

dr n. med. Monika Gudowska-Sawczuk

Autoreferat

Zakład Diagnostyki Biochemicznej

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku



Białystok 2023

1. **Imię i nazwisko**

Monika Gudowska-Sawczuk

2. **Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.**

2012 – uzyskanie z wynikiem **bardzo dobrym** tytułu **magistra analityki medycznej** (Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku) na podstawie pracy magisterskiej: „*Znaczenie diagnostyczne oznaczeń aktywności dehydrogenazy alkoholowej i jej izoenzymów oraz dehydrogenazy aldehydowej w surowicy pacjentów z rakiem trzustki*”

Promotor: dr hab. n. med. Wojciech Jelski

2012 – uzyskanie prawa wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego wydane przez Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych (nr PWZ: 12500)

2017 – uzyskanie stopnia naukowego **doktora nauk medycznych** w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna (Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku) na podstawie **wyróżnionej** rozprawy doktorskiej: „*Nieinwazyjna ocena zwłóknienia w marskości wątroby*”

Promotor: prof. dr hab. Lech Chrostek

2018 - uzyskanie tytułu **specjalisty z laboratoryjnej diagnostyki medycznej** na podstawie złożenia Państwowego Egzaminu Specjalizacyjnego Diagnostów Laboratoryjnych

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku (UMB)

2021 - obecnie – *adiunkt naukowo-dydaktyczny* w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB

2019 - 2020 – *asystent naukowo-dydaktyczny* w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB

2013 - 2017 – *doktorant* w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej UMB

Uniwersytecki Szpital Kliniczny (USK) w Białymstoku

2018 - obecnie – *starszy asystent* w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej USK w Białymstoku
(od roku 2019 pełni również funkcję *koordynatora ds. POCT*)

2016 - 2018 – *młodszy asystent* w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej USK w Białymstoku

2013 - 2016 – praca w ramach *wolontariatu* jako diagnosta laboratoryjny w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej USK w Białymstoku

Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach poza naukowych

2012 - 2013 – *asystent* w Diagnostyka s.c. NZOZ Medyczne laboratorium diagnostyczne

4. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).**

Osiągnięcie naukowe pod tytułem „**Przydatność diagnostyczna oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich kappa (κ) i lambda (λ) w wybranych jednostkach chorobowych**” zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, stanowi cykl **pięciu** powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

*We wszystkich pięciu pracach jestem **pierwszym** autorem oraz autorem **korespondencyjnym** (*).*

4.1. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

1. Gudowska-Sawczuk, M.*; Mroczko, B.

Free light chains as a novel diagnostic biomarker of immune system abnormalities in multiple sclerosis and HIV Infection.

Biomed Research International 2019;2019:8382132.

Impact Factor: 2,276; Punktacja MEiN: 70.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji pracy, zebraniu i analizie dostępnej literatury, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin, komunikacji z recenzentami oraz korekcie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

2. Gudowska-Sawczuk, M.*; Tarasiuk, J.; Kułakowska, A.; Kochanowicz, J.; Mroczko, B.

Kappa free light chains and IgG combined in a novel algorithm for the detection of multiple sclerosis.

Brain Sciences 2020: 10, 6, 12 pp., Article ID 324.

Impact Factor: 3,394; Punktacja MEiN: 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i harmonogramu badań, zebraniu materiału do badań, wykonaniu oznaczeń, analizie i opracowaniu statystycznym wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, opracowaniu i dyskusji nad wynikami, opracowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin, korekcie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 75%.

3. Gudowska-Sawczuk, M.*; Czupryna, P.; Moniuszko-Malinowska, A.; Pancewicz, S.; Mroczo, B.

Free immunoglobulin light chains in patients with tick-borne encephalitis: before and after treatment.
Journal of Clinical Medicine 2021: 10, 13, 9 pp, Article ID 2922.

Impact Factor: 4,964; Punktacja MEiN: 140.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i harmonogramu badań, wykonaniu oznaczeń, analizie i opracowaniu statystycznym wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, opracowaniu i dyskusji nad wynikami, opracowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin, korekcie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 70%.

