 30-688, Kraków, Polska

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, św. Łazarza 15, 31-530, Kraków, Polska

<sup>3</sup> Zakład Biochemii Mózgu, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Smętna 12, 31-343, Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [katarzyna.kucwaj@uj.edu.pl](mailto:katarzyna.kucwaj@uj.edu.pl)

Pomimo ogromnej ilości badań podjętych w celu poszukiwania bezpiecznej i skutecznej terapii przeciwnowotworowej, glejak wielopostaciowy pozostaje najbardziej agresywnym typem raka mózgu. Mediana przeżywalności po usłyszeniu diagnozy to wciąż zaledwie od 15 do 18 miesięcy. W związku z tym poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych stanowi bardzo pilne wyzwanie chemii medycznej [1].

Pośród pochodnych 5-spirofluorenohydantoiny wytypowano związek **AR5**, który cechował się wysoką aktywnością cytotoksyczną wobec linii komórkowych ludzkiego glejaka U87MG i A172 (IC<sub>50</sub> odpowiednio 15 i 5 μM) oraz selektywnością wobec niezmiennych nowotworowo komórek ludzkich fibroblastów [2]. Jednakże ograniczeniem w dalszym zastosowaniu (przed)klinicznym była jego niska rozpuszczalność oraz wysoka masa molowa. W celu poprawy właściwości fizykochemicznych zaprojektowano i zsyntezowano serię nowych pochodnych związku **AR5**, badając wpływ podstawienia w pozycji C5 i N3 hydantoiny, długość linkera alkilowego, jak również uwzględniając preferencję braku centrum stereogenicznego (w pozycji C5 hydantoiny).

Otrzymane pochodne następnie badano w kontekście ich wpływu na żywotność komórek (test redukcji MTT) oraz cytotoksyczność (test uwalniania LDH) w liniach komórkowych A172 i U87MG. Najbardziej obiecujące związki przebadano również w komórkach ludzkich fibroblastów oraz astrocytów w celu wyeliminowania niespecyficznego cytotoksycznego. Na podstawie otrzymanych wyników wyselekcjono-

wano nową strukturę wiodącą o wysokiej aktywności ( $IC_{50}$  odpowiednio 7 i 5  $\mu\text{M}$ ) i wyższej rozpuszczalności względem pochodnej **AR5** oraz zdefiniowano dalsze kierunki modyfikacji.

Badania zostały częściowo sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki (grant 2021/43/D/NZ7/00891) oraz Studenckie Koło Naukowe Chemii Medycznej działające przy Katedrze Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków UJ CM.

### Referencje

1. Pouyan et al. Glioblastoma multiforme: insights into pathogenesis, key signaling pathways, and therapeutic strategies, *Molecular Cancer*, 2025, 24-58.
2. Kucwaj-Brysz et al. The spirohydantoin derivatives as potential new anti-glioblastoma agents – in vitro study of their relevance to dopaminergic. *Scientific Reports*, under review (minor revision).

## **Analiza *in silico* wpływu mutacji MEK2 Glu207Lys w zespole CFC4 na wiązanie inhibitorów**

P-40

Kinga Kurowska<sup>1,2</sup>, Małgorzata Borczyk<sup>1,2</sup>, Kacper Łukasiewicz<sup>2,3</sup>, Sabina Podlewska<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja, Smętna 12, 31-343, Kraków, Polska

<sup>2</sup> MEK2 Research Foundation, Aleja Jana Pawła II 59H/2, 15-753 Białystok, Polska

<sup>3</sup> Uniwersytet VIZJA, Okopowa 59, 01-043, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [kurowska@if-pan.krakow.pl](mailto:kurowska@if-pan.krakow.pl)

Zespół sercowo-twarzowo-skróny (CFC) to rzadka RASopatia, której podtyp CFC4 wynika z patogennych wariantów genu *MAP2K2* (MEK2) [1]. Mimo wysokiej homologii sekwencyjnej z lepiej poznanym białkiem MEK1, strukturalne skutki mutacji w MEK2 pozostają słabo zbadane, między innymi ze względu na brak kompletnych struktur krystalicznych. W niniejszej pracy wykorzystano metody obliczeniowe do określenia

mechanistycznych konsekwencji wariantu Lys207Glu. Na bazie modelowania homologicznego skonstruowano kompletną strukturę MEK2, a następnie przeprowadzono dokowanie molekularne klinicznie stosowanych inhibitorów oraz symulacje dynamiki molekularnej dla układów typu dziki i zmutowanego. Wykazano, że badana mutacja wpływa na stabilność konformacyjną kinazy oraz zmienia profil oddziaływania z ligandami. Analizy wskazały Mirdametinib i Trametinib jako najbardziej obiecujące związki w kontekście wariantu E207K. Uzyskane wyniki dostarczają nowych informacji o mechanizmach molekularnych CFC4 i mogą wspierać rozwój selektywnych strategii terapeutycznych.

### Referencje

1. K.A. Rauen, The RASopathies, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 14 (2013) 355–369.
2. Nikolaev, Sergey I. ; Rimoldi, Donata ; Iseli, Christian et al., Exome sequencing identifies recurrent somatic MAP2K1 and MAP2K2 mutations in melanoma. In: *Nature Genetics.* 2012 ; Vol. 44, No. 2. pp. 133-139.

## Krystalografia wysokociśnieniowa jako pomost między strukturą statyczną a dynamiczną: przykład sztywności i zmienności architektury kieszeni wiążącej w proteinazie K

Katarzyna Kurpiewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, Zakład Krystalochemii i Krystalofizyki, Zespół Biokrytalografii, ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [katarzyna.kurpiewska@uj.edu.pl](mailto:katarzyna.kurpiewska@uj.edu.pl)

Proteinaza K jest stabilnym enzymem proteolitycznym, często wykorzystywanym jako modelowy układ w badaniach strukturalnych [1]. Jej wysoka odporność na czynniki fizykochemiczne czyni ją dobrym obiektem do analizy wpływu warunków zewnętrznych, w tym ciśnienia, na „kraj-

braz konformacyjny” struktury białka. Analiza konformacji i sztywności struktur stanowi natomiast istotny element w projektowaniu i interpretacji oddziaływań białko-ligand. Połączenie informacji strukturalnych ze zmianami wywołanymi wysokim ciśnieniem [2] stanowi interesujące podejście do identyfikacji regionów białka podatnych na zmiany konformacyjne i istotnych dla mechanizmów rozpoznania oraz wiązania cząsteczek biologicznie aktywnych, ligandów czy potencjalnych leków [3]. W celu zbadania wpływu ciśnienia na sztywność strukturalną proteiny K oraz architekturę potencjalnej kieszeni wiążącej w strukturach apo wyznaczono struktury enzymu w ciśnieniu atmosferycznym (ap), 0.6 GPa, 0.9 GPa oraz 1.15 GPa. Porównanie struktur ujawniło zachowanie globalnego fałdu białka przy jednoczesnych lokalnych zmianach elastyczności, widocznych jako różnice w wartościach czynników temperaturowych oraz subtelne przeorganizowanie pozycji bocznych łańcuchów aminokwasowych. Szczególną uwagę poświęcono rejonowi miejsca aktywnego analizując zmiany geometrii potencjalnej kieszeni wiążącej w funkcji ciśnienia.

Uzyskane wyniki wskazują, że wysokie ciśnienie może modulować lokalne właściwości strukturalne proteiny K bez istotnych zmian globalnej architektury białka. Obserwowane efekty mają znaczenie dla interpretacji struktur apo w kontekście zdolności białek do oddziaływania z małymi cząsteczkami oraz podkreślają użyteczność ciśnienia jako narzędzia do badania sztywności i organizacji miejsc wiążących w białkach.

### Referencje

1. Peng, S.; Xue, Z.; Shuhua, W.; Wie, X.; Fei, W.; Rongzhao, F.; Feng, W. Microbial proteases and their applications. *Front Microbiol.* 2023, *14*, 1236368.
2. Kurpiewska, K.; Sławek, J.; Klonecka, A.; Kozak, M. The Promise and Challenge of High Pressure Macromolecular Crystallography. *Crystals*, 2023, *13*(560), 1–20.
3. Dechang, L.; Baohua, J. Protein conformational transitions coupling with ligand interactions: Simulations from molecules to medicine. *Medicine in Novel Technology and Devices*, 2019, *3*, 100026.

## Fluorochinolony oraz ich pochodne – aktywność względem *Mycobacterium tuberculosis* i *Mycobacterium abscessus* oraz mechanizmy nabywania oporności u prątków

Magdalena Kuzioła<sup>1,2</sup>, Małgorzata Korycka-Machała<sup>1</sup>, Norbert Odolczyk<sup>3</sup>, Jarosław Dziadek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Biologii Medycznej, PAN, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź, Polska

<sup>2</sup> Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów PAN w Łodzi, ul. Matejki 21/23, 90-237 Łódź, Polska

<sup>3</sup> Instytut Biochemii i Biofizyki, PAN, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [UL0221091@edu.uni.lodz.pl](mailto:UL0221091@edu.uni.lodz.pl)

*Mycobacterium tuberculosis* – to czynnik etiologiczny gruźlicy, na którą w 2024 roku zachorowało 10,7 mln osób, natomiast 1,23 mln osób zmarło [1]. Drugim kluczowym patogenem z rodzaju *Mycobacterium* jest *M. abscessus* wywołujący ciężkie infekcje układu oddechowego u osób z obniżoną odpornością [2]. Obecnie, oba te patogeny cechuje wysoki poziom oporności na standardowo stosowane leki. Ważną grupą leków stosowanych w zakażeniach prątkami wielolekoopornymi są fluorochinolony, w przypadku których często obserwuje się nabytą oporność [1, 2]. Stąd istotne jest modyfikowanie znanych bądź poszukiwanie nowych leków przeciwpłątkowych, które będą zarówno skuteczne, jak i w pełni bezpieczne dla pacjentów.

Prezentowane badanie obejmuje dwa wzorcowe gatunki mykobakterii: *M. tuberculosis* oraz *M. abscessus*, a także związki zidentyfikowane w skryningu fenotypowym należące do grupy fluorochinolonów. W etapie badań wykazano wysoką aktywność przeciwpłątkową badanych związków na podstawie określenia minimalnego stężenia hamującego (MIC) oraz bakteriobójczego (MBC). Skuteczność fluorochinolonów badano również względem prątków znajdujących się wewnątrz ludzkich makrofagów, a także prątków tworzących biofilm. W drugiej fazie badań zdefiniowano tarczę molekularną dla badanych związków poprzez selekcję mutantów, sekwencjonowanie całogenomowe (NGS) i/lub metodą Sangera oraz zidentyfikowanie najbardziej powszechnych mutacji warunkujących oporność prątków na te związki. Ponadto, przeprowadzono dokowanie molekularne, a także wyznaczono teoretyczną siłę wiązania fluorochinolonów do wytypowanej tarczy molekularnej.

## Referencje

1. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2025. Geneva: World Health Organization, 2025, License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Nguyen, T. Q.; Heo, B. E.; et al. Exploring antibiotic resistance mechanisms in *Mycobacterium abscessus* for enhanced therapeutic approaches. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15:1331508. doi: 10.3389/fmicb.2024.1331508.

## **„Badania nad białkami kompleksu degradosomu RNA u *Mycobacterium tuberculosis* jako droga do odkrycia nowych leków przeciwgruźliczych”**

P-43

Yaroslav Lavrynychuk<sup>1,2</sup>, Jakub Skibiński<sup>1</sup>, Jarosław Dziadek<sup>3</sup>, Magdalena Chmiela<sup>2</sup>, Przemysław Płociński<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Szkoła Doktorska BioMedChem i Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, ul Banacha 12/16 90-236, Łódź, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Immunologii Infekcyjnej, ul Banacha 12/16 90-236, Łódź, Polska

<sup>3</sup> Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [yaroslav.lavrynychuk@edu.uni.lodz.pl](mailto:yaroslav.lavrynychuk@edu.uni.lodz.pl)

Metabolizm RNA może stanowić cel dla nowych klas leków przeciwdrobnoustrojowych lub dla rozszerzenia zastosowania już istniejących leków. Wiedząc, że białka stanowiące składniki kompleksu degradosomu RNA (takie jak PNPaza, helikaza RhlE i RNaza J) przyczyniają się do powstawania i rozprzestrzeniania się oporności na antybiotyki u prątków gruźlicy, *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), rozpoczęliśmy badania w celu znalezienia specyficznych inhibitorów głównego składnika degradosomu fosforylasy polinukleotydowej – PNPazy. Stworzyliśmy test o średniej/wysokiej przepustowości, aby sprawdzić poziom aktywności fosforolitycznej lub polimeryzacyjnej PNPazy na substratach oligonukleotydowych stanowiących jednoniciowe RNA lub DNA w obecności

fluorescencyjnej Tioflawiny T i inhibitorów. Z biblioteki >8000 związków bioaktywnych (MedChemExpress, NJ, USA) znaleźliśmy 5 substancji, które hamują aktywność poliadenylacyjną i degradacyjną PNPazy do poziomu poniżej 50% w stężeniach poniżej 25  $\mu\text{M}$ . Analiza kinetyczna oraz badania oddziaływań molekularnych wykazały, że inhibitory te oddziałują z enzymem poprzez różne tryby działania, obejmujące wiązanie allosteryczne z kompleksem białkowym, bezpośrednie blokowanie miejsca aktywnego oraz konkurowanie z naturalnym substratem RNA/DNA jako substraty alternatywne dla PNP. Co istotne, wytypowane związki wykazują również aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec żywych komórek *Mycobacterium tuberculosis*, z wartościami minimalnego stężenia hamującego (MIC) sięgającymi  $\leq 20 \mu\text{M}$ , co stanowi solidną podstawę do dalszych badań w modelach *in vivo*.

Dotychczasowe wyniki planujemy rozwijać we współpracy z chemikami syntetycznymi, koncentrując się na optymalizacji właściwości fizykochemicznych zidentyfikowanych związków. Kolejnym etapem badań będzie racjonalna modyfikacja inhibitorów w celu zwiększenia ich selektywności wobec bakteryjnej PNPazy, przy jednoczesnym ograniczeniu oddziaływania na homologiczny enzym ludzki. Opracowanie takich selektywnych, bioaktywnych inhibitorów może stanowić podstawę do rozwoju nowych strategii terapeutycznych przeciwko groźnemu patogenowi bakteryjnemu jakim jest prątek gruźlicy.

Sfinansowano przez NCN: projekt numer 2019/34/E/NZ1/000338-SONATA-BIS9, kierownik dr. hab. Przemysław Płociński, prof. UŁ.

## Discovery of a highly selective L-asparaginase for precision therapy of acute lymphoblastic leukemia

P-44

Maciej Janicki<sup>1</sup>, Andrzej Zieleziński<sup>2</sup>, Izabela Pieróg<sup>3,4</sup>, Joanna Śliwiak<sup>5</sup>, Agnieszka Ludwików<sup>1</sup>, Wojciech M. Karłowski<sup>2</sup>, Mariusz Jaskólski<sup>5,6</sup>, Joanna Loch<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Biotechnology, Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Poznan, Poland

<sup>2</sup> Laboratory of Computational Biology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, Poznan, Poland

<sup>3</sup> Department of Crystal Chemistry and Crystal Physics, Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, Krakow, Poland

<sup>4</sup> Doctoral School of Exact and Natural Sciences, Jagiellonian University, Krakow, Poland

<sup>5</sup> Department of Crystallography, Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University, Poznan, Poland

<sup>6</sup> Institute of Bioorganic Chemistry, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland  
adres e-mail osoby prezentujące: [joanna.loch@uj.edu.pl](mailto:joanna.loch@uj.edu.pl)

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is commonly treated with L-asparaginases, enzymes that deprive leukemic cells of the essential amino acid L-asparagine [1]. However, currently approved L-asparaginases originate from only two bacterial species and are frequently associated with severe adverse effects caused by off-target L-glutaminase activity [2]. In our project, we applied a strategy combining genome-scale bioinformatic screening, advanced structural modeling, and experimental validation to identify novel L-asparaginases with improved substrate selectivity. Approximately 85,000 prokaryotic genomes were analyzed, resulting in a set of nearly 39,000 Class I L-asparaginases. Then, candidate enzymes were prioritized using AlphaFold2-based structural predictions, molecular docking, and molecular dynamics simulations to assess L-asparagine substrate specificity.