4. Gudowska-Sawczuk, M.*; Moniuszko-Malinowska, A.; Pączek, S.; Guziejko, K.; Chorąży, M.; Mroczo, B.

Evaluation of free light chains (FLCs) synthesis in response to exposure to SARS-CoV-2. International Journal of Molecular Sciences 2022: 23, 19, 8 pp, Article ID 11589.

Impact Factor: 6,208; Punktacja MEiN: 140.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i harmonogramu badań, zebraniu materiału do badań, pozyskaniu funduszy i zarządzaniu projektem, wykonaniu oznaczeń, analizie i opracowaniu statystycznym wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, opracowaniu i dyskusji nad wynikami, opracowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin, korekcie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 75%.

5. Gudowska-Sawczuk, M.*; Kudelski, J.; Olkiewicz, M.; Młynarczyk, G.; Chłosta, P.; Mroczo, B.

The clinical significance of serum free light chains in bladder cancer.
Journal of Clinical Medicine 2023, 12(9), 3294.

Impact Factor: 4,964; Punktacja MEiN: 140.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji i harmonogramu badań, zebraniu materiału do badań, pozyskaniu funduszy i zarządzaniu projektem, wykonaniu oznaczeń, analizie i opracowaniu statystycznym wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, opracowaniu i dyskusji nad wynikami, opracowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin, korekcie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

4.2. Analiza bibliometryczna osiągnięcia habilitacyjnego:

Łączny Impact Factor wyżej wymienionych publikacji: **21,806**.

Łączna liczba punktów MEiN: **590** na podstawie Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. o zmianie i sprostowaniu komunikatu w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

Wszystkie prace stanowiące osiągnięcie naukowe są przypisane do dziedziny **nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscypliny nauki medyczne**.

PDF publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oraz oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie znajdują się w Załącznikach 5 a-e oraz 6 a-e.

4.3. Wprowadzenie i omówienie celu naukowego osiągnięcia habilitacyjnego

Jednymi z najważniejszych białek odpowiedzi immunologicznej, wytwarzanymi przez komórki plazmatyczne są immunoglobuliny. Zadaniem przeciwciał jest ochrona organizmu przed negatywnym działaniem różnych szkodliwych czynników, m.in. mikroorganizmów czy toksyn. Immunoglobuliny obecne są w płynach ustrojowych wszystkich kręgowców, a wytwarzane są na skutek kontaktu z antygenami lub w niektórych przypadkach nawet przeciw własnym prawidłowym tkankom organizmu (autoantygeny).

Każda immunoglobulina ma kształt litery Y i jest zbudowana według podobnego wzorca, tj. z czterech łańcuchów polipeptydowych: dwóch o masie ok. 20 kDa tzw. lekkich i dwóch ciężkich o masie ok. 50 kDa. Jeden łańcuch lekki połączony z częścią łańcucha ciężkiego tworzy paratop czyli fragment Fab (*fragment antygen-binding*). Fab stanowi miejsce wiązania antygeny obejmujące skrajne obszary ramion „Y”. Z kolei, region immunoglobuliny, który składa się z dwóch części łańcuchów ciężkich, nazywany jest fragmentem Fc (krystalizującym). Region Fc jest elementem łączącym immunoglobulinę z receptorami prezentowanymi na powierzchni komórek układu odpornościowego oraz odpowiada za aktywację odpowiedzi immunologicznej, np. aktywację układu dopełniacza.

Na podstawie różnic w budowie łańcuchów ciężkich wyróżniono pięć klas immunoglobulin: IgA (α), IgM (μ), IgG (γ), IgD (δ), oraz IgE (ϵ). Rolą wszystkich przeciwciał w organizmie jest udział w reakcjach immunologicznych. Pierwotna odpowiedź immunologiczna rozwija się w momencie pierwszego kontaktu z antygenem i wtedy organizm wytwarza przede wszystkim przeciwciała IgM, które są stopniowo zastępowane bardziej specyficznymi i trwalszymi przeciwciałami IgG. Co ciekawe, podczas syntezy wszystkich klas immunoglobulin prawidłowe komórki plazmatyczne wytwarzają także niewielki w stosunku do łańcuchów ciężkich nadmiar łańcuchów lekkich kappa (κ) i lambda (λ). Te niewielkie ilości są uwalniane do surowicy w postaci wolnych łańcuchów lekkich (*free light chains*,

FLCs) kappa lub lambda (odpowiednio 3,3–19,4 i 5,7–26,6 mg/l). Produkcja łańcuchów lekkich κ jest blisko dwukrotnie większa niż lekkich łańcuchów λ . Ponieważ jednak łańcuchy κ przyjmują formę monomerów, ich klirens nerkowy jest szybszy w porównaniu z łańcuchami λ , które są zaliczane do dimerów. W wyniku filtracji w kłębuszkach nerkowych FLCs dostają się do kanalików proksymalnych, gdzie są ponownie wchłaniane i metabolizowane. W warunkach fizjologicznych stosunek wolnych łańcuchów lekkich κ i λ w surowicy wynosi 0,26-1,65.

Zaobserwowano, że FLCs są ważnymi czynnikami, które mogą indukować stan zapalny np. poprzez aktywację mastocytów lub hamowanie apoptozy neutrofilii. Tak więc, zmiany stężenia FLCs w płynach ustrojowych człowieka, m.in. we krwi, w moczu czy płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) mogą być oznaką toczących się procesów patologicznych, a ich ilościowe oznaczenie może być ważnym elementem w diagnostyce lub rokowaniu wielu chorób. Dlatego też, badania naukowe składające się na niniejsze osiągnięcie naukowe dotyczyły oceny stężeń wolnych łańcuchów lekkich jako potencjalnych biomarkerów przydatnych w diagnostyce wybranych jednostek chorobowych.

4.4. Omówienie poszczególnych prac wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego rozprawy habilitacyjnej.

Biorąc powyższe pod uwagę pierwszym z etapów niniejszego projektu badawczego była analiza dostępnej literatury i napisanie pracy poglądowej „*Free light chains as a novel diagnostic biomarker of immune system abnormalities in multiple sclerosis and HIV Infection*” (Gudowska-Sawczuk, M.*; Mroczo, B. *Biomed Research International* 2019;2019:8382132) dotyczącej przydatności oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich w wybranych schorzeniach związanych z nieprawidłowym funkcjonowaniem układu odpornościowego. Pomiar wolnych łańcuchów lekkich są aktualnie wykorzystywane w rutynowej diagnostyce m.in. szpiczaka mnogiego, a użyteczność FLCs jako biomarkerów gammapatii monoklonalnych jest już bardzo dobrze znana. Dlatego w ww. pracy poglądowej skupiłam się na badaniach dotyczących FLCs jako nowych potencjalnych biomarkerów innych zaburzeń o podłożu zapalnym: zakażeniu wirusem HIV i stwardnieniu rozsianym.

Aby ocenić znaczenie kliniczne FLCs w tych jednostkach chorobowych przeprowadziłam szczegółowy przegląd bibliometryczny badań indeksowanych w MEDLINE. Liczne badania wykazały, iż dysfunkcja układu odpornościowego spowodowana zakażeniem HIV jest związana z podwyższonym stężeniem wolnych łańcuchów lekkich w surowicy, które obniża się po zastosowaniu leczenia antyretrowirusowego. Ponadto stwierdzono, iż FLCs są potencjalnie silnym i czułym predyktorem ryzyka rozwoju chłoniaków związanych z HIV. Udowodniono także, że oznaczenie FLCs może szybko dostarczyć informacji o zapaleniu i wewnątrzoponowej syntezie przeciwciał pojawiających się w przebiegu stwardnienia rozsianego. I, jakkolwiek, szczegółowa analiza piśmiennictwa utwierdziła mnie w przekonaniu, że użyteczność oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich w zakażeniu HIV nie budzi

wątpliwości, to z całą pewnością należałoby skupić się na FLCs jako potencjalnie doskonałym uzupełnieniu diagnostyki laboratoryjnej stwardnienia rozsianego.