Expression and kinetic characterization of the top six candidates led to the identification of a novel L-asparaginase from *Acidobacteriota sp.*, exhibiting high catalytic efficiency toward L-asparagine and negligible L-glutaminase co-activity. Structural analyses highlighted a flexible gating element as a key determinant of substrate specificity, allowing the proposal of a revised active-site model in which coordinated loop dynamics govern substrate recognition and catalysis. These results

illustrate how the integration of large-scale genomic analysis, molecular modeling, and functional assays can guide the development of safer, more selective biotherapeutics for precision oncology.

#### References

1. Sandley M, Angus J. Asparaginase therapy in patients with acute lymphoblastic leukemia: expert opinion on use and toxicity management. *Leuk Lymphoma* 2023, 64, 776-787.
2. Ściuk A; et al., Substrate affinity is not crucial for therapeutic L-asparaginases: anti-leukemic activity of novel bacterial enzymes. *Molecules* 2024, 29, 2272.

### Cyfrowy fenotyp bólu: Zintegrowana analiza behawioralno-metaboliczna modelu neuropatii u samców myszy C57BL/6J

Magdalena Maciuszek<sup>1</sup>, Magdalena Białoń<sup>1</sup>, Żaneta Broniewska<sup>1</sup>, Mateusz Królewski<sup>1</sup>, Katarzyna Starowicz<sup>1</sup>, Katarzyna Popiołek-Barczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Neurochemii, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [mmaciu@if-pan.krakow.pl](mailto:mmaciu@if-pan.krakow.pl)

Ból neuropatyczny (BN) istotnie obniża jakość życia, jednak tradycyjne modele badawcze rzadko uwzględniają zmiany behawioralne w rytmie dobowym. Istnieje potrzeba identyfikacji nowych, obiektywnych parametrów odzwierciedlających wpływ BN na codzienne funkcjonowanie organizmu.

Badania przeprowadzono u samców myszy C57BL/6J, w modelu bólu neuropatycznego (SNI, *ang. spared nerve injury*) oraz grupę kontrolną (operacja pozorowana). Wykorzystano system fenotypowania Pro-methion Core® do ciągłego monitorowania parametrów metabolicznych aktywności lokomotorycznej oraz snu. Rozwój neuropatii potwierdzono testami behawioralnymi określającymi nadwrażliwość na bodźce mecha-

niczne (test von Frey) i termiczne (test zimnej płytki). Wraz z rozwojem bólu neuropatycznego u zwierząt zaobserwowano istotne zmiany w profilu behawioralnym i metabolicznym. Myszy z grupy SNI wykazywały znaczące obniżenie aktywności lokomotorycznej, objawiające się skróceniem pokonywanego dystansu oraz redukcją prędkości poruszania się, oraz istotne wydłużenie czasu snu w fazie ciemnej (aktywnej). Stwierdzono także obniżone spożycie pokarmu, co bezpośrednio przełożyło się na niższą masę końcową ciała zwierząt SNI. W testach behawioralnych potwierdzono rozwój trwałej nadwrażliwości mechanicznej i termicznej we wszystkich punktach czasowych po zabiegu.

Zastosowanie zautomatyzowanych systemów fenotypowania stanowi innowacyjne podejście w badaniach farmakologicznych nad bólem neuropatycznym. Metoda ta pozwala na precyzyjną charakterystykę zaburzeń aktywności oraz rytmu okołodobowego, co ściśle odzwierciedla profil kliniczny obserwowany u pacjentów, w tym problemy ze snem i ograniczenie motoryki. Takie wielowymiarowe podejście pozwala na pełniejszą charakterystykę skuteczności potencjalnych leków przeciwbólowych w kontekście poprawy jakości życia.

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu OPUS22 2021/43/B/NZ7/01162 oraz środków statutowych Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Zakładu Neurochemii.

## Referencje

1. Finnerup Nanna, Kuner Rohini. Neuropathic Pain: From Mechanisms to Treatment. *Physiol Rev*, 2021, 259-301.
2. Mogil Jeffrey, Graham Allyson. Hypolocomotion, asymmetrically directed behaviors (licking, lifting, flinching, and shaking) and dynamic weight bearing (gait) changes are not measures of neuropathic pain in mice, *Mol Pain*. 2010, 34.

## Wpływ małowiązankowego kowalencyjnego inhibitora na los białka PD-L1

Agnieszka Maślanka<sup>1,2</sup>, Radosław Kiteł<sup>2</sup>, Łukasz Skalniak<sup>2</sup>, Marcin Surmiak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński, Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, ul. Prof. St. Łojasiewicza 11, 30-348 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Chemii, ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Zakład Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej, ul. Skawińska 8, 31-066 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [agnieszka.maslanka@doctoral.uj.edu.pl](mailto:agnieszka.maslanka@doctoral.uj.edu.pl)

Immunologiczny punkt kontrolny PD-1/PD-L1 jest bardzo popularnym celem molekularnym w kontekście terapii nowotworów, a przeciwciała monoklonalne blokujące tę interakcję z powodzeniem stosowane są w klinice do leczenia nowotworów takich jak rak płuc, czerniak, czy rak szyjki macicy. Niemniej jednak, przeciwciała monoklonalne posiadają swoje wady, związane m.in. z niską zdolnością penetracji tkanek, koniecznością podania dożylnego, wysokim kosztem produkcji czy silnymi efektami ubocznymi [1]. Alternatywą dla przeciwciał monoklonalnych są małowiązankowe inhibitory, które potencjalnie mogłyby wykazywać lepsze parametry – obecnie prowadzonych jest wiele badań, w których związki takie wykazują obiecującą aktywność w esejach komórkowych i wyższych modelach, jednak w większości przypadków dokładniejszy mechanizm ich działania nie jest zbadany. W przeciwieństwie do przeciwciał monoklonalnych, związki małowiązankowe, poza blokowaniem oddziaływania PD-L1 z jego receptorem, mogą również wpływać na ilość i rozmieszczenie białka w komórce. Przypuszcza się, że traktowanie komórek małowiązankowymi inhibitorami PD-L1 może prowadzić do natężonej internalizacji i degradacji tego białka i/lub do zakłócenia procesów dojrzewania i transportowania nowopowstających cząsteczek białka. Przedstawiane w tej pracy badania mają na celu scharakteryzowanie działania powstałego w naszym Zespole kowalencyjnego małowiązankowego inhibitora PD-L1 i jego wpływu na los białka PD-L1 w komórce. Wykazano blokowanie oddziaływania PD-1/PD-L1 oraz tworzenie kowalencyjnych homodimerów PD-L1 w wyniku traktowania związkiem, a także ukazano odmienne rozmieszczenie białka PD-L1 względem ko-

mórek kontrolnych oraz traktowanych związkiem niekowalencyjnym. Otrzymano również wyniki sugerujące, iż badany związek może prowadzić do powstawania homodimerów PD-L1 zarówno w *cis*, jak i w *trans*.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu SONATA BIS 11 nr UMO-2021/42/E/NZ7/00422 oraz prowadzone przy użyciu aparatury współfinansowanej z Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój POIR 4.2, projekt nr POIR.04.02.00-00-D023/20.

### Referencje

1. Ai, L.; Chen, J.; Yan, H.; He, Q.; Luo, P.; Xu, Z.; & Yang, X. Research Status and Outlook of PD-1/PD-L1 Inhibitors for Cancer Therapy. *Drug design, development and therapy*, 2020, 14, 3625–3649. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S267433>

## **MIP001 as an anti-inflammatory compound with a potential protective effect on dopamine neurons and reduction of astrocyte activation in an inflammatory model of Parkinson's disease**

P-47

Katarzyna Maziarz<sup>1</sup>, Zuzanna Wilk<sup>1</sup>, Justyna Barut<sup>1</sup>, Piotr Chmielarz<sup>1</sup>, Michał Wilczkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, Smętna 12, Krakow, Poland  
adres e-mail osoby prezentującej: [maziarz@if-pan.krakow.pl](mailto:maziarz@if-pan.krakow.pl)

Parkinson's Disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease and has long been associated mainly with the degeneration of dopamine neurons. Currently, more and more studies prove that inflammation is also largely responsible for the pathogenesis of PD. Epidemiological studies suggest that chronic use of NSAIDs may reduce the risk of developing PD - modulation of neuroinflammatory processes[1]. MIP001 represents a new anti-inflammatory agent characterized by strong therapeutic effectiveness and a favorable safety profile.

The aim of this study was to investigate the ability of MIP001 to regulate neuroinflammatory processes in PD *in vitro* models. Astrocyte cultures were exposed to fibrillar  $\alpha$ -synuclein (PFF) and MIP001 (10  $\mu$ M). Immunofluorescence was used for analysis. The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF $\alpha$  in the culture medium were investigated. Results showed that MIP001 reversed the morphological changes in astrocytes induced by PFF and pro-inflammatory cytokines. Treatment with MIP001 significantly reduced the production of TNF $\alpha$  ( $p < 0.05$ ) by activated astrocytes, without affecting cell viability. In subsequent studies, dopamine cultures were treated with neurotoxins (MPP $^+$  and 6OHDA) and MIP001. Immunofluorescence was used for analysis. The results suggest that MIP001 has anti-inflammatory (potentially neuroprotective) effects in dopamine cultures treated with the MPP $^+$ . So far, results from 6OHDA treatment have been equivocal.

These preliminary data demonstrate the capability of MIP001 to modulate neuroinflammation in PD-relevant models. This supports further investigation of MIP001 neuroprotective potential in more complex systems, and also with in-depth mechanistic studies.

#### FUNDING

The study was supported by a programme coordinated by the Medical Research Agency, co-financed by the European Union under the NextGeneration EU initiative, within the framework of the National Recovery Plan, Component D, Investment D3.1.1 (project no. 2024/ABM/03/KPO/KPOD.07.07-IW.07-0173/24-00).

#### References

1. Nam Xuelin Li,§ Shuzhi Wang,§ Shan Duan,§ Lin Long, Linsheng Zhuo, Yan Peng, Yongxia Xiong, Shuang Li, Xue Peng, Yiguo Yan, Zhen Wang,\* and Weifan Jiang Exploring the Therapeutic Effects of Multifunctional N-Salicylic Acid Tryptamine Derivative against Parkinson's Disease.

## Projektowanie i optymalizacja inhibitorów peptydowych białka Mia40 jako nowa strategia celowana w leczeniu ostrej białaczki szpikowej

P-48

Łukasz Milewski<sup>1,2</sup>, Veronica Bazzani<sup>2</sup>, Carlo Vascotto<sup>2</sup>, Paweł Siedlecki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawińskiego 5a, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Międzynarodowy Instytut Mechanizmów i Maszyn Molekularnych Polskiej Akademii Nauk, ul. Flisa 6, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [l.milewski@imol.institute](mailto:l.milewski@imol.institute)

Ostra białaczka szpikowa pozostaje nowotworem o złym rokowaniu, głównie z powodu szybkiego nabywania oporności na standardową chemioterapię. Jednym z kluczowych mechanizmów tej oporności jest zwiększona zdolność komórek nowotworowych do adaptacji do stresu oksydacyjnego, w tym efektywna naprawa mitochondrialnego DNA (mtDNA) [1]. Istotną rolę w tych procesach odgrywają szlak montażu przestrzeni międzybłonowej mitochondrium (MIA) oraz szlak naprawy przez wycinanie zasad (BER). Centralnymi białkami tych szlaków są odpowiednio oksydoreduktaza Mia40 oraz endonukleaza APE1. Interakcja Mia40-APE1 polega na utworzeniu mostka między Cys55 Mia40 a Cys93 APE1, co warunkuje translokację APE1 do mitochondriów i zwiększoną naprawę mtDNA. Celem pracy jest racjonalna optymalizacja inhibitora peptydowego (MSP1), pochodzącego z kompleksu TIM9.10 *S. cerevisiae*, wykazującego właściwości inhibicyjne względem Mia40, poprzez symulacje komputerowe i walidację eksperymentalną. Zidentyfikowano kieszenie o wysokim potencjale wiązania w pobliżu motywu CPC. Dokowanie peptyd-białko potwierdziło preferencyjne wiązanie MSP1 w najkorzystniejszej kieszeni Mia40 oraz ekspozycję motywu CPC sprzyjającą tworzeniu wiązania z peptydem. Symulacje dynamiki molekularnej (MD) kompleksu Mia40-MSP1 oraz analiza interakcji molekularnych na bazie klasteryzacji trajektorii pozwoliły na zaproponowanie modyfikacji sekwencji MSP1 w celu zwiększenia liczby korzystnych oddziaływań z Mia40. Weryfikacja eksperymentalna z wykorzystaniem rekombinowanych białek Mia40 oraz APE1 w testach wiązania *in vitro* i analizie elektroforezy natywnej pozwoliła na wyłonienie dwóch wariantów o najwyższym powinowactwie (redukcja aktywności Mia40 do 80%). W oparciu

o wyniki eksperymentalne, kolejną rundę symulacji MD oraz ilościową analizę trwałości interakcji, zaprojektowano drugą serię nowych analogów o zoptymalizowanych właściwościach fizykochemicznych, które obecnie są badane eksperymentalnie.

## Referencje

1. Banci, L.; Bertini, I.; Cefaro, C.; Ciofi-Baffoni, S.; Gallo, A.; Martinelli, M.; Sideris, D. P.; Katrakili, N.; Tokatlidis, K. MIA40 is an oxidoreductase that catalyzes oxidative protein folding in mitochondria. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(2), 198-206.
2. Barchiesi, A.; Wasilewski, M.; Chacinska, A.; Tell, G.; Vascotto, C. Mitochondrial translocation of APE1 relies on the MIA pathway. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43, 5451-5464.

P-49

## **Pochodne piperydyny i piperazyny jako wielofunkcyjne ligandy receptorów $\mu$ -opiodowych, histaminowych $H_3$ oraz sigma-1 w badaniach nad mechanizmami bólu neuropatycznego**

Miłosz Mocarski<sup>1</sup>, Kinga Groch<sup>2</sup>, Emma Nickels<sup>1</sup>, Tadeusz Karcz<sup>2</sup>, Katarzyna Szczepańska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [mocarskimilosz@gmail.com](mailto:mocarskimilosz@gmail.com)

Zgodnie z definicją Międzynarodowego Towarzystwa Badania Bólu, ból jest złożonym doświadczeniem sensorycznym i emocjonalnym, związanym z rzeczywistym lub potencjalnym uszkodzeniem tkanek. Jednym z jego rodzajów jest ból neuropatyczny, będący konsekwencją uszkodzeń obwodowego lub ośrodkowego układu nerwowego. W transdukcji sygnału bólowego zaangażowane są m.in. receptory  $\mu$ -opiodowe (MOR),

histaminowe typu 3 ( $H_3R$ ) oraz sigma-1 ( $\sigma_1R$ ). Obecne strategie farmakologicznego leczenia bólu obejmują m.in. stosowanie agonistów MOR oraz antagonistów  $H_3R$  i  $\sigma_1R$  [1]. Najnowsze badania przedkliniczne wykazały również, że wysoką skutecznością charakteryzują się również ligandy o dualnym działaniu na wspomniane receptory [2].

Celem przeprowadzanych badań jest opracowanie pochodnych piperydyny i piperazyny jako wielokierunkowych ligandów, wykazujących podwójną lub potrójną aktywność wobec MOR,  $H_3R$  oraz  $\sigma_1R$ , a także ocena ich wybranych parametrów farmakokinetycznych. Szczególną uwagę poświęcono ocenie przepuszczalności błonowej związków oraz ich zdolności do wiązania z glikoproteiną P, istotnym transporterem wpływającym na biodostępność i dystrybucję leków w układzie nerwowym.

W wyniku dotychczasowych badań otrzymano dwadzieścia pięć związków (KSK\_OP1 – KSK\_OP25) opartych na strukturze piperydyny lub piperazyny. Spośród nich pięć (KSK\_OP16 – KSK\_OP20) poddano badaniom *in vitro*, które wykazały silne powinowactwo związków do  $\sigma_1R$ . Otrzymane wyniki sugerują wysoki potencjał otrzymanych wielofunkcyjnych ligandów jako punktów wyjściowych do opracowania nowych substancji przeciwbólowych oraz wsparcia badań nad farmakoterapią bólu neuropatycznego.

Badania zostały przeprowadzone dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki w ramach grantu Opus 23 (2022/45/B/NZ7/03101).

## Referencje

1. Szczepańska, Katarzyna; Kuder, Kamil J.; Kieć-Kononowicz, Katarzyna. Dual-targeting approach on histamine  $H_3$  and sigma-1 receptor ligands as promising pharmacological tools in the treatment of CNS-linked disorders, *Curr Med Chem*, 2021, 28(15), 2974-2995.
2. Szczepańska, Katarzyna; Karcz, Tadeusz; Dichiera, Maria; et al. Dual piperidine-based histamine  $H_3$  and sigma-1 receptor ligands in the treatment of nociceptive and neuropathic pain, *J Med Chem*, 2023, 66(14), 9658-9683.

## NAD<sup>+</sup>budowa metabolizmu energetycznego w chorobie Huntingtona - nowy, wieloukładowy cel terapeutyczny

Patryk Mucha<sup>1</sup>, Małgorzata Presler<sup>1</sup>, Agata Jędrzejewska<sup>1</sup>, Daniel Zielonka<sup>3</sup>, Grzegorz Węgrzyn<sup>2</sup>, Ryszard T. Smoleński<sup>1</sup>, Ewa Słomska<sup>1</sup>, Marta Tomczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk, Polska.

<sup>2</sup> Katedra Biologii Molekularnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Gdański, Gdańsk, Polska.

<sup>3</sup> Zakład Zdrowia Publicznego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska.

adres e-mail osoby prezentującej: [patryk.mucha@gumed.edu.pl](mailto:patryk.mucha@gumed.edu.pl)

Choroba Huntingtona (HD) to rzadka, dziedziczna choroba neurodegeneracyjna, prowadząca do zaburzeń poznawczych, psychicznych i ruchowych. U jej podłoża leży mutacja polegająca na zwiększonej liczbie powtórzeń sekwencji CAG w genie huntingtyny (*HTT*), skutkująca powstaniem białka z wydłużonym odcinkiem poliglutaminowym, które tworzy nierozpuszczalne agregaty. Toksyczne formy huntingtyny (mHTT) wykrywane są nie tylko w mózgu, lecz także w tkankach obwodowych, już na wczesnych etapach choroby. Zarówno badania kliniczne pacjentów z HD, jak i badania z wykorzystaniem modeli przedklinicznych wykazały, że oprócz neurodegeneracji chorobie tej towarzyszą również zaburzenia funkcji mięśni szkieletowych oraz układu sercowo-naczyniowego. Jednym z mechanizmów leżących u podstaw tych zmian mogą być zaburzenia metabolizmu energetycznego. Nasze wcześniejsze badania wykazały obniżony poziom dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NAD<sup>+</sup>), kluczowego koenzymu procesów energetycznych, w mięśniach szkieletowych mysiego modelu HD oraz w modelach komórkowych. Co istotne, podobne zmiany zaobserwowano również w kardiomiocytach pozbawionych genu *HTT*, co sugeruje, że dysfunkcja energetyczna może wynikać nie tylko z agregacji mHTT, ale także z utraty fizjologicznej funkcji *HTT*. Przyczyna tych zaburzeń pozostaje niejasna, głównie z powodu braku danych dotyczących wydajności szlaków syntezy i zużycia NAD<sup>+</sup> w tkankach dotkniętych chorobą. Celem pracy było więc zbadanie ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm NAD<sup>+</sup> i nikotynamidu w mózgu, mięśniach szkieletowych i sercu mysiego modelu HD (w porównaniu do zwierząt zdrowych), a także ocena terapeutycznego

potencjału przywracania puli  $\text{NAD}^+$  za pomocą rybozydu nikotynamidu (NR) w komórkach od pacjentów z HD. Dodatkowo przeanalizowano poziomy metabolitów  $\text{NAD}^+$  i nikotynamidu w surowicy/krwi mysiego modelu choroby oraz pacjentów HD. Wyniki skorelowano następnie z parametrami progresji choroby. Wykazano złożone, tkankowo specyficzne zaburzenia metabolizmu  $\text{NAD}^+$ , sugerujące jego obniżoną syntezę oraz zwiększoną degradację, co skutkowało obniżonym stężeniem  $\text{NAD}^+$  we krwi i zmianą profilu jego krążących metabolitów. Zmiany te zostały również odnotowane u pacjentów z HD, wykazując dodatkowo korelację z parametrami progresji choroby. Co więcej, nasze badania wstępne wykazały, że terapia NR zwiększyła pulę  $\text{NAD}^+$  w fibroblastach pochodzących od pacjentów HD, co wiązało się z poprawą funkcji mitochondriów oraz redukcją stresu oksydacyjnego. Podsumowując, wyniki sugerują, że zaburzenia metabolizmu  $\text{NAD}^+$  odgrywają istotną rolę w patofizjologii HD, a związki ukierunkowane na odbudowę jego puli mogą przynieść korzyści terapeutyczne nie tylko w zakresie neurodegeneracji, ale również w towarzyszących HD zaburzeniach obwodowych. Ponadto, metabolity  $\text{NAD}^+$  i nikotynamidu mogą stanowić nowe „omiczne” wskaźniki progresji HD oraz predyktory skuteczności przyszłych terapii celujących w odbudowę metabolizmu energetycznego.

## **Behavioural impairment of adult *Sprague-Dawley* rats after 4-vessel global ischemia**

Kinga Nazaruk<sup>1</sup>, Kinga Szydłowska<sup>1</sup>, Dorota Nowicka<sup>1</sup>, Katarzyna Lukasiuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Epileptogenesis, Nencki Institute of Experimental Biology of the Polish Academy of Sciences, 02-093 Warsaw, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [k.nazaruk@nencki.edu.pl](mailto:k.nazaruk@nencki.edu.pl)

Epilepsy is a common neurological disorder characterized by the occurrence of unprovoked seizures. In our study, we aim to investigate the behavioural changes in the rat model of epilepsy following four-vessel occlusion ischemia.

We performed a battery of behavioural tests on adult Sprague-Dawley rats, before and after the ischemia. The Open Field test and Hyperexcitability test did not reveal any significant changes between the Sham and Ischemic groups. In the New Object Recognition Test Ischemic animals visited the novel object and the surrounding area less frequently. They also moved shorter distances and showed less interest in the new object, contrary to control animals, which explored the new object by climbing up on it. The Elevated Plus Maze test showed that ischemic animals spend more time in the closed arms and travel less than Sham animals. In the Social Interactions Test, both groups of animals presented the correct behaviour by spending a longer time in a compartment with a new, unknown rat than in the compartment with the familiar rat. Control animals presented more exploratory behaviour when moving around the cage, and ischemic animals spent more time in the empty area. The results of behavioural tests indicate increased anxiety in ischemic animals.

## **Analiza funkcji i interakcji REST i KAISO w kontekście glejaka wielopostaciowego**

Maciej Oldak<sup>1,2</sup>, Zuzanna Bieńkowska<sup>3</sup>, Marta Maleszewska-Bobińska<sup>3</sup>,  
Małgorzata Perycz<sup>4</sup>, Michał J. Dąbrowski<sup>4</sup>, Bartosz Wojtaś<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Sekwencjonowania, Instytut Biologii Doświadczalnej, PAN, Pasteura 3, 02-093 Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Szkoła Doktorska Medycyny Molekularnej, Kościuszki 4, 90-419 Łódź, Polska

<sup>3</sup> Zakład Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, Polska

<sup>4</sup> Zakład Biologii Obliczeniowej, Instytut Podstaw Informatyki, PAN, Jana Kazimierza 5, 01-248 Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [m.oldak@nencki.edu.pl](mailto:m.oldak@nencki.edu.pl)

Glejak wielopostaciowy jest wysoce agresywnym nowotworem mózgu o bardzo ograniczonych możliwościach leczenia. Dostępne dane wskazują, że jednym z kluczowych czynników napędzających jego progresję może być proonkogenny wzór epigenetyczny [1]. Zmiany epigenetyczne sprzyjają utrzymaniu wysokiej plastyczności oraz potencjału proliferacyjnego komórek nowotworowych [1].

Czynnik transkrypcyjny REST (RE1-Silencing Transcription Factor) jest jednym z istotnych regulatorów w biologii glejaka wielopostaciowego. Choć pierwotnie opisywany jako represor genów neuronalnych w tkankach nieneuronalnych, REST może pełnić rolę zarówno onkogenu, jak i supresora nowotworowego, poprzez modyfikację krajobrazu epigenetycznego [1, 2].

Analizy integracyjne ujawniły specyficzne profile wiązania REST w komórkach glejaka oraz pozwoliły wyodrębnić dwie grupy genów zależnych od REST – geny aktywowane oraz wyciszane przez REST [3]. Co istotne, wykazano częste współwystępowanie motywu innego czynnika transkrypcyjnego - KAISO w miejscach wiązania REST. Ponadto wyciszenie KAISO wywierało silniejszy wpływ na geny aktywowane przez REST niż wyciszenie samego REST, co sugeruje istnienie funkcjonalnego oddziaływania między tymi czynnikami transkrypcyjnymi [3].

Celem projektu jest zbadanie roli REST i KAISO w patogenezie glejaka wielopostaciowego oraz określenie charakteru ich wzajemnej interak-

cji. W tym celu zostaną wygenerowane stabilne modele pojedynczego oraz podwójnego knockoutu, a konsekwencje funkcjonalne ocenione przy użyciu testów proliferacji, migracji, inwazji i apoptozy. Równolegle zastosowane zostaną podejścia z zakresu genomiki, transkryptomiki i epigenomiki w celu analizy molekularnych skutków wyciszenia REST i KAISO. Na końcowym etapie linie knockout zostaną wszczepione do modeli mysich w celu oceny wzrostu guza *in vivo*.

Lepsze zrozumienie mechanizmów regulowanych przez REST i KAISO może przyczynić się do identyfikacji kluczowych czynników odpowiedzialnych za plastyczność glejaka oraz umożliwić wskazanie nowych potencjalnych celów terapeutycznych.

### Referencje

1. Uddin MS, Mamun AA, Alghamdi BS, Tewari D, Jeandet P, Sarwar MS, Ashraf GM. Epigenetics of glioblastoma multiforme: From molecular mechanisms to therapeutic approaches. *Semin Cancer Biol.* 2022 Aug; 83:100-120. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.12.015. Epub 2020 Dec 25. PMID: 33370605.
2. Reddy BY, Greco SJ, Patel PS, Trzaska KA, Rameshwar P. RE-1-silencing transcription factor shows tumor-suppressor functions and negatively regulates the oncogenic TAC1 in breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Mar 17;106(11):4408-13. doi: 10.1073/pnas.0809130106. Epub 2009 Feb 25. PMID: 19246391; PMCID: PMC2647978.
3. Perycz M, Dabrowski MJ, Jordanowska-Kotuniak M, Roura AJ, Gielniewski B, Stepniak K, Damiński M, Ciecchomska IA, Kaminska B, Wojtas B. Comprehensive analysis of the REST transcription factor regulatory networks in IDH mutant and IDH wild-type glioma cell lines and tumors. *Acta Neuropathol Commun.* 2024 May 6;12(1):72. doi: 10.1186/s40478-024-01779-y. PMID: 38711090; PMCID: PMC11071216.

## Identyfikacja potencjalnych celów białkowych dla dualnych ligandów receptorów H<sub>3</sub> histaminowego oraz sigma-1 i sigma-2 o właściwościach przeciwnowotworowych

Julia Pakulska<sup>1</sup>, Julia Masłowska<sup>1</sup>, Katarzyna Szczepańska<sup>2</sup>, Kamil Kuder<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Technologii Chemicznej i Biotechnologii Leków, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Zakład Chemii Leków, Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [julia.pakulska@doctoral.uj.edu.pl](mailto:julia.pakulska@doctoral.uj.edu.pl)

Receptory H<sub>3</sub> histaminowy oraz sigma-1 i sigma-2 kojarzone głównie z funkcjonowaniem ośrodkowego układu nerwowego, mogą również odgrywać istotną rolę w procesach nowotworowych [1, 2]. Spośród wcześniej opisanej biblioteki ligandów receptorów H<sub>3</sub> histaminowego oraz sigma-1 i sigma-2 [3], pięć związków wykazało istotną aktywność przeciwnowotworową w badaniach *in vitro*, szczególnie w liniach komórkowych raka piersi. Aby lepiej zrozumieć molekularne podstawy obserwowanego efektu biologicznego, w niniejszej pracy określono potencjalne cele białkowe mogące odpowiadać za to działanie. Możliwe sposoby oddziaływania ligandów z miejscami aktywnymi zostały określone przy użyciu metod dokowania molekularnego oraz późniejszych symulacji dynamiki molekularnej dla wybranych kompleksów. Uzyskane wyniki wskazują na potencjalne oddziaływania trzech spośród badanych związków z kinazami białkowymi zaangażowanymi w progresję raka piersi: VEGFR2 oraz mTOR. Przedstawione wyniki stanowią podstawę do dalszych badań eksperymentalnych ukierunkowanych na ocenę ich potencjału terapeutycznego.

Badania zostały sfinansowane ze środków statutowych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum – N42/DBS/000385. Prace wykonano w ramach SKN „Metody Komputerowe w poszukiwaniu substancji leczniczych”.

### Referencje

1. Medina, V.A.; Rivera, E.S., Histamine receptors and cancer pharmacology, *Br J Pharmacol*, 2010, 161, 755–767.
2. Megalizzi, V.; Le Mercier, M., Sigma receptors and their ligands in cancer biology: overview and new perspectives for cancer therapy. *Med Res Rev*, 2012, 32, 410-427.
3. Szczepańska, K.; Podlewska, S., Structural and molecular insight into piperazine and piperidine derivatives as histamine H<sub>3</sub> and sigma1 receptor antagonists with promising antinociceptive properties, *ACS Chem Neurosci*, 2022, 13, 1–15.

## Transkryptomyczny model 3D implantu raka jajnika

Kinga Piątek-Bajan<sup>1</sup>, Łukasz Ciecierski<sup>1</sup>, Jarosław Lewandowski<sup>1</sup>, Małgorzata Marcinkowska-Swojak<sup>1</sup>, Klementyna Marciniak<sup>1</sup>, Jan Podkowiński<sup>1</sup>, Elżbieta Dziabaszevska<sup>2</sup>, Magdalena Kaczmarek<sup>2</sup>, Piotr Jasiński<sup>2</sup>, Cezary Miedziarek<sup>2</sup>, Michał Potograbski<sup>2</sup>, Marcin Jukiewicz<sup>1</sup>, Marek Figlerowicz<sup>1</sup>, Mikołaj Piotr Zaborowski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, Zygmunta Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań, Polska

<sup>2</sup> Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polna 33, 60-535 Poznań, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [lciecierski@ibch.poznan.pl](mailto:lciecierski@ibch.poznan.pl), [kbajan@ibch.poznan.pl](mailto:kbajan@ibch.poznan.pl)

Transkryptomika przestrzenna to metoda polegająca na pomiarze ekspresji genów w nienaruszonym kontekście tkankowym. Zachowana informacja przestrzenna pozwala wnioskować jednocześnie o funkcji, organizacji i wzajemnych oddziaływaniach komórek wewnątrz tkanki, co jest niezwykle cenne w zrozumieniu złożonej biologii wielu chorób systemowych, w tym nowotworów.

Obecnie dostępnych jest wiele odmian tej techniki, charakteryzujących się m.in. różną czułością, rozdzielczością, głębokością i pokryciem transkryptomu, rozmiarem badanej tkanki, oraz kosztem i skomplikowaniem procedury [1]. Jedną z nich jest metoda Open-ST, która otwiera możliwości wysokoprzepustowego i efektywnego otrzymywania obrazów choroby w wymiarze molekularnym i morfologicznym o rozdzielczości komórkowej [2].