W związku z powyższym pierwsze badania poświęciłam roli oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich κ i λ u pacjentów cierpiących na stwardnienie rozsiane (*multiple sclerosis*, SM), których wyniki zostały opisane w pracy pt. **"Kappa free light chains and IgG combined in a novel algorithm for the detection of multiple sclerosis"** (Gudowska-Sawczuk M, Tarasiuk J, Kułakowska A, Kochanowicz J, Mroczko B. *Brain Sciences* 2020; 10, 6, 12 pp., Article ID 324. (MEiN: 100; IF: 3,394).

Stwardnienie rozsiane jest częstym schorzeniem neurodegeneracyjnym ośrodkowego układu nerwowego (OUN) mającym ewidentnie podłoże zapalne. Etiologia stwardnienia rozsianego wciąż nie została dokładnie poznana, jednak przyjmuje się, iż jest to schorzenie autoimmunologiczne powodujące uszkodzenie i rozpad osłonek mielinowych włókien nerwowych, które dotyka głównie młodych dorosłych. Terapia modyfikująca przebieg SM jest najskuteczniejsza we wczesnym stadium choroby, stąd też znalezienie markera biochemicznego, który usprawni wczesną i celowaną diagnostykę jest bardzo istotne nie tylko z naukowego, ale przede wszystkim z praktycznego punktu widzenia. Idealny biomarker powinien być szybki i prosty do oznaczenia oraz powinien umożliwiać wczesne wykrycie choroby. Aktualnie nie ma jednego specyficznego testu do diagnozy stwardnienia rozsianego, ale przełomem w diagnostyce okazały się opublikowane w 2001 roku kryteria McDonalda, które zmodyfikowane w 2010 oraz 2017 roku są stosowane do dziś. Według kryteriów diagnostycznych McDonalda z 2017 r. rozpoznanie SM opiera się na potwierdzeniu występowania objawów klinicznych, badaniach obrazowych (rezonans magnetyczny) oraz ocenie płynu mózgowo-rdzeniowego, którego analiza jest bardzo często utrudniona.

Stwardnienie rozsiane jest autoimmunologiczną chorobą ośrodkowego układu nerwowego. Główną cechą tej choroby są nieprawidłowości w funkcjonowaniu komórkowego i humoralnego układu odpornościowego. U ponad 90% pacjentów cierpiących na SM obserwuje się podwyższony poziom immunoglobulin syntetyzowanych w przestrzeni wewnątrzoponowej, a w płynie mózgowo-rdzeniowym wykrywa się prążki oligoklonalne (*oligoclonal bands*, OCBs) IgG. Istnieje jednak odsetek pacjentów, głównie pacjentów z pierwszym epizodem stwardnienia rozsianego, u których analiza prążków oligoklonalnych daje fałszywie ujemne wyniki. Z drugiej strony zwiększona wewnątrzoponowa synteza immunoglobulin może wystąpić także w innych schorzeniach zapalnych OUN, dlatego też test ten nie jest niestety swoisty wyłącznie dla SM.

Udowodniono, że nieprawidłowości w funkcjonowaniu limfocytów B obserwowane w przebiegu SM, są związane z zaburzeniami prowadzącymi także do nieprawidłowego stężenia wolnych łańcuchów lekkich. Dlatego w niniejszym tym badaniu oceniłam stężenie wolnych łańcuchów lekkich oraz opisałam opracowane w badaniach własnych algorytmy κ IgG i λ IgG obejmujące oznaczenia wolnych łańcuchów lekkich i IgG w surowicy oraz PMR. W badaniu podjęłam również

próbę oceny przydatności diagnostycznej nowych wskaźników oraz porównania ich ze znanymi już indeksami κFLC i λFLC.