Aktualnie nie wiadomo na ile pojedyncza warstwa tkanki otrzymana tą metodą odzwierciedla biologię całego guza, a ile informacji może być unikalnych tylko dla danej lokalizacji. Problem ten, nazywany błędem próbkowania, jest dobrze znany w analizach biomedycznych i istotnie wpływa na prawidłową ocenę choroby. Celem naszych badań było stworzenie modelu 3D guza oraz określenie jego heterogenności we wszystkich trzech wymiarach, biorąc pod uwagę zarówno powierzchnię tkanki jak i odległość pomiędzy kolejnymi warstwami głębokości.

Wykorzystaliśmy metodę Open-ST do przestrzennego zsekwencjonowania transkryptomu siedmiu warstw pierwotnego guza niskozróżnicowanego raka jajnika (HGSOC), a następnie stworzyliśmy trójwymiarowy

obraz choroby. Do oceny heterogenności komórkowej skrawków tkanki wykorzystaliśmy pomiar entropii Shannona oraz metody analizy skupień. Analiza obrazu morfologicznego i molekularnego guza ujawniła heterogenność przestrzenną raka jajnika i konieczność zaadresowania błędu próbkowania w analizach przestrzennych.

### Referencje

1. Chen, T.-Y.; You, L.; Hardillo, J.A.U.; Chien, M.-P. Spatial Transcriptomic Technologies, *Cells*, 2023, 12, 2042.
2. Schott, M.; León-Periñán, D.; Splendiani, E.; Strenger, L.; Licha, J.R.; *et al.* Open-ST: High-resolution spatial transcriptomics in 3D, *Cell*, 2024, 187, 3953-3972.

## Opracowanie elastycznego i zautomatyzowanego skryptu do analizy danych metabolomicznych

P-55

J. Raczak-Gutknecht<sup>1</sup>, J. Janecki<sup>1</sup>, R. Wawrzyniak<sup>1</sup>, W. Struck-Lewicka<sup>1</sup>, M. Markuszewski<sup>1</sup>, D. Siluk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Gdański Uniwersytet Medyczny, Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Al. Gen. J. Hallera 107, Gdańsk, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [jrgutknecht@gumed.edu.pl](mailto:jrgutknecht@gumed.edu.pl)

Przetwarzanie danych pomiarowych z analiz metabolomicznych stanowi istotne wyzwanie ze względu na złożony skład matryc biologicznych. Próbkę krwi, moczu, tkanek lub komórek zawierają tysiące metabolitów o bardzo zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych, a także o różnym poziomie stężeń. W konsekwencji proces oznaczania oraz identyfikacji związków jest często skomplikowany, a przed wszystkim czasochłonny.

Celem niniejszego badania było opracowanie oraz optymalizacja zintegrowanego algorytmu przetwarzania danych metabolomicznych pochodzących z analiz osocza oraz PBMC (*Peripheral Blood Mononuclear*

*Cells*), przy użyciu LC-QTOF/MS (Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry).

Uzyskane z pomiarów analitycznych zestawy danych zostały zaimportowane do oprogramowania MassHunter Profinder 10.00 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) w celu przeprowadzenia dekonwolucji pików oraz wyrównania sygnałów analitycznych pod względem czasu retencji oraz błędów pomiaru masy monoizotopowej. Dalsze etapy przetwarzania danych realizowano przy użyciu modułowego schematu przetwarzania danych wykorzystującego środowiska R oraz Python. Schemat ten obejmował procesy: filtrowania, oceny jakości, adnotacji cech, korelacji danych eksperymentalnych z ogólnodostępnymi bazami (HMDB), analizę ontologiczną związków, analizę statystyczną oraz wizualizację wyników. Zastosowanie opracowanego schematu prowadzi do automatyzacji etapu przetwarzania danych, znacząco redukując czas całego procesu. Modułowa konstrukcja zapewnia szerokie możliwości zastosowania w różnych badaniach metabolomicznych. Zastosowanie środowisk R i Python, jako komplementarnych narzędzi stwarza perspektywę pełnej automatyzacji etapu przetwarzania i procesowania danych pomiarowych w badaniach metabolomicznych, przy zachowaniu dobrej jakości wyników.

#### Finansowanie

Agencja Badań Medycznych: Krajowy Plan Odbudowy i Zwiększania Odporności (KPO), Komponent D Efektywność, dostępność i jakość systemu ochrony zdrowia (projekt nr 2024/ABM/03/KPO/KPOD.07.07-IW.07-0075/24-00).

## Od danych do eksperymentu: studencka platforma do przewidywania toksyczności związków bioaktywnych PATmed

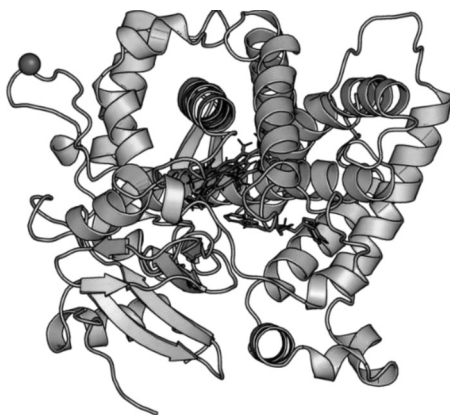
P-56

Marta Radko<sup>1</sup>, Kacper Siąkała<sup>1</sup>, Justyna Kalinowska-Tłuścik<sup>1</sup>, Tomasz Danel<sup>1</sup>, Krzysztof Łucki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 2, Kraków 30-387

adres e-mail osoby prezentującej: [marta.radko@uj.edu.pl](mailto:marta.radko@uj.edu.pl)

PATmed jest rozwijaną przez studentów platformą obliczeniową, której celem działania jest wczesna predykcja toksyczności bioaktywnych związków małowcząsteczkowych. To narzędzie w formie interaktywnej aplikacji, opracowywane jest z wykorzystaniem metod uczenia maszynowego. Platforma umożliwia generowanie transparentnych predykcji toksyczności, które mogą być wykorzystane w procesie projektowania leków. Podczas realizacji projektu zgromadzono dane dotyczące związków bioaktywnych i białek antytargetowych z ogólnodostępnych baz, które następnie zostały wykorzystane do przeprowadzenia procedur dokowania molekularnego. Uzyskane wyniki, obejmujące wartości funkcji oceny



Rysunek 1. Wizualizacja struktury krystalicznej enzymu CYP2D6 z ligandem zadokowanym w kieszeni wiążącej. Model przygotowany w ramach projektu PATmed na podstawie danych strukturalnych z Protein Data Bank (4WNT)

oraz przewidywane pozy ligandów w kieszeniach wiążących, zostały dodatkowo wzmocnione poprzez wyznaczenie fingerprintów interakcji, co pozwala na interpretację oddziaływań ligand–białko i lepsze zrozumienie molekularnych podstaw przewidywanej wiązalności cząsteczek, a co za tym idzie ich potencjalnej toksyczności.

Weryfikacja uzyskanych predykcji zostanie przeprowadzona w oparciu o wyniki eksperymentalnie wyznaczonej wiązalności ligandów do wyselekcjonowanych białek antytargetowych, co umożliwi ocenę zgodności wyników obliczeniowych z rzeczywistą aktywnością biologiczną.

Połączenie metod uczenia maszynowego, dokowania molekularnego i analizy danych w ramach jednego projektu studenckiego podkreśla potencjał PATmed jako rozwijającego się i praktycznego narzędzia wspierającego proces projektowania bezpiecznych leków.

Projekt finansowany ze środków budżetu państwa, przyznanych przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach Programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje”.

P-57

### **Ocena protekcyjnego potencjału TRP: badania *ex vivo* w hodowlach organotypowych hipokampa myszy w warunkach aktywacji zapalnej**

Magda Regulska<sup>1</sup>, Monika Leśkiewicz<sup>1</sup>, Ewa Trojan<sup>1</sup>, Kinga Kamińska<sup>1</sup>, Alicja Majewska<sup>1</sup>, Jakub Frydrych<sup>1</sup>, Beata Grygier<sup>1</sup>, Agnieszka Basta-Kaim<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Neuroendokrynologii Doświadczalnej, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

adres e-mail osoby prezentującej: [regulska@if-pan.krakow.pl](mailto:regulska@if-pan.krakow.pl)

Długotrwały proces zapalny w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) jest zjawiskiem złożonym, niekorzystnie rokującym w chorobach mózgu oraz nasilającym procesy neurodegeneracyjne w tym w przebiegu choroby Alzheimera (AD) [1]. Dlatego, strategię farmakologiczną ukierunko-

wane na modulowanie i potęgowanie efektywności wygaszania odpowiedzi zapalnej cieszą się rosnącym zainteresowaniem. Obecnie stosowane leki, w tym niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) chociaż skuteczne, indukują wiele efektów niepożądanych o charakterze ogólnoustrojowym. Dlatego istotnym i strategicznie uzasadnionym jest poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych. Jednym z obiecujących kandydatów jest wykazujący potencjał przeciwzapalny w działaniu obwodowym związek TRP, którego potencjał wobec komórek OUN nie był jak dotychczas badany.

Celem naszych badań była ocena protekcyjnego potencjału TRP poprzez jego wpływ na proces śmierci komórek w warunkach immunoaktywacji indukowanej lipopolisacharydem (LPS) w hodowlach organotypowych hipokampa (OHC). Hodowle zakładano z hipokampów 6–7-dniowych myszy typu dzikiego (WT) oraz myszy APP<sup>NL-F/NL-F</sup> (KI), stanowiących uznany zwierzęcy model choroby Alzheimera (AD). Skrawki hipokampa traktowano TRP w różnych stężeniach (0,1–100  $\mu$ M) przez 1 godzinę, a następnie poddawano długotrwałej 24-godzinnej immunomodulacji (LPS, 1  $\mu$ g/ml). Parametry śmierci komórkowej oznaczano poprzez pomiar aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH), a zdolność antyoksydacyjną poprzez pomiar uwalniania tlenku azotu (NO) metodą Griessa. Wykazano, że TRP w stężeniach 1 i 10  $\mu$ M skutecznie zmniejszał śmiertelność ocenianą testem LDH oraz hamował syntezę NO w OHC aktywowanych immunologicznie, zarówno w hodowlach pochodzących od myszy WT jak i w modelu AD.

Uzyskane wyniki wskazują, że TRP wykazuje działanie protekcyjne w hodowlach organotypowych hipokampa w warunkach immunoaktywacji.

Zródło finansowania: programme coordinated by the Medical Research Agency, co-financed by the European Union under the NextGeneration EU initiative, within the framework of the National Recovery Plan, Component D, Investment D3.1.1 (project no. 2024/ABM/03/KPO/KPOD.07.07-IW.07-0173/24-00), WP4.

## Referencje

1. Ransohoff RM. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science*. 2016 Aug 19;353(6301):777-83. doi: 10.1126/science.aag2590.

**Analiza oddziaływań ligand – białko narzędziem CORAL-MD**Wiktor Rorat<sup>1,2</sup>, Kinga Kurowska<sup>2</sup>, Sabina Podlewska<sup>2</sup><sup>1</sup> Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 7, 30-387 Kraków, Polska<sup>2</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Smętna 12, 31-343 Kraków, Polskaadres e-mail osoby prezentującej: [wiktor.rorat@student.uj.edu.pl](mailto:wiktor.rorat@student.uj.edu.pl)

Analiza wyników z symulacji dynamiki molekularnej (MD) wymaga zastosowania wielu narzędzi oraz zaawansowanej wiedzy programistycznej. Dodatkowo w literaturze brak jest jednoznacznych definicji oraz spójnej klasyfikacji poszczególnych typów oddziaływań [1]. W celu usprawnienia i ustandaryzowania analizy oddziaływań ligand–białko, stworzyliśmy narzędzie CORAL-MD (Correlational Analysis of Ligand-Protein Interactions), które jest wolnodostępne na stronie [coralmd.if-pan.krakow.pl](http://coralmd.if-pan.krakow.pl). Narzędzie wykrywa oddziaływania w trajektoriach uzyskanych z symulacji MD[2]. Pozwala też zbadać, jak oddziaływania zmieniają się w czasie, umożliwiając analizę dynamiki ligand–białko. Możliwa jest też analiza porównawcza wielu trajektorii, co pozwala zrozumieć zmienność oddziaływań między strukturami czy ligandami. W celu powiązania wartości eksperymentalnych z wynikami z symulacji, przygotowaliśmy też metodę opartą na analizie korelacji.

Kluczową zaletą narzędzia jest brak wymogu posiadania umiejętności programistycznych, co znacząco poszerza grono potencjalnych użytkowników. CORAL-MD może być wykorzystywane jako narzędzie wspierające analizę dynamiki oddziaływań oraz optymalizację struktury ligandów w procesach projektowania leków.

**Referencje**

- 1 Salentin, S., Haupt, V. J., Daminelli, S., & Schroeder, M. Polypharmacology rescored: protein-ligand interaction profiles for remote binding site similarity assessment. *Prog Biophys Mol Biol*, 2014, 116, 174–186.
- 2 Salentin, S., Schreiber, S., Haupt, V. J., Adasme, M. F., & Schroeder, M. PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucleic acids research*, 2015, 43, W443–W447.

## **Pterostilben jako związek wielocelowy w chorobach neurodegeneracyjnych – badania *in silico***

P-59

Natalia Rosiak<sup>1</sup>, Judyta Cielecka-Piontek<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Fredry 10, Poznań, Polska

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Fredry 10, Poznań, Polska  
adres e-mail osoby prezentującej: [nrosiak@ump.edu.pl](mailto:nrosiak@ump.edu.pl)

Choroby neurodegeneracyjne stanowią narastające wyzwanie medyczne ze względu na ich złożoną patogenezę oraz ograniczone możliwości terapeutyczne [1-2]. Pterostilben (PTR), naturalny stilben o korzystnych właściwościach farmakokinetycznych [3], wzbudza coraz większe zainteresowanie jako potencjalny związek o działaniu neuroprotektynym, jednak molekularne mechanizmy jego aktywności pozostają nadal nie w pełni poznane.

Zastosowano zintegrowane podejście oparte na farmakologii sieciowej oraz analizie dokowania molekularnego w celu systematycznego zbadania wielocelowych mechanizmów działania PTR w chorobach neurodegeneracyjnych, w tym chorobie Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, stwardnieniu zanikowym bocznym oraz niedokrwiennym uszkodzeniu mózgu. Potencjalne cele molekularne PTR zidentyfikowano i zestawiono z genami związanymi z poszczególnymi chorobami, a następnie przeprowadzono analizy wzbogacenia funkcjonalnego.

Uzyskane wyniki wskazują, że cele PTR są głównie związane z regulacją apoptozy, stresem oksydacyjnym, neurozapaleniem, dysfunkcją mitochondrialną, regulacją transkrypcji oraz odpowiedzią komórkową na stres – procesami kluczowymi dla neurodegeneracji. Analiza szlaków sygnałowych uwidoczniała również istotne sieci związane z przeżyciem komórek, regulacją odpowiedzi immunologicznej, sygnalizacją hormonalną oraz adaptacją do stresu. Analiza dokowania molekularnego wykazała stabilne wiązanie PTR z wybranymi kluczowymi celami.

Otrzymane wyniki sugerują, że PTR może wywierać działanie neuroprotektynne poprzez skoordynowaną modulację wielu celów molekularnych i szlaków sygnałowych, stanowiąc podstawę do dalszych badań eksperymentalnych.

## Referencje

1. Yan, W., Ren, D., Feng, X., Huang, J., Wang, D., Li, T., & Zhang, D. (2021). Neuroprotective and anti-inflammatory effect of pterostilbene against cerebral ischemia/reperfusion injury via suppression of COX-2. *Frontiers in pharmacology*, 12, 770329.
2. Vajda, F. J. (2002). Neuroprotection and neurodegenerative disease. *Journal of Clinical Neuroscience*, 9(1), 4-8.
3. Rosiak, N., Tykarska, E., & Cielecka-Piontek, J. (2024). Enhanced antioxidant and neuroprotective properties of pterostilbene (resveratrol derivative) in amorphous solid dispersions. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2774.

## PATmed:

### Platforma do Analizy Toksyczności bioaktywnych związków małowcząsteczkowych - działanie oraz wyjaśnialność predykcji

P-60

Kacper Siąkała<sup>1</sup>, Marta Radko<sup>1</sup>, Justyna Kalinowska-Tłuścik<sup>1</sup>, Tomasz Danel<sup>1</sup>, Krzysztof Łucki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Gronostajowa 2, Kraków 30-387  
adres e-mail osoby prezentującej: [kacper.siakala@student.uj.edu.pl](mailto:kacper.siakala@student.uj.edu.pl)

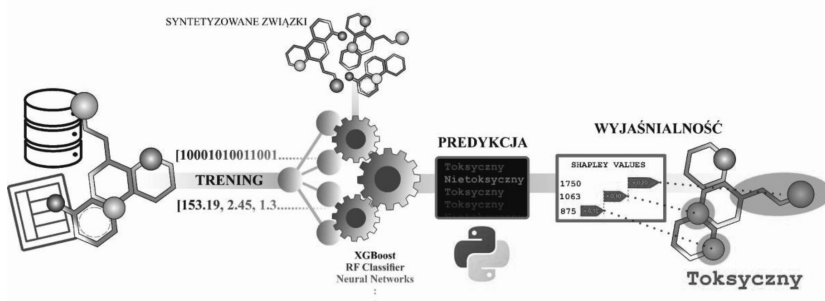
Proces wdrażania nowego leku jest niezwykle kosztowny i czasochłonny. Jednocześnie, prawdopodobieństwo sukcesu jest niewielkie – jeśli na etapie badań przedklinicznych jest ok. 250 związków, do badań klinicznych przechodzi zaledwie kilka, a rejestrowany jest ostatecznie, co najwyżej, jeden z nich [1].

Celem projektu PATmed jest stworzenie platformy służącej do przewidywania toksyczności związków małowcząsteczkowych na etapie badań *in silico*, bez konieczności przeprowadzania kosztownych syntez oraz ogromnej ilości badań *in vitro* i *in vivo* na wczesnych etapach.

Rdzeniem platformy jest algorytm w języku Python umożliwiający trenowanie modeli uczenia maszynowego na danych toksyczności związków, z wykorzystaniem wielu typów/poziomów reprezentacji cząsteczek.

Platforma umożliwia uzyskanie predykcji potencjalnej toksyczności dla dowolnych związków z użyciem wytrenowanych modeli.

W algorytmie zaimplementowana jest także wyjaśnialność predykcji oparta o obliczenia wartości Shapley'a. Ta funkcjonalność pozwala na określenie wpływu danych cech cząsteczki na przewidywaną wielkość – w tym przypadku toksyczność. Dla danych w reprezentacji fingerprintów Morgana możliwe jest wskazanie podstruktur cząsteczki, które w największym stopniu przyczyniają się do przewidywanej niepożądanej aktywności (największe wartości Shapley'a), co może stanowić cenną informację przy projektowaniu leków o podobnej strukturze. Poprawnie działająca platforma PATmed, której skuteczność zostanie sprawdzona eksperymentalnie, ma w formie aplikacji stanowić pomocne narzędzie dla naukowców zajmujących się projektowaniem leków.



Rysunek.1. Schematyczne przedstawienie działania platformy PATmed

Projekt finansowany ze środków budżetu państwa, przyznanych przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach Programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje”.

## Referencje

1. Matthews, Holly; Hanison, James; Nirmalan, Niroshini “Omics”-Informed Drug and Biomarker Discovery: Opportunities, Challenges and Future Perspectives, *Proteomes*, 2016, 4(3):28.

## Gdy całość jest większa niż suma jej części: rola jednoczesnej modulacji receptorów histaminowych $H_3$ oraz sigma-1 w leczeniu bólu

Katarzyna Szczepańska<sup>1</sup>, Tadeusz Karcz<sup>2</sup>, Szczepan Mogilski<sup>2</sup>, Enrique J. Cobos<sup>3</sup>, Holger Stark<sup>4</sup>, Emanuele Amata<sup>5</sup>, Andrzej J. Bojarski<sup>1</sup>, Ilona Obara<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, Polska

<sup>3</sup> Instytut Nauk Neurologicznych (Centrum Badań Biomedycznych), Uniwersytet w Granadzie, Avenida de la Investigación 11, 18016 Granada, Hiszpania

<sup>4</sup> Instytut Chemii Farmaceutycznej i Medycznej, Uniwersytet Heinricha Heinego w Düsseldorfie, Universitaetsstr. 1, 40225 Düsseldorf, Niemcy

<sup>5</sup> Wydział Nauk o Lekach i Zdrowiu, Uniwersytet w Katanii, V.le A. Doria, 95125 Katania, Włochy

<sup>6</sup> Wydział Nauk Medycznych, Uniwersytet w Newcastle, Newcastle upon Tyne NE1 7RU, Anglia  
adres e-mail osoby prezentującej: [k.szczep@if-pan.krakow.pl](mailto:k.szczep@if-pan.krakow.pl)

Ból neuropatyczny dotyka 1,3–17,9% populacji na świecie i może wynikać z wielu stanów patologicznych, m.in. chorób metabolicznych, infekcji, udaru czy nowotworów. Pomimo postępów w poznaniu jego mechanizmów, skuteczną kontrolę bólu uzyskuje jedynie około 33% pacjentów, a żadna z dostępnych terapii nie wykazuje długoterminowej skuteczności i dobrej tolerancji. Obiecującym podejściem terapeutycznym jest zastosowanie synergizmu farmakodynamicznego poprzez ligandy wielocelowe, które jednocześnie modulują więcej niż jeden cel biologiczny, zwiększając skuteczność leczenia i ograniczając działania niepożądane. W tym kontekście szczególne zainteresowanie budzą antagoniści receptora  $H_3$  histaminowego ( $H_3R$ ), wykazujący także powinowactwo do receptora sigma-1 ( $\sigma_1R$ ). Oba receptory uczestniczą w patomechanizmach bólu nocyceptywnego i neuropatycznego.

W naszych badaniach jednoczesne podanie selektywnego antagonisty  $H_3R$  oraz antagonisty  $\sigma_1R$  wywoływało silniejszy efekt przeciwbólowy niż podanie każdego z nich osobno, co wskazuje na synergizm działania [1]. Ponadto opracowaliśmy serię dualnych antagonistów  $H_3R/\sigma_1R$  [2], spośród których związek KSK107 wykazał wyjątkowo wysoką skuteczność przeciwbólową w modelach bólu nocyceptywnego i neuropatyczne-

go, przewyższając ligandy selektywne oraz opioidy. Wyniki te potwierdzają potencjał terapeutyczny wielocelowej modulacji  $H_3R/\sigma_1R$  jako nowatorskiego podejścia w leczeniu bólu.

Badania zostały przeprowadzone dzięki wsparciu finansowemu NCN (2022/45/B/NZ7/03101).

### Referencje

1. Mogilski, Szczepan; Kubacka, Monika; Świerczek, Artur; et al. Efficacy of the Multi-Target Compound E153 in Relieving Pain and Pruritus of Different Origins. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(10), 1481.
2. Szczepańska, Katarzyna; Karcz, Tadeusz; Dichiaro, Maria; et al. Dual Piperidine-Based Histamine H3 and Sigma-1 Receptor Ligands in the Treatment of Nociceptive and Neuropathic Pain. *J Med Chem*, 2023, 66(14), 9658-9683.

## Nowe strategie w leczeniu stanów lękowych u ludzi w spektrum autyzmu

P-62

Sanata Tolak<sup>1</sup>, Justyna Zmorzyńska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorium Neurobiologii Rozwoju, Międzynarodowy Instytut Mechanizmów i Maszyn Molekularnych Polskiej Akademii Nauk, ul. Flisa 6, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [s.tolak@imol.institute](mailto:s.tolak@imol.institute)

Szacuje się, że 1% populacji ogólnej znajduje się w spektrum autyzmu, a do 44% u tych osób współwystępuje co najmniej jeden rodzaj zaburzenia lękowego [1]. Osoby te często wykazują oporność na dostępne farmakologiczne metody leczenia, co tworzy istotną potrzebę opracowania nowych związków o działaniu przeciwlękowym [2].

Obiecującym modelem zwierzęcym do badań przesiewowych w tym zakresie jest rybka danio (*Danio rerio*), ze względu na szybki rozwój, wysoką liczebność potomstwa oraz translacyjną wartość w modelowaniu zaburzeń neurorozwojowych. Szczególnie odpowiednim modelem do badania spektrum autyzmu ze współistniejącymi zaburzeniami lęko-

wymi jest linia z mutacją w genie *Tsc2*. Mutacja ta modeluje **stwardnienie guzowate** (TSC, ang. *Tuberous Sclerosis Complex*) – rzadką chorobę genetyczną występującą globalnie u około 2 milionów osób [3]. TSC charakteryzuje się powstawaniem licznych łagodnych guzków w różnych narządach, w tym w mózgu, prowadząc często do padaczki oraz szerokiego spektrum objawów neuropsychiatrycznych (TANDs, ang. *TSC-associated neuropsychiatric disorders*). Do spektrum TANDs należą m.in. zaburzenia ze spektrum autyzmu, stany lękowe oraz niepełnosprawność intelektualna [4], co czyni model rybki z mutacją *Tsc2* wartościowym narzędziem do badań nad nakładającymi się patomechanizmami tych zaburzeń i poszukiwań nowych terapii.

### Referencje

1. Zaboski, B.; Storch, E. Comorbid autism spectrum disorder and anxiety disorders: a brief review. *Future Neurol.*, 2018, *13*(1), 31-37.
2. Dulski, T.; Tolak, S.; Zmorzynska J. Challenges and hopes for treatment of anxiety disorder in the autistic population. *Brain Res.*, 2025, *1860*, 149675.
3. Uysal, S.; Sahin, M. Tuberous sclerosis: a review of the past, present, and future. *Turk J Med Sci.*, 2020, *50*(7), 1665-1676.
4. Kedra, M.; Banasiak K.; Kisilewska K.; Wolinska-Niziol L.; Jaworski J.; Zmorzynska J. TrkB hyperactivity contributes to brain dysconnectivity, epileptogenesis, and anxiety in zebrafish model of Tuberous Sclerosis Complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2020, *117*(4), 2170-2179.

## CD73 – nowy element szlaku przemian witaminy B<sub>12</sub> o potencjale klinicznym

P-63

Marta Tomczyk<sup>1</sup>, Patryk Mucha<sup>1</sup>, Filip Kuś<sup>2</sup>, Dominik Cysewski<sup>3</sup>, Magdalena Podlacha<sup>4</sup>, Irena Majkutewicz<sup>5</sup>, Michał Jensko<sup>6</sup>, Patrycja Maszka-Stankiewicz<sup>1</sup>, Agata Jędrzejewska<sup>1</sup>, Oliwia Król<sup>1</sup>, Paulina Mierzejewska<sup>1</sup>, Mariola Olkowicz<sup>7</sup>, Adam Sieradzan<sup>6</sup>, Ewa Słomska<sup>1</sup>, Grzegorz Węgrzyn<sup>3</sup>, Ryszard T. Smoleński<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biochemii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk, Polska.

<sup>2</sup> Zakład Biochemii Białek, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Gdańsk, Polska.

<sup>3</sup> Centrum Medycyny Regeneracyjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska.

<sup>4</sup> Katedra Biologii Molekularnej, Uniwersytet Gdański, Gdańsk, Polska.

<sup>5</sup> Katedra Fizjologii Zwierząt i Człowieka, Uniwersytet Gdański, Gdańsk, Polska.

<sup>6</sup> Katedra Chemii Teoretycznej, Uniwersytet Gdański, Gdańsk, Polska.

<sup>7</sup> Zakład Biofarmacji i Farmakokinetyki, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk, Polska.

adres e-mail osoby prezentującej: [marta.tomczyk@gumed.edu.pl](mailto:marta.tomczyk@gumed.edu.pl)

Ekto-5'-nukleotydaza (CD73) to enzym uczestniczący w katabolizmie nukleotydów, zlokalizowany zarówno w przestrzeni zewnątrzkomórkowej, jak i w błonach struktur wewnątrzkomórkowych. Nasze wcześniejsze badania wykazały znaczną akumulację jednego z substratów reakcji zależnej od witaminy B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) w tkankach myszy z nokautem CD73 (CD73KO). Celem niniejszej pracy było pogłębienie wiedzy na temat roli CD73 w metabolizmie B<sub>12</sub>. W części *in vivo* wykorzystano myszy CD73KO oraz zwierzęta kontrolne (WT). Przeprowadzono ocenę behawioralną, analizę morfologii krwi, oznaczenia stężenia B<sub>12</sub> i powiązanych metabolitów w surowicy, a także ocenę poziomów białek oraz aktywności enzymów zależnych od B<sub>12</sub> w tkankach. Zwierzęta poddano również suplementacji B<sub>12</sub>. W części *in vitro* zastosowano pierwotne linie astrocytów i mikrogleju wyizolowane z badanych modeli zwierzęcych oraz linie ludzkie (HMC3 i Svg P12). Kolokalizację CD73 z białkami metabolizmu B<sub>12</sub> oceniono metodą immunofluorescencji. Wychwyty B<sub>12</sub> analizowano w komórkach CD73KO, WT oraz WT traktowanych inhibitorem CD73. Komórki te poddano również niecelowanej analizie proteomicznej. Dodatkowo, w badaniach wykorzystano surowicę osób zdrowych i oznaczono w niej poziom B<sub>12</sub> i powiązanych metabolitów oraz skorelowano uży-

skane wyniki z aktywnością CD73 w osoczu. W celu wstępnego potwierdzenia interakcji CD73 z lizosomalnymi transporterami B<sub>12</sub> przeprowadzono modelowanie molekularne. Myszy CD73KO wykazywały obniżone poziomy B<sub>12</sub> w tkankach, zmniejszoną aktywność enzymów zależnych od tej witaminy oraz podwyższone stężenia osoczowych wskaźników jej niedoboru tj. kwas metylomalonyowy (MMA) i homocysteina, którym towarzyszyły objawy kliniczne. Co istotne, 8-tygodniowa suplementacja B<sub>12</sub> nie odwróciła obserwowanych zaburzeń. W badaniach *in vitro* wykazano zmniejszony wychwyty B<sub>12</sub> zarówno w komórkach CD73KO, jak i WT po zahamowaniu aktywności CD73. Analiza proteomiczna ujawniła zmiany w szlakach związanych z metabolizmem B<sub>12</sub>. Zaobserwowano silną kolokalizację CD73 z transporterem lizosomalnym B<sub>12</sub> - ABCD4, co sugeruje udział tego białka w uwalnianiu B<sub>12</sub> z lizosomów. Modelowanie molekularne potwierdziło wysokie prawdopodobieństwo interakcji między tymi białkami. Podsumowując, CD73 może odgrywać istotną rolę w wewnątrzkomórkowym transporcie B<sub>12</sub>, a jego dysfunkcja prowadzić może do zaburzeń jej metabolizmu i objawów niedoboru, nawet pomimo prawidłowej suplementacji. Wyniki te sugerują, że CD73 może stanowić nowy, potencjalny cel terapeutyczny idiopatycznych przypadków niedoborów B<sub>12</sub>.

## Molekularne wytrychy i jak je znaleźć – krystalograficzny fragment screening na przykładzie ludzkiej syntazy deoksyhypuzyny

P-64

Elżbieta Wątor-Wilk<sup>1</sup>, Piotr Wilk<sup>2</sup>, Damian Muszak<sup>3</sup>, Paweł Kochanowski<sup>2</sup>, Tobiasz Krojer<sup>3</sup>, Przemysław Grudnik<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN, Kraków, Polska

<sup>2</sup> Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska

<sup>3</sup> Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, Polska

MAX IV Laboratory, Lund, Szwecja

adres e-mail osoby prezentującej: [elzbieta.wator-wilk@ikifp.edu.pl](mailto:elzbieta.wator-wilk@ikifp.edu.pl)

Hypuzynacja to unikalna modyfikacja potranslacyjna, której ulega wyłącznie jedna lizyna w eukariotycznym czynniku translacyjnym 5A (eIF5A). Modyfikacja ta jest niezbędna dla prawidłowego przebiegu translacji przez co również dla prawidłowej proliferacji każdej żywej komórki. Kluczowym etapem tego procesu jest reakcja katalizowana przez syntazę deoksyhypuzyny (DHS), której dysfunkcje wiążą się z patogenezą nowotworów, cukrzyca oraz rzadkich schorzeń neurorozwojowych. Pomimo istotnej roli biologicznej tego enzymu, brak specyficznych narzędzi molekularnych ogranicza badania nad jego regulacją.