Materiał do badań stanowiły sparowane próbki surowicy oraz PMR pobierane w latach 2018-2020. Grupa badana składała się z pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi, których podzielono na 2 podgrupy: pacjentów z rzutowo-remisyjną postacią SM oraz grupę kontrolną. Grupę kontrolną stanowili pacjenci, u których wykluczono SM, ale cierpiący na inne schorzenia neurologiczne, które mogą dawać podobne objawy m.in.: wielogniskowe zmiany naczyniowe OUN, padaczka, dyskopatia czy idiopatyczne bóle głowy. Kwalifikacja pacjentów do grupy badanej oraz do grupy kontrolnej odbywała się w Klinice Neurologii Uniwersytetu Medycznego oraz Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku.

Zgodnie z Kryteriami McDonalda u wszystkich pacjentów wykonano analizę prążków oligoklonalnych z zastosowaniem ogniskowania izoelektrycznego na żelu agarozowym. Próbki PMR oraz surowicy były analizowane równolegle w celu porównania rozkładu IgG. Stężenia κFLC, λFLC, albuminy, IgG, IgM i IgA w PMR i surowicy mierzono metodą turbidymetryczną. Co prawda, stężenia wolnych łańcuchów lekkich i IgG były już wykorzystywane do diagnozy stwardnienia rozsianego, ale nigdy nie były połączone w jeden algorytm. **Opracowane przeze mnie po raz pierwszy algorytmy**

κIgG i λIgG wyliczone zostały odpowiednio ze wzorów:
$$\frac{\text{PMR } \kappa\text{FLC } \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right] / \text{surowica } \kappa\text{FLC} \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right]}{\text{PMR IgG } \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right] / \text{surowica IgG} \left[\frac{\text{g}}{\text{L}}\right]} \times 100 \text{ oraz}$$
$$\frac{\text{PMR } \lambda\text{FLC } \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right] / \text{surowica } \lambda\text{FLC} \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right]}{\text{PMR IgG } \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right] / \text{surowica IgG} \left[\frac{\text{g}}{\text{L}}\right]} \times 100$$
 i stanowią nowatorski wkład w diagnostykę SM przy czym κIgG-

indeks oraz λIgG-indeks porównane zostały z już znanymi κFLC-indeks oraz λFLC-indeks.

W przeprowadzonych badaniach wykazałam, że stężenia κFLC i λFLC w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz stężenie κFLC w surowicy były istotnie wyższe u pacjentów z SM w porównaniu z grupą kontrolną. Zmiany stężeń FLCs mogą wynikać ze zwiększonej syntezy immunoglobulin oraz z tego, że łańcuchy lekkie są syntetyzowane ponad dwukrotnie szybciej niż w pełni uformowane immunoglobuliny. Ponadto, stężenia κFLC w płynie mózgowo-rdzeniowym różniły się w zależności od uzyskanego typu prążków oligoklonalnych. Analiza wykazała, że stężenia κFLC w płynie mózgowo-rdzeniowym były istotnie niższe u pacjentów z typem 1 i 4 w porównaniu z tymi z wzorcem typu 2 i typu 3, które są charakterystyczne dla stwardnienia rozsianego. I, co ważne, stężenie κFLC w PMR nie różniło się znacząco pomiędzy typem 2 i 3. Stężenia κFLC i λFLC w surowicy oraz λFLC w płynie mózgowo-rdzeniowym były podobne u wszystkich pacjentów, niezależnie od typu prążków oligoklonalnych. Dlatego też **podwyższone stężenie κFLC w PMR może odzwierciedlać wewnątrzoponową syntezę immunoglobulin u pacjentów z SM. Można więc wnioskować, że stężenia κFLC w płynie mózgowo-rdzeniowym są bardzo czułe i swoiste dla diagnozy stwardnienia rozsianego.**