W niniejszej pracy wykorzystujemy technikę krystalograficznego fragment screeningu (CFS) – wysokoprzepustową technikę polegającą na bezpośrednim obrazowaniu oddziaływań małych cząsteczek z białkiem. Główną zaletą CFS jest możliwość identyfikacji słabych, lecz wysoce specyficznych oddziaływań w nowych miejscach wiązania, co pozwala na precyzyjne mapowanie powierzchni białka i dostarcza informacji strukturalnych niezbędnych do racjonalnego projektowania leków.

Nasza analiza strukturalna ujawniła 67 unikalnych fragmentów wiążących się do ludzkiego białka DHS w 136 miejscach, które mogą zostać podzielone na 5 klastrów. Szczególnie ciekawe było zidentyfikowanie fragmentu VT00065, który selektywnie modyfikuje katalityczną lizynę (K329), sugerując nową strategię projektowania inhibitorów kowalencyjnych. Zaobserwowano również, że wiązanie fragmentów indukuje znaczne zmiany konformacyjne motywu regulatorowego, odsłaniając miejsce aktywne i wskazując na nowe potencjalne mechanizmy regulacji allosterycznej.

Uzyskane wyniki strukturalne stanowią podstawy do projektowania sond molekularnych do dalszego badań, a także nowych inhibitorów oraz aktywatorów, co otwiera nowe perspektywy terapeutyczne w leczeniu chorób związanych z hypuzynacją.

#### Referencje

1. Wilk, P. et al. *Crystallographic fragment screening supports tool compound discovery and reveals conformational flexibility in human deoxyhypusine synthase*. Commun Chem (2026).
2. Wątor, E. et al. *Cryo-EM structure of human eIF5A-DHS complex reveals the molecular basis of hypusination-associated neurodegenerative disorders*. Nat Commun 14, 1698 (2023)

### Spirocycliczne analogi NLX-219 jako nowi stronniczy agoniści receptora 5-HT<sub>1A</sub>

Olga Ostrowska<sup>1</sup>, Beata Gryzłó<sup>1</sup>, Krzysztof Więckowski<sup>1</sup>, Joanna Śniecikowska<sup>1</sup>, Marcin Kołaczkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum, Wydział Farmaceutyczny, Katedra Chemii Farmaceutycznej, 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9

adres e-mail osoby prezentującej: [k.wieckowski@uj.edu.pl](mailto:k.wieckowski@uj.edu.pl)

Receptor 5-HT<sub>1A</sub> odgrywa kluczową rolę w regulacji funkcji ośrodkowego układu nerwowego, w tym kontroli nastroju, funkcji motorycznych oraz percepcji bólu. Pomimo jego znaczenia terapeutycznego, wśród aktualnie stosowanych leków brak jest wysoce selektywnych, pełnych agonistów tego receptora. Dostępne klinicznie ligandy wykazują ograniczoną selektywność receptorową i najczęściej częściowy agonizm, co może przekładać się na niezadowalającą skuteczność i działania niepożądane. Tymczasem dane eksperymentalne wskazują, że selektywny, pełny agonizm wobec rec. 5-HT<sub>1A</sub> – potencjalnie ukierunkowany na określone

szlaki sygnałowe – może zapewniać korzystniejszy profil terapeutyczny. W odróżnieniu od obecnie stosowanych związków, pochodne benzoilo-piperidyno-metanaminy, takie jak NLX-101, NLX-204 czy NLX-219, są selektywnymi pełnymi agonistami rec. 5-HT<sub>1A</sub>. Co więcej, wykazują one selektywność funkcjonalną wobec szlaków sygnalizacyjnych obejmujących fosforylację ERK1/2, przy ograniczonej aktywacji alternatywnych szlaków. Związki te wykazały wybitną aktywność w przedklinicznych modelach depresji (CMS), a także w modelach choroby Parkinsona czy bólu.



W poszukiwaniu nowych, selektywnych funkcjonalnie agonistów rec. 5-HT<sub>1A</sub> postanowiliśmy eksplorować alternatywny fragment centralny, który mógłby sprzyjać stabilizacji odmiennych konformacji receptora, potencjalnie powiązanych z różnymi profilami aktywacji szlaków sygnalizacyjnych. W tym celu dokonaliśmy bioizosterycznej wymiany układu piperidyno-metanaminy na sztywniejszy i bardziej trójwymiarowy układ azaspiro[3.3]heptan-6-aminy.

Zaprojektowane analogi modelowego związku NLX-219 otrzymano w trójetapowej syntezie, rozpoczynającej się od komercyjnie dostępnej pochodnej 2-azaspiro[3.3]heptan-6-aminy. Optymalizacja warunków reakcji umożliwiła opracowanie niezawodnej i wydajnej metody syntezy spirocyklicznych analogów NLX-219. Wstępna charakterystyka farmakologiczna otrzymanych związków ujawniła selektywną aktywację szlaków rec. 5-HT<sub>1A</sub> zależnych od białka G<sub>i</sub>, mierzoną hamowaniem cAMP, przy braku rekrutacji β-arrestyny.

Projekt realizowany w ramach grantu NCN nr 2021/41/B/NZ7/04275.

## Referencje

1. Kirichok AA, Tkachuk H, et al. 1-Azaspiro[3.3]heptane as a Bioisostere of Piperidine. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2023, 62, e202311583.
2. Sniecikowska J, Gluch-Lutwin M, et al. Discovery of Novel pERK1/2- or β-Arrestin-Preferring 5-HT<sub>1A</sub>Receptor-Biased Agonists: Diversified Therapeutic-like versus Side Effect Profile. *J Med Chem.* 2020, 19, 10946–71.

## Targeting EF-P lysinylation by crystallographic fragment screening

P. Wilk<sup>1</sup>, E. Wątor-Wilk<sup>1</sup>, P. Grudnik<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Structural Biology Core Facility, Malopolska Centre of Biotechnology (MCB), Jagiellonian University Kraków, Kraków, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [wilk.piotr@uj.edu.pl](mailto:wilk.piotr@uj.edu.pl)

Multidrug resistance (MDR) in Gram-negative bacteria is a major global health concern, with pathogens like *Acinetobacter*, *Salmonella* and *Shigella* classified as high risk threats. Translation elongation factor P (EF-P) is essential for overcoming ribosomal stalling at polyproline motifs, frequently occurring in proteins related to bacterial resistance such as efflux pumps. In bacteria, a posttranslational modification is required for EF-P activation [1]. Most commonly a specific lysine residue undergoes  $\beta$ -lysinylation, catalyzed by the ATP-dependent EpmA ligase. Deletion of either the *efp* gene or its modifying enzyme was shown to be detrimental for *Salmonella enterica* resistance to environmental stresses such as the presence of antibiotics [2]. Disrupting this modification could impair bacterial fitness and enhance antibiotic efficacy, yet no inhibitors of EpmA currently exist.

This project employs crystallographic fragment screening to identify potential inhibitors targeting EpmA. This method detects low molecular weight compounds binding to key enzyme sites, providing a foundation for structure-guided drug development. Advances in high throughput X-ray crystallography and computational tools, such as PanDDA, now enable the efficient screening of large fragment libraries. Preliminary studies on human hypusination enzymes demonstrated a high hit rate, validating the approach [3].

By mapping the druggable sites of EpmA and screening homologous enzymes, this study will provide insights into EF-P regulation and bacterial adaptation. Ultimately, the identification of EpmA inhibitors could lead to novel antimicrobial strategies, addressing the urgent need for new treatments against MDR pathogens.

## Reference

1. Lassak J., Wilson D.N., Jung K. Stall no more at polyproline stretches with the translation elongation factors EF-P and IF-5A. *Molecular Microbiology*. 2016;99(2):219–35.
2. Navarre W.W., Zou S.B., Roy H., Xie J.L., Savchenko A., Singer A., et al. PoxA, YjeK, and elongation factor P coordinately modulate virulence and drug resistance in *Salmonella enterica*. *Molecular Cell*. 2010;39(2):209–21.
3. Wilk P., Wątor-Wilk E., Muszak D., Kochanowski P., Krojer T., Grudnik P. Crystallographic fragment screening supports tool compound discovery and reveals conformational flexibility in human deoxyhypusine synthase. *Commun Chem*. 2026. doi: 10.1038/s42004-026-01897-9. (Epub ahead of print).

## Zaburzenia neuronalnych procesów migracyjnych w genetycznym podłożu zaburzeń ze spektrum autyzmu

P-67

Klaudia Wojtał<sup>1</sup>, Justyna Zmorzyńska

<sup>1</sup> Laboratorium Neurobiologii Rozwoju, Międzynarodowy Instytut Mechanizmów i Maszyn Molekularnych PAN, ul. Flisa 6, 02-247, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [k.wojtal@imol.institute](mailto:k.wojtal@imol.institute)

Okres embrionalny stanowi kluczowe okno rozwojowe mózgu, w którym niezbędna jest precyzyjna regulacja sygnałów fizjologicznych i molekularnych, zapewniająca prawidłowe funkcjonowanie przez całe życie (Prem et al., 2020). Stwardnienie guzowate (ang. *Tuberous Sclerosis Complex*, TSC) jest genetycznym zaburzeniem neurorozwojowym spowodowanym utratą funkcji genów *TSC1* lub *TSC2*, co prowadzi do nadaktywności szlaku mTORC1. Charakterystyczną cechą TSC jest występowanie zaburzeń neuropsychiatrycznych (ang. *TSC-associated neuropsychiatric disorders*, TAND), wśród których znajduje się zaburzenie ze spektrum autyzmu (ang. *Autism Spectrum Disorder*, ASD) (Kedra et al., 2020).

Model zebrafish (*Danio rerio*), dzięki przejrzystości zarodków oraz zewnętrznemu rozwojowi, umożliwia badanie nieprawidłowości neuroroz-

wojowych *in vivo* (Vaz et al., 2019). Kedra et al. (2020) wykazali, że ryby z deficytem *tsc2* charakteryzują się nieprawidłowym grupowaniem aksonów oraz zwężeniem szlaku aksonowego spoidła przedniego (*anterior commissure*, AC), a także prezentują zachowania lękopodobne. Analiza molekularna ujawniła podwyższony poziom mRNA genów *dock3* (kluczowego regulatora wczesnego wzrostu aksonów), *dock4* (uczestniczącego w różnicowaniu neurytów oraz w polaryzacji aksonalno-dendrytycznej) oraz *elmo2* (aktywatora szlaku Rac1 kontrolującego migrację komórek i adhezję).

Geny należące do rodziny *DOCK* są klasyfikowane przez SFARI jako geny ryzyka ASD, co wskazuje, że genetyczny model TSC umożliwił zagłębienie się w genetyczne podłoże mechanizmów odpowiedzialnych za fenotyp ASD (Simons Foundation Autism Research Initiative, 2023). Istnieje wysoka (około 80%) zgodność genetyczna pomiędzy człowiekiem a rybą zebrafish, obejmująca również konserwację sekwencji genów *dock3* i *dock4*, co pozwala traktować je jako potencjalne nowe cele badań nad fenotypem autystycznym w populacji zmutowanych ryb. Wyniki te otwierają perspektywę dalszych badań nad podłożem ASD, w których kluczową rolę mogą odgrywać zaburzenia migracji komórek oraz sygnałów kierujących wzrostem aksonów, regulowanej m.in. przez białka z rodziny *DOCK*.

## Referencje

1. Kedra, M., Banasiak, K., Kisielewska, K., Wolinska-Nizioł, L., Jaworski, J., & Zmorzynska, J. (2020). TrkB hyperactivity contributes to brain dysconnectivity, epileptogenesis, and anxiety in zebrafish model of Tuberous Sclerosis Complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(4), 2170-2179.
2. Prem, S., Millonig, J. H., & DiCicco-Bloom, E. (2020). Dysregulation of neurite outgrowth and cell migration in autism and other neurodevelopmental disorders. In *Neurodevelopmental Disorders: Employing iPSC Technologies to Define and Treat Childhood Brain Diseases* (pp. 109-153). Cham: Springer International Publishing.
3. Vaz, R., Hofmeister, W., & Lindstrand, A. (2019). Zebrafish models of neurodevelopmental disorders: limitations and benefits of current tools and techniques. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1296.

## Czy NanoRNazy *Mycobacterium tuberculosis* mogą pełnić rolę miejsc docelowych dla nowych leków przeciwgruźliczych?

P-68

Justyna Zadyłak<sup>1,2,3</sup>, Daria Zygała<sup>1,2</sup>, Anna Brzostek<sup>2</sup>, Przemysław Płociński<sup>3</sup>, Jarosław Dziadek<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Doktorska BioMedChem UŁ i Instytutów PAN w Łodzi, ul. Jana Matejki 21/23, 90-237b Łódź, Polska

<sup>2</sup> Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź, Polska

<sup>3</sup> Wydział Biologii i Ochrony Środowiska UŁ, Stefana Banacha 12/16, 90-237 Łódź, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [justyna.zadylak@edu.uni.lodz.pl](mailto:justyna.zadylak@edu.uni.lodz.pl)

Mimo dostępności skutecznych schematów leczenia, gruźlica wywoływana przez *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) nadal jest poważnym globalnym problemem dla zdrowia publicznego. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) wskazuje, że zachorowalność utrzymuje się na wysokim poziomie, a szczególnym wyzwaniem pozostaje gruźlica lekooporna. Dlatego, obok usprawniania diagnostyki i terapii, potrzebne są nowe leki o odmiennych mechanizmach i celach działania. W trakcie dojrzewania i degradacji RNA w komórce powstają bardzo krótkie fragmenty – nanoRNA, które mogą zaburzać metabolizm kwasów nukleinowych, m.in. inicjować transkrypcję i zmieniać miejsce jej startu, wpływając na profil transkryptyczny [1]. Jeśli nie są szybko hydrolizowane, mogą również zaburzać równowagę puli nukleotydów, dlatego organizmy posiadają enzymy rozkładające nanoRNA do mononukleotydów. Dane literaturowe i analizy *in silico* wskazują, że u *M. tuberculosis* funkcjonują dwa takie enzymy: oligoribonukleaza Orn (Rv2511) oraz białko NrnA (Rv2837c) z rodziny DHH–DHHA1, które wykazuje także aktywność fosfodiesterazy c-di-AMP. Badania biochemiczne sugerują ponadto, że Rv2837c może hydrolizować krótkie substraty nukleinowe, łącząc kontrolę produktów degradacji RNA z regulacją sygnalizacji nukleotydu [2,3].

Celem naszych badań jest ocena, czy Orn i NrnA są niezbędne dla przeżycia prątków, charakterystyka ich aktywności *in vitro* i *in vivo* oraz opracowanie wysokoprzepustowego testu przesiewowego *in vitro* do selekcji specyficznych inhibitorów. Z perspektywy poszukiwania leków przeciwgruźliczych Rv2511 i Rv2837c stanowią obiecujące cele molekularne, ponieważ są metalozależnymi enzymami kluczowymi dla kontroli me-

tabolizmu krótkich fragmentów RNA oraz sygnalizacji c-di-AMP, a ich zahamowanie może zaburzać istotne procesy fizjologiczne prątką.

### Referencje

1. Goldman SR, Sharp JS, Vvedenskaya IO, Livny J, Dove SL, Nickels BE. NanoRNAs prime transcription initiation in vivo. *Mol Cell*. 2011 Jun 24;42(6):817-825.
2. Postic G, Danchin A, Mechold U. Characterization of NrnA homologs from *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycoplasma pneumoniae*. *RNA*. 2012 Jan;18(1):155-165.
3. He Q, Wang F, Liu S, Zhu D, Cong H, Gao F, et al. Structural and Biochemical Insight into the Mechanism of Rv2837c from *Mycobacterium tuberculosis* as a c-di-NMP Phosphodiesterase. *J Biol Chem*. 2016 Feb 12;291(7):3668-3681.