W kolejnym etapie wyliczyłam znane już wskaźniki κ FLC i λ FLC oraz po raz pierwszy opisane w niniejszej pracy algorytmy κ IgG i λ IgG. Wartości wskaźników κ FLC, λ FLC i κ IgG były istotnie wyższe u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym w porównaniu z pacjentami cierpiącymi na inne schorzenia neurologiczne. Warto również podkreślić, że mediana wartości indeksu κ IgG była prawie 10 razy wyższa w grupie pacjentów z SM niż w grupie kontrolnej. Ponadto, wartości trzech ww. indeksów różniły się w zależności od typu prążków oligoklonalnych. Analiza wykazała, że wartości wskaźników zawierających w swojej formule stężenia wolnych łańcuchów lekkich kappa, tj. κ FLC i κ IgG były istotnie wyższe u pacjentów z wzorcem typu 2 w porównaniu z typem 1 i 4. Co ciekawe, stwierdzono również różnice w wartościach indeksu κ FLC i κ IgG pomiędzy typem 3 i 4, a wskaźnik κ IgG był także podwyższony u pacjentów z typem wzorca 3 w porównaniu z typem 1. Wartości indeksu λ FLC były znamienne wyższe u pacjentów z typem 2 niż w typie 4. Co więcej, przeprowadzone badania wykazały, że stężenia wolnych łańcuchów kappa i lambda w PMR oraz wartości wszystkich czterech wskaźników (κ FLC-indeks, λ FLC-indeks, indeks κ IgG i indeks λ IgG) korelowały ze sobą. Stężenia κ FLC w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz wartości indeksu λ IgG były także istotnie związane z wartością współczynnika QIgG (stężenie IgG w PMR/stężenie IgG w surowicy). Stężenia κ FLC i λ FLC w PMR i κ FLC-indeks korelowały także z wartościami współczynnika QIgM, a QIgA był związany z wartościami wskaźnika κ IgG i indeksu λ IgG. Ponadto zaobserwowałam ujemną korelację pomiędzy wartościami czterech analizowanych algorytmów a QAlb i wiekiem pacjentów.

Ostatnim etapem była ocena mocy diagnostycznej wyliczonych wskaźników w stwardnieniu rozsianym na podstawie krzywej ROC (*Receiver Operating Characteristic*). Wykreślenie krzywej ROC pozwoliło na wyznaczenie optymalnego punktu odcięcia dzielącego zbiór wyników na dwie grupy: SM oraz inne schorzenia neurologiczne. Natomiast określenie pola pod krzywą ROC, tj. AUC (*Area Under Curve*) umożliwiło ocenę zdolności testu do odgraniczania wyników prawidłowych i nieprawidłowych. Przeprowadzona analiza wykazała, że **indeks κ IgG oraz κ FLC-indeks wykazały bardzo wysoką zdolność detekcji SM** (czułość diagnostyczna > 90,00% dla obu) w porównaniu do wskaźników obejmujących oznaczenia wolnych łańcuchów lambda: λ FLC-indeks (czułość=71,90%) i indeks λ IgG (czułość=65,60%). Warto również podkreślić, że to **indeks κ IgG wykazał najwyższą zdolność do wykluczenia stwardnienia rozsianego**, z 80,50% swoistością diagnostyczną i 91,70% ujemną wartością predykcyjną (NPV). Co więcej, to właśnie **wskaźnik κ IgG wykazał najwyższą moc diagnostyczną** w wykrywaniu stwardnienia rozsianego (cut-off point: 1,93, AUC=0,871).

Podsumowując, wykazałam, że **nowy indeks κ IgG** składający się z czterech połączonych razem zmiennych (stężenia κ FLC w surowicy, κ FLC w PMR, IgG w surowicy i IgG w PMR) **może odzwierciedlać wewnątrzoponową syntezę immunoglobulin i mógłby służyć jako dodatkowy marker diagnostyczny stwardnienia rozsianego charakteryzując się bardzo wysoką dokładnością diagnostyczną**. Główną zaletą badania było wykorzystanie łatwo dostępnych rutynowych laboratoryjnych testów diagnostycznych. Ponadto zbadałam grupę dobrze scharakteryzowanych

pacjentów, w tym 45% pacjentów ze stwardnieniem rozsianym i 55% stanowiących grupę kontrolną. Grupa kontrolna w tym badaniu była niejednorodna, jednak celem było określenie wartości diagnostycznej wskaźnika κIgG w różnicowaniu stwardnienia rozsianego z innymi zaburzeniami o podłożu neurologicznym mogącymi mieć podobny obraz kliniczny. Postępowanie z pacjentami cierpiącymi na SM wymaga specjalnego, a zarazem szybkiego podejścia, stąd też bardzo ważne jest odróżnienie stwardnienia rozsianego od innych chorób neurologicznych. Niniejsze badanie dostarcza nowych informacji na temat znaczenia diagnostycznego czterech markerów połączonych w indeks κIgG w kontekście praktycznym. **Moje badania wskazują zatem, że oznaczanie wolnych łańcuchów lekkich kappa oraz obliczanie algorytmu κIgG mogą stanowić uzupełnienie oznaczania prążków oligoklonalnych jako składowej aktualnie obowiązujących kryteriów McDonald.**

Dowodem na zasadność przeprowadzonych przeze mnie w 2020 roku badań jest najnowszy konsensus opublikowany w lutym bieżącego roku dotyczący zaleceń diagnostyki SM. Panel ekspertów w zakresie leczenia i diagnostyki stwardnienia rozsianego po analizie przeprowadzonych w tym obszarze badań, zalecił włączenie pomiarów wolnych łańcuchów lekkich do kryteriów diagnostycznych stwardnienia rozsianego. Eksperti potwierdzili, iż oznaczanie wolnych łańcuchów κ jest obiecującym narzędziem, które ilościowo odzwierciedla dokanałowe wytwarzanie immunoglobulin. Oznaczanie wolnych łańcuchów lekkich kappa w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz analiza prążków oligoklonalnych powinny być badaniami uzupełniającymi się, gdy stężenie κ FLCs jest graniczne lub gdy jednoznaczna interpretacja wyniku OCB jest niemożliwa.

Moje kolejne badania dotyczyły oceny znaczenia klinicznego oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich κ i λ w kleszczowym zapaleniu mózgu (KZM). KZM to coraz powszechniejszy problem zdrowotny, dotyczący szczególnie zalesionych regionów Europy i Azji. W Polsce kleszczowe zapalenie mózgu jest jedną z najczęstszych postaci wirusowych neuroinfekcji, która może powodować zarówno łagodne jak i ciężkie powikłania, takie jak uszkodzenie bariery krew-mózg (*blood-brain barrier*, BBB) czy zapalenie mózgu lub korzeni nerwowych. KZM wywołane jest wirusem kleszczowego zapalenia mózgu (*tick-borne encephalitis virus*, TBEV), który jest jedynym przedstawicielem rodzaju Flawiivirus z rodziny Flaviviridae. Średnio objawy kleszczowego zapalenia mózgu pojawiają się około 7–14 dni po ukąszeniu przez kleszcza i replikacji wirusa. Rozpoznanie KZM opiera się na identyfikacji i oznaczeniu przeciwciał swoistych dla TBEV zarówno w surowicy jak i płynie mózgowo-rdzeniowym i porównaniu stężeń z diagnostyczną wartością progową. Wytwarzanie i obecność swoistych przeciwciał w klasie IgM utrzymująca się zwykle do 6 miesięcy są charakterystyczne dla ostrej fazy choroby. Z kolei, swoiste przeciwciała IgG syntetyzowane są później niż IgM, ale też utrzymują się latami i świadczą o uzyskanej oporności na TBEV. Jednak co ważne, swoiste przeciwciała w PMR pojawiają się dopiero kilka dni od wystąpienia objawów. Biorąc powyższe pod uwagę, wydaje się, że podwyższone stężenia wolnych łańcuchów lekkich mogą wskazywać na reakcję układu immunologicznego na kontakt z patogenem i syntezę immunoglobulin specyficznych dla wirusa kleszczowego zapalenia mózgu. Według dostępnej

literatury przeprowadzone przeze mnie badanie było jedynym oceniającym znaczenie kliniczne FLCs w kleszczowym zapaleniu mózgu. W pracy pt. "*Free immunoglobulin light chains in patients with tick-borne encephalitis: before and after treatment*" (Gudowska-Sawczuk M, Czupryna P, Moniuszko-Malinowska A, Pancewicz S, Mroczko B. *Journal of Clinical Medicine* 2021; 10, 13, 9 pp, Article ID 2922 (MEiN: 140; IF: 4,964) zbadalam dynamikę zmian stężeń wolnych łańcuchów lekkich kappa i lambda w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów cierpiących na KZM.