## **Wpływ produktu uzyskanego na bazie MSC o nazwie ABX-0707 na przeżycie i proliferację pierwotnych neuronów korowych w szczurzym modelu asfiksji neonatalnej *in vitro***

Karolina Ziąbska-Pacześ<sup>1</sup>, Justyna Gargaś<sup>1</sup>, Maja Pelczarska<sup>2</sup>, Aleksandra Pobudkiewicz<sup>2</sup>, Monika Rytel<sup>2</sup>, Małgorzata Ziemka-Nałęcz<sup>1</sup>, Anna Sarnowska<sup>2</sup>, Joanna Sypecka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Neurobiologii Naprawczej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawińskiego 5, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Platforma Badań Translacyjnych w zakresie Medycyny Regeneracyjnej, Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawińskiego 5, Warszawa, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [kziabska@imdik.pan.pl](mailto:kziabska@imdik.pan.pl)

Okoloporodowe niedotlenieniowo-niedokrwienne uszkodzenia mózgu, znane jako asfiksja okołoporodowa, stanowią istotną przyczynę trwałych uszkodzeń mózgu, które mogą prowadzić do długotrwałych zaburzeń neurologicznych, a w skrajnych przypadkach – do zgonu noworodka [1]. Mimo licznych badań, u noworodków

z asfiksją okołoporodową jako metodę neuroprotekcji stosuje się jedynie hipotermię terapeutyczną [2]. Jednakże zastosowanie hipotermii nie zawsze może mieć miejsce. Wśród nowych strategii terapeutycznych rosnącą popularnością cieszą się leki biologiczne, takie jak komórki macierzyste. Wychodząc naprzeciw rosnącemu zapotrzebowaniu na nowe terapie, w niniejszym badaniu zastosowano model asfiksji okołoporodowej *in vitro*, w którym pierwotne neurony korowe izolowano z mózgów 1-dniowych szczurzych osesków stada Wistar. Komórki hodowano w warunkach normoksji fizjologicznej (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>), następnie część hodowli poddawano warunkom hipoksyjno-ischemicznym, poprzez usunięcie glukozy i tlenu z pożywki hodowlanej (OGD), przez 40 minut, co skutecznie imituje niedotlenienie-niedokrwienie w warunkach *in vitro*. Po tej procedurze komórki hodowano w świeżej pożywce z dodatkiem produktu uzyskanego na bazie mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) o nazwie ABX-0707 w różnych stężeniach. Zebrany po 24 godzinach materiał biologiczny był następnie poddawany dalszym analizom, takim jak: ocena cytotoksyczności przy użyciu testu LDH, ocena przeżycia komórek przy użyciu barwnika Sytox, oraz ocena proliferacji komórek przy wykorzystaniu markera anty-Ki67. Przeprowadzono też przeżyciową dobową obserwację komórek z wykorzystaniem systemu holotomograficznego Tomocube. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że produkt ABX-0707 nie jest cytotoksyczny dla pierwotnych neuronów korowych, a w grupie podanej procedurze OGD działa neuroprotekcynnie oraz zwiększa proliferację komórek.

Finansowanie: Agencja Badań Medycznych w ramach Krajowego Planu Odbudowy.

## Referencje

1. Dobrzańska A, Gołkowska M, Gruszfeld D, Czech-Kowalska J. Advances in therapy in newborns. *Przewodnik Lekarza/Guide for GPs*, 2009, 1, 173-178.
2. Drury PP, Gunn ER, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. *Clinics in perinatology*, 2014, 41(1), 161-175. doi:10.1016/j.clp.2013.10.005

## Schizophrenia-linked 3q29 deletion shapes behavioral and transcriptomic responses to risperidone in mice

Magdalena Ziemiańska<sup>1</sup>, K. Misiółek<sup>1</sup>, J. Netczuk<sup>1</sup>, M. Boguska<sup>1</sup>, Ł. Szumiec<sup>1</sup>, S. Gołda<sup>1</sup>, M. Zięba<sup>2</sup>, M. Piechota<sup>2</sup>, M. Borczyk<sup>2</sup>, M. Maćkowiak<sup>3</sup>, M. Korostyński<sup>2</sup>, J. Rodriguez Parkitna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Molecular Neuropharmacology, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

<sup>2</sup> Laboratory of Pharmacogenomics, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

<sup>3</sup> Department of Pharmacology and Brain Biostructure, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [mziemian@if-pan.krakow.pl](mailto:mziemian@if-pan.krakow.pl)

Identifying how genetic background influences response to antipsychotics is critical for advancing precision-based schizophrenia treatments. We investigated behavioral and transcriptomic responses to acute risperidone treatment in a mouse model of the human 3q29 deletion, a rare copy number variant associated with over a 40-fold increased risk of schizophrenia [1]. Adult mutant and wild-type littermates underwent two behavioral sessions assessing acoustic startle and prepulse inhibition (PPI). The first session established baseline behavior in drug-naïve animals. In the second, mice received risperidone (0.5 or 1 mg/kg) or saline. Brains were collected two hours after treatment (1 mg/kg). To assess the molecular mechanisms underlying the differential response to antipsychotic treatment, we performed a spatial analysis of gene expression induced by acute risperidone treatment.

At baseline, mice with the 3q29 equivalent deletion exhibited elevated startle amplitudes but intact PPI. While treatment with risperidone reduced startle irrespective of genotype, its effect on PPI was dose-dependent in control animals, while mutants exhibited an attenuated response. Spatial transcriptome profiling revealed gene expression patterns consistent with forebrain anatomy and confirmed widespread reductions in transcript abundance originating from the deletion locus. Risperidone induced distinct transcriptional profiles across genotypes, with 64 genes differentially affected by treatment. These included 13 genes that were associated with schizophrenia risk, linking drug response to underlying genetic vulnerability.

Together, these findings demonstrate that genetic background influences both behavioral and molecular sensitivity to antipsychotic treatment. This work underscores the importance of integrating genetic risk into pharmacological research and supports the development of genotype-informed strategies for schizophrenia therapy.

### Referencje

- 1 Mulle J. G. (2015). The 3q29 deletion confers >40-fold increase in risk for schizophrenia. *Molecular psychiatry*, 20(9), 1028–1029. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.76>.

## **Violaceina jako potencjalny sonouczulacz w terapii sonodynamicznej wobec czerniaka oraz wybranych patogenów chorobotwórczych**

P-71

Daniel Ziental<sup>1</sup>, Marianna Szczepaniak<sup>1</sup>, Jakub Szymczyk<sup>1</sup>, Mikołaj Czajkowski<sup>1</sup>, Aleksandra Majchrzak-Celińska<sup>2</sup>, Violetta Krajka-Kuźniak<sup>2</sup>, Jolanta Długaszewska<sup>3</sup>, Łukasz Sobotta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań, Polska

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań, Polska

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań, Polska

adres e-mail osoby prezentującej: [dziental@ump.edu.pl](mailto:dziental@ump.edu.pl)

Violaceina jest naturalnym barwnikiem bisindolowym produkowanym przez niektóre bakterie Gram-ujemne, wykazującym aktywność przeciwnowotworową i przeciwdrobnoustrojową. Jej zastosowanie biologiczne i potencjalne zastosowanie kliniczne są ograniczone przez wysoką lipofilowość i niską rozpuszczalność w wodzie. Celem pracy była ocena wolnej oraz liposomalnej violaceiny jako nowego sonouczulacza w terapii sonodynamicznej (SDT), ze szczególnym uwzględnieniem komórek czerniaka oraz wybranych patogenów.

Liposomy z violaceiną otrzymano metodą mikroprzepływu z użyciem fosfatydylocholiny, cholesterolu i DOTAPu. Nanoliposomy charakteryzowały się niewielkim rozmiarem (<50 nm), niską polidispersyjnością i wysoką wydajnością enkapsulacji, umożliwiając stabilne dostarczanie violaceiny w środowisku wodnym. Badania sonochemiczne wykazały aktywację violaceiny pod wpływem ultradźwięków (1 MHz; 3W), która warunkowała generowanie reaktywnych form tlenu, w tym anionorodnika ponadtlenkowego oraz tlenu singletowego. Aktywność biologiczną SDT oceniano *in vitro* na pierwotnych (MICH-2) i przerzutowych (HTB-140) liniach czerniaka oraz na fibroblastach ludzkich (MRC-5). Sonikacja istotnie nasilała cytotoksyczność violaceiny, zwłaszcza liposomalnej, redukując żywotność komórek nowotworowych o ponad 90% przy stężeniach submikromolowych. Efekt wiązał się m.in. z wywołanym stresem oksydacyjnym uszkodzeniem błon komórkowych, prowadzącym do apoptozy. Pomimo wrażliwości fibroblastów na SDT, różnice w dynamice odpowiedzi sugerowały odmienne mechanizmy wychwytu i odpowiedzi komórkowej. Równolegle oceniono potencjał przeciwdrobnoustrojowy SDT z violaceiną wobec bakterii i grzybów w formie planktonu oraz biofilmu. Aktywność była zróżnicowana w zależności od szczepu, z najsilniejszym efektem wobec *Vibrio vulnificus* i *Candida auris*. Wyniki wskazują, że violaceina, szczególnie w liposomach wrażliwych na ultradźwięki, jest obiecującym sonouczulaczem do dalszych badań przedklinicznych w terapii nowotworów i zakażeń.

#### Referencje

1. Ziental, Daniel, et al. „Ultrasound responsive violacein loaded liposomes for sonodynamic therapy.” *Dyes and Pigments* (2025): 113243.

## Associations of glucocorticoid receptor-dependent gene signatures with neuropsychiatric and neurodegenerative phenotypes

Mateusz Zięba<sup>1</sup>, Magdalena Ziemiańska<sup>2</sup>, Małgorzata Borczyk<sup>1</sup>, Marcin Piechota<sup>1</sup>, Michał Korostyński<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Pharmacogenomics, Department of Molecular Neuropharmacology, Maj Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

<sup>2</sup> Department of Molecular Neuropharmacology, Maj Institute of Pharmacology, Polish Academy of Sciences, Krakow, Poland

adres e-mail osoby prezentującej: [m.zieba@if-pan.krakow.pl](mailto:m.zieba@if-pan.krakow.pl)

Stress activates the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis, leading to the release of glucocorticoids. These hormones activate the glucocorticoid receptor (GR), a transcription factor that regulates genes involved in metabolism, immunity, and brain function. Chronic HPA activation disrupts GR signaling, which is considered a hallmark of stress-related disorders such as depression [1]. However, a characterization of GR-dependent genes in the context of mental health remains limited.

We created a database of GR-dependent genes from 47 publications, comprising 54,325 records and 13,207 unique protein-coding genes. Leveraging the database, we defined two systemic GR-dependent gene signatures: 208 activated and 119 repressed by GR. The systemic signatures were tested for genetic associations based on shared genes with phenotype-associated gene sets derived from DisGeNET (category: Mental Disorders, F03;  $n = 81$  phenotypes), the GWAS Catalog (category: Mental or Behavioural Disorder, EFO:0000677;  $n = 137$  phenotypes,  $p_{\text{GWAS}} < 1 \times 10^{-5}$ ), and GeneBass (category: mental health follow-up & mental and behavioural disorders;  $n = 96$  phenotypes,  $p_{\text{SKAT}} < 0.01$ ).

In total, 184 genes were significantly associated with 50 phenotypic traits ( $\text{FDR} < 0.05$ ). Within the DisGeNET phenotype set, bipolar disorder exhibited the lowest p-value ( $p = 6.0 \times 10^{-11}$ ) and was associated with 20 GR-activated genes. This association included well-characterized GR-responsive markers such as *FKBP5*, *MAOA*, and *PER2*, as well as less-characterized candidates including *ADARB1*, *FZD4*, and *SIPRI*. Alzheimer's disease exhibited the lowest p-value among GWAS Catalog

phenotypes ( $p = 5.5 \times 10^{-5}$ ) and was associated with genes linked to lipid and metabolic pathways, including *SORT1*, *TRIB1*, and neuroimmune and inflammatory signaling pathways, such as *PTK2B* and *EGFR*. Together, these results link novel and known GR-regulated genes to a range of mental health phenotypes, most prominently neurodegenerative, substance use, and mood-related disorders. Our database provides a framework for delineating the biological pathways through which stress influences mental health.

### Referencje

1. Silverman MN, Sternberg EM. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: from HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2012;1261:55–63.

This work was funded by NCN, Poland OPUS 23 2022/45/B/NZ5/03188.

# Indeks wystąpień

## Spis wykładów

- W-1. Jacek Jemielity, *Chemiczne modyfikacje mRNA do zastosowań terapeutycznych*
- W-2. Natalia Rozwadowska, *Terapia genowa ex vivo w praktyce: CAR-T jako model translacji od laboratorium do kliniki*
- W-3. Dariusz C. Górecki, *Odpowiedź immunologiczna jako bariera w zastosowaniach terapii genowej*
- W-4. Aldona Chmielewska, *Od mutacji do leku: terapie genowe w chorobach rzadkich na przykładzie syndromu AGO*
- W-5. Krzysztof Kamiński, *Od koncepcji do kliniki – historia (R)-AS-1, pierwszego w klasie kandydata na lek przeciwpadaczkowy o nowym mechanizmie działania*
- W-6. Lukasz Skalniak, *Chemia medyczna białka PD-L1: nowe strategie i nieoczekiwane obserwacje*
- W-7. Paweł Siedlecki, *Modele przewidywania powinowactwa białko-ligand: od struktur statycznych do dynamiki molekularnej*
- W-8. Marcin Piechota, *Odkrycia Farmakogenetyczne w dobie wielkoskalowych baz danych klinicznych powiązanych z bankami genomów*
- W-9. Marzena Wojtaszewska, *Personalizacja leczenia nowotworów kobiecych oparta na profilowaniu genetycznym metodą NGS*
- W-10. Jakub Jończyk, *Strukturalna farmakogenomika w projektowaniu leku: od polimorfizmu do decyzji projektowych*
- W-11. Toni Andreu, *EATRIS, The European Infrastructure for Translational Medicine, a leading organization for the Personalized Medicine agenda: The rare diseases challenge*

## Indeks wystąpień

- W-12. Monika Gos, *Rdzeniowy zanik mięśni – od badań podstawowych do terapii celowanej i diagnostyki populacyjnej*
- W-13. Kacper Łukasiewicz, *Nietypowe rozwiązania badawcze jako odpowiedź na wyzwania w poszukiwaniu terapii chorób rzadkich*
- W-14. Justyna Walczuk, *Od n-of-1 do n-of-many: Jak MEK2 Research Foundation rozwija leczenie na ultra rzadką chorobę genetyczną*
- W-15. Małgorzata Kośla, *Dolina Śmierci w badaniach translacyjnych, pacjenci budujący mosty i badacze stawiający filary*
- W-16. Michał Ślęzak, *Astrocyty jako nowa przestrzeń interwencji w personalizowanej terapii chorób odstresowych*
- W-17. Monika Bijata, *Biomarkery skuteczności ketaminy jako narzędzie personalizacji terapii depresji*
- W-18. Magdalena Lebedzińska-Arciszewska, *Profilowanie metaboliczne jako wsparcie w poszukiwaniu ukierunkowanych terapii zaburzeń układu nerwowego*
- W-19. Katarzyna Widerak, *Transkryptomika przestrzenna jako narzędzie medycyny translacyjnej*
- W-20. Jakub Wojciechowski, *Metody bioinformatyczne w funkcjonalnej interpretacji ludzkiego mikrobiomu jelitowego*
- W-21. Krzysztof Rataj, *Wykorzystanie sztucznej inteligencji w projektowaniu leków biologicznych: możliwości i trudności*
- W-22. Dawid Ostrowski, *Otwarte modele sztucznej inteligencji w obszarze zdrowia, na przykładzie produktów Google oraz Google DeepMind*
- W-23. Andrzej Dziembowski, *Komórkowe i terapeutyczne mRNA – dlaczego ogony poli(A) są takie ważne*

## Spis posterów

- P-01. Jakub Adamczyk, *Fingerprinty molekularne to mocne modele dla przewidywania własności peptydów*
- P-02. Konrad Barnowski, *Synergistyczna immunoterapia przeciwnowotworowa celująca w LAG-3+PD-L1 poprzez koadministrację durwalumabu i flawonoidu*
- P-03. Katarzyna Bednarska-Szczepaniaka, *Receptory purynergiczne jako cele terapeutyczne – wysokie powinowactwo a selektywność leków. Czy klastry boru mogą stanowić rozwiązanie?*
- P-04. Magdalena Białoń  *$\beta$ -kariofilen łagodzi zaburzenia behawioralne indukowane MK-801 w szczurzym modelu schizofrenii*
- P-05. Agnieszka Bysiek, *Badanie przeciwlękowego i neurochemicznego mechanizmu mikrodawkowania psylocybiny u szczurów*
- P-06. Magdalena Chrószcz, *Behavioral effects of adolescent social isolation and resocialization in female mice*
- P-07. Tatsiana Chubukova, *Zróżnicowanie zmian w ekspresji proteomu mitochondrialnego komórek mikrogleju w odpowiedzi na degenerację neuronów vs astrocytów istoty czarnej mózgu szczura*
- P-08. Dominik Cysewski, *Cell Painting + AI oraz proteomika fibroblastów w repozycjonowaniu leków dla zespołu PACS2 (DEE66)*
- P-09. Jan Czachorowski, *Alternatywna rola ligazy PafA oraz jej znaczenie dla rozwoju i fizjologii Streptomyces venezuelae*
- P-10. Kinga Czarnota-Łydka, *Pochodne triazyny jako dualne inhibitory 5-HT<sub>6</sub>/FAAH o potencjalnym działaniu przeciwko chorobie Alzheimera*
- P-11. Przemysław Jan Danek, *Wpływ związku CP-101,606 na ekspresję oraz aktywność enzymów cytochromu P450 w hodowli 2D i 3D ludzkich komórek wątroby*
- P-12. Katarzyna Dominiak, *Wpływ naturalnych związków bioaktywnych na ruchliwość larw Danio rerio*
- P-13. Agata Faron-Górecka, *Ligand-specific modulation of 5-HT<sub>1A</sub>–5-HT<sub>2B</sub> receptor dimerization revealed by FRET analysis*
- P-14. Jakub Frydrych, *Nowy agonista, związek MD5 moduluje dystrybucję receptora FPR2 w komórkach mikrogleju: badania w modelu immunoaktywacji*

## Indeks wystąpień

- P-15. Zbigniew Gajda, *Wirtualny skrining biblioteki związków w poszukiwaniu potencjalnej polifarmakologii, obejmującej TAAR1, SERT, MAO-B*
- P-16. Sandra Gajewska, *Pierwsza kolekcja inhibitorów mitochondrialnej kinazy adenylanowej 4 (AK4) zidentyfikowana metodą wysokoprzepustowego screeningu związków naturalnych*
- P-17. Justyna Gargaś, *Wpływ produktu uzyskanego na bazie MSC o nazwie ABX-0707 na pierwotną współhodowlę neuronówkorowych z komórkami glejowymi w szczurzym modelu asfiksji neonatalnej in vitro*
- P-18. Dawid Gogola, *Badanie zgodności predykcji interakcji międzylekowych: porównanie frakcji metabolizowanych ( $f_m$ ) wyznaczonych w ludzkich hepatocytach i w rekombinowanych izoformach cytochromu P450*
- P-19. Katarzyna Golebiowska-Mendroch, *Ligaza E3 Von Hippel-Lindau jako cel molekularny – badania strukturalne i biochemiczne z użyciem jego ligandów oraz sond PROTAC*
- P-20. Patrycja Grabarczyk, *Wpływ N-metylowanych fragmentów insuliny na hamowanie agregacji rdzeni amyloidogennych beta-amyloidu (A $\beta$ )*
- P-21. Natalia Gućwa, *Gdy chemia podąża za biologią: poszukiwania nowych degraderów IKK $\beta$  kontrolujących stan zapalny*
- P-22. Julia Jacyna-Gębała, *Celowana analiza metabolomiczna związków nukleozydowych: walidacja potencjalnych biomarkerów nowotworów układu moczowo-płciowego*
- P-23. Anna Haduch, *Cytokompatybilność nanocząstek magnetycznych w komórkach SH-SY5Y: wpływ czasu ekspozycji i różnicowania na żywotność i cytotoksyczność*
- P-24. Jacek Hajto, *PharmGScore – continuous scoring of pharmacogenetic variation*
- P-25. Jadwiga Handzlik, *Wpływ modyfikacji pierścienia pirazolu w pochodnych 1,3,5-triazyny na dualną modulację 5-HT $_6$ R i RIPK1 – białkowych celów w poszukiwaniu nowych terapii choroby Alzheimera*
- P-26. Magdalena Hawrylak, *Pochodne triazyny w poszukiwaniu podwójnych modulatorów nekroptozy/kinazy RIPK1 i receptora serotoninowego 5-HT $_6$  o potencjalnym wykorzystaniu w terapii choroby Alzheimera*
- P-27. Adam Hogendorf, *Wielkie zbiory danych z selekcji bibliotek znakowanych DNA (DEL) – potencjał i ograniczenia w uczeniu maszynowym*

## Indeks wystąpień

- P-28. Sara Janowska, *Nowe metoksyfenylowe pochodne 1,3,4-tiadiazolu jako potencjalne inhibitory aromatazy – projektowanie, synteza i ocena aktywności in vitro*
- P-29. Tadeusz Karcz, *Selektywność funkcjonalna i aktywność biologiczna pochodnych 1,3,5-triazyny jako modulatorów receptora histaminowego H<sub>4</sub> w zwierzęcych modelach stanów zapalnych*
- P-30. Aleksandra Karska, *Zmiany profilu lipidowego wybranych struktur mózgu myszy C57Bl/6J, w odpowiedzi na chroniczne leczenie SSRI - w analizie FTIR*
- P-31. Radosław Kitel, *Odkrycie kowalencyjnych inhibitorów oddziaływania PD-L1/PD-1*
- P-32. Magdalena Kolasa, *Molekularne efekty działania psylocybiny w korze przedczołowej – analiza proteomiczna w komórkach neuronalnych i nieneuronalnych*
- P-33. Oskar Kołacki, *Hybrydowe podłoża stałe o wysokiej pojemności do syntezy długich oligonukleotydów stosowanych w terapiach kwasami nukleinowymi*
- P-34. Paula Konowalska, *Warianty utraty funkcji w nowych farmakogenach są powiązane z fenotypami skuteczności leczenia depresji: analiza ~75.000 pacjentów z UK Biobanku*
- P-35. Szymon K. Kordylewski, *Czas przebywania antagonistów receptora 5-HT<sub>2A</sub>: nowe dane z badań nad pochodnymi ritanseryny*
- P-36. Kacper Kossakowski, *Blokowanie to przeszłość, degradacja to przyszłość: nowy kierunek (r)ewolucji w projektowaniu leków celujących w COX-2*
- P-37. Mateusz Królewski, *Oś staw-mózg: wpływ obwodowej degradacji tkanki chrzęstnej na profil neurochemiczny struktur podkorowych mózgu*
- P-38. Wojciech Kuban, *Proteomika osocza/surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego w stwardnieniu zanikowym bocznym: timsTOF Pro 2 (PASEF), DIA-NN i AI*
- P-39. Katarzyna Kucwaj-Brysz, *Optymalizacja pochodnych 5-spirohydantoiny w poszukiwaniu nowych struktur wiodących w terapii glejaka wielopostaciowego*
- P-40. Kinga Kurowska, *Analiza in silico wpływu mutacji MEK2 Glu207Lys w zespole CFC4 na wiązanie inhibitorów*

## Indeks wystąpień

- P-41. Katarzyna Kurpiewska, *Krystalografia wysokociśnieniowa jako pomost między strukturą statyczną a dynamiczną: przykład sztywności i zmienności architektury kieszeni wiążącej w proteinazie K*
- P-42. Magdalena Kuzioła, *Fluorochinolony oraz ich pochodne – aktywność względem Mycobacterium tuberculosis i Mycobacterium abscessus oraz mechanizmy nabywania oporności u prątków*
- P-43. Yaroslav Lavrynychuk, *Badania nad białkami kompleksu degradosomu RNA u Mycobacterium tuberculosis jako droga do odkrycia nowych leków przeciwgruźliczych*
- P-44. Joanna Loch, *Discovery of a highly selective L-asparaginase for precision therapy of acute lymphoblastic leukemia*
- P-45. Magdalena Maciuszek, *Cyfrowy fenotyp bólu: Zintegrowana analiza behawioralno-metaboliczna modelu neuropatii u samców myszy C57BL/6J*
- P-46. Agnieszka Maślanka, *Wpływ małowcząsteczkowego kowalencyjnego inhibitora na los białka PD-L1*
- P-47. Katarzyna Maziarz, *MIP001 as an anti-inflammatory compound with a potential protective effect on dopamine neurons and reduction of astrocyte activation in an inflammatory model of Parkinson's disease*
- P-48. Łukasz Milewski, *Projektowanie i optymalizacja inhibitorów peptydowych białka Mia40 jako nowa strategia celowana w leczeniu ostrej białaczki szpikowej*
- P-49. Miłosz Mocarski, *Pochodne piperodyny i piperazyny jako wielofunkcyjne ligandy receptorów  $\mu$ -opiodowych, histaminowych H<sub>3</sub> oraz sigma-1 w badaniach nad mechanizmami bólu neuropatycznego*
- P-50. Patryk Mucha, *NAD<sup>+</sup> budowa metabolizmu energetycznego w chorobie Huntingtona – nowy, wieloukładowy cel terapeutyczny*
- P-51. Kinga Nazaruk, *Behavioural impairment of adult Sprague-Dawley rats after 4-vessel global ischemia*
- P-52. Maciej Ołdak, *Analiza funkcji i interakcji REST i KAISO w kontekście glejaka wielopostaciowego*
- P-53. Julia Pakulska, *Identyfikacja potencjalnych celów białkowych dla dualnych ligandów receptorów H<sub>3</sub> histaminowego oraz sigma-1 i sigma-2 o właściwościach przeciwnowotworowych*
- P-54. Kinga Piątek-Bajan, Łukasz Ciecierski, *Transkryptomocny model 3D implantu raka jajnika*

## Indeks wystąpień

- P-55. J. Raczak-Gutknecht, *Opracowanie elastycznego i zautomatyzowanego skryptu do analizy danych metabolomicznych*
- P-56. Marta Radko, *Od danych do eksperymentu: studencka platforma do przewidywania toksyczności związków bioaktywnych PATmed*
- P-57. Magda Regulska, *Ocena protekcyjnego potencjału TRP: badania ex vivo w hodowlach organotypowych hipokampa myszy w warunkach aktywacji zapalnej*
- P-58. Wiktor Rorat, *Analiza oddziaływań ligand – białko narzędziem CORAL-MD*
- P-59. Wiktor Rorat, *Pterostilben jako związek wielocelowy w chorobach neurodegeneracyjnych – badania in silico*
- P-60. Kacper Siąkała, *PATmed: Platforma do Analizy Toksyczności bioaktywnych związków małocząsteczkowych – działanie oraz wyjaśnialność predykcji*
- P-61. Katarzyna Szczepańska, *Gdy całość jest większa niż suma jej części: rola jednoczesnej modulacji receptorów histaminowych H<sub>3</sub> oraz sigma-1 w leczeniu bólu*
- P-62. Sanata Tolak, *Nowe strategie w leczeniu stanów lękowych u ludzi w spektrum autyzmu*
- P-63. Marta Tomczyk, *CD73 – nowy element szlaku przemian witaminy B<sub>12</sub> o potencjale klinicznym*
- P-64. Elżbieta Wątor-Wilk, *Molekularne wytrychy i jak je znaleźć – krytalograficzny fragment screening na przykładzie ludzkiej syntazy deoksyhypoizyny*
- P-65. Krzysztof Więckowski *Spirocycliczne analogi NLX-219 jako nowi stronniczy agoniści receptora 5-HT<sub>1A</sub>*
- P-66. P. Wilk, *Targeting EF-P lysinylation by crystallographic fragment screening*
- P-67. Klaudia Wojtal, *Zaburzenia neuronalnych procesów migracyjnych w genetycznym podłożu zaburzeń ze spektrum autyzmu*
- P-68. Justyna Zadyłak, *Czy NanoRNazy Mycobacterium tuberculosis mogą pełnić rolę miejsc docelowych dla nowych leków przeciwgruźliczych?*
- P-69. Karolina Ziąbska-Paczeń, *Wpływ produktu uzyskanego na bazie MSC o nazwie ABX-0707 na przeżycie i proliferację pierwotnych neuronów korowych w szczurzym modelu asfiksji neonatalnej in vitro*

## Indeks wystąpień

- P-70. Magdalena Ziemiańska, *Schizophrenia-linked 3q29 deletion shapes behavioral and transcriptomic responses to risperidone in mice*
- P-71. Daniel Ziental, *Violaceina jako potencjalny sonouczulacz w terapii sonodynamicznej wobec czerniaka oraz wybranych patogenów chorobotwórczych*
- P-72. Mateusz Zięba, *Associations of glucocorticoid receptor-dependent gene signatures with neuropsychiatric and neurodegenerative phenotypes*

## Indeks autorów

- Adamczyk J. 44  
Andreu T. 25
- Barnowski K.** 45  
Bednarska-Szczepaniak K. 46  
Białoń M. 48  
Bijata M. 34  
Bugno R. 95  
Bysiek A. 49
- Chmielewska A.** 15  
Chrószcz M. 51  
Chubukova T. 52  
Ciecierski Ł. 124  
Cobos E.J. 134  
Cysewski D. 53  
Czachorowski J. 55  
Czarnota-Łydka K. 56
- Danek P.J.** 57  
Dominiak K. 59  
Dziembowski A. 42
- Esselink J.** 53
- Faron-Górecka A.** 60  
Frydrych J. 62
- Gajda Z.** 64  
Gajewska S. 65  
Gargaś J. 67  
Gogoła D. 68  
Golebiowska-Mendroch K. 70  
Gos M. 26  
Górecki D.G. 13  
Grabarczyk P. 71  
Gucwa N. 73
- Haduch A.** 76  
Hajto J. 77
- Handzlik J. 79  
Hawrylak M. 81  
Hogendor A. 82
- Jacyna-Gębala J.** 74  
Janowska S. 84  
Jemielity J. 11  
Jończyk J. 23
- Kamiński K.** 16  
Karcz T. 85  
Karska A. 87  
Kitel R. 18, 89  
Kolasa M. 91  
Kołacki O. 92  
Konowska P. 93  
Kordylewski S.K. 95  
Kossakowski K. 96  
Kośła M. 31  
Królewski M. 98  
Kuban W. 100  
Kucwaj-Brys K. 102  
Kurowska K. 103  
Kurpiewska K. 104  
Kuzioła M. 106
- Lavrynychuk Y.** 107  
Lebiedzińska-Arciszewska M. 35  
Loch J. 109
- Łukasiewicz K.** 28
- Maciuszek M.** 110  
Mahe G. 53  
Maślanka A. 112  
Maziarz K. 113  
Milewski Ł. 115  
Mocarski M. 116  
Mucha P. 118

## Indeks autorów

**N**azaruk K. 120

**O**łdak M. 121  
Ostrowski D. 40

**P**akulska J. 123  
Piątek-Bajan K. 124  
Piechota M. 20

**R**aczak-Gutknecht J. 125  
Radko M. 127  
Rataj K. 39  
Regulska M. 128  
Rorat W. 130  
Rosiak N. 131  
Rozwadowska N. 12

**S**iąkała K. 132  
Siedlecki P. 19  
Skalniak L. 18  
Szczepańska K. 134  
Szulc M. 59

**Ś**lęzak M. 32

**T**olak S. 135  
Tomczyk M. 137

**W**alczuk J. 29  
Wątor-Wilk E. 139  
Widerak K. 37  
Więckowski K. 140  
Wilk P. 142  
Wojciechowski J. 38  
Wojta K. 143  
Wojtaszewska M. 21

**Z**adylak J. 145  
Ziąbska-Pacześ K. 146  
Ziemiańska M. 148  
Ziental D. 149  
Zięba M. 151