Grupę badaną stanowili pacjenci przyjmowani do Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytetu Medycznego oraz Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Materiał do badań stanowiły sparowane próbki surowicy i PMR, które były pobierane dwukrotnie: 1. – przed zastosowaniem leczenia objawowego/początek fazy neurologicznej KZM oraz próbka 2. – po leczeniu/przy wypisie. Rozpoznanie postawiono na podstawie danych klinicznych i obecności parametrów stanu zapalnego w PMR. W celu potwierdzenia KZM oceniono obecność przeciwciał specyficznych dla TBEV. Stężenie wolnych łańcuchów lekkich, albuminy i IgG zmierzyłam na analizatorze Optilite (The Binding Site) metodą turbidymetryczną.

Badania wykazały, że stężenie λ FLC oraz IgG w surowicy były wyraźnie podwyższone przed leczeniem. **W związku z tym wydaje się, że podwyższone stężenia λ FLC są prawdopodobnie spowodowane zwiększoną produkcją immunoglobulin podczas ostrej reakcji zapalnej u pacjentów z KZM.** Z drugiej strony, stężenie λ FLC w płynie mózgowo-rdzeniowym było istotnie wyższe po leczeniu i było prawie dwukrotnie wyższe niż poziom λ FLC w surowicy. Jak wiadomo, krew jest głównym źródłem białek obecnych w płynie mózgowo-rdzeniowym, a ich poziom jest regulowany między innymi przez przepuszczalność bariery krew-mózg oraz szybkość przepływu płynu mózgowo-rdzeniowego. Ponadto FLCs występują w postaci monomerów lub dimerów, ale λ FLC są najczęściej dimerami, które w prawidłowych warunkach nie powinny przekraczać bariery krew-mózg. Badanie wykazało także, że stężenia TBEV IgG w surowicy, TBEV IgG i IgM w PMR były wyższe po leczeniu. **Dlatego też wydaje się, że podwyższony poziom FLCs w PMR może wskazywać na zwiększoną przepuszczalność BBB i/lub wewnątrzoponową syntezę immunoglobulin swoistych dla TBEV.**

W dalszym etapie wyliczyłam wartości indeksów: κ FLC-index, λ FLC-index, κ IgG-index i λ IgG-index i okazało się, że wartości trzech z nich, tj. κ FLC-index, λ FLC-index i λ IgG-index były istotnie wyższe przy wypisie pacjenta. Wzrost wartości κ FLC-index, λ FLC-index oraz indeksu κ IgG zaobserwowano już w innych schorzeniach neurologicznych, w tym stwardnieniu rozsianym. Stąd też prawdopodobnie tylko wskaźnik λ IgG mógłby być użyteczny w różnicowaniu KZM z innymi stanami zapalnymi obejmującymi ośrodkowy układ nerwowy. W zależności od przebiegu choroby pacjenci zostali także podzieleni na dwie podgrupy: pacjenci z zapaleniem opon mózgowych i zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, ale przeprowadzona przeze mnie analiza wykazała, że stężenia FLCs w surowicy i PMR,

a także wartości czterech indeksów były w obu grupach pacjentów podobne. Kolejnym etapem badania było sprawdzenie występowania korelacji pomiędzy badanymi parametrami. W swoim badaniu zaobserwowałam, że κ FLC i λ FLC w PMR oraz κ FLC-index, λ FLC-index, κ IgG-index i λ IgG-index korelowały ze sobą. Ponadto, wszystkie ww. parametry korelowały z mianem przeciwciał przeciwko TBEV w PMR zarówno w klasie IgM jak i IgG. Co ciekawe, wystąpiła również dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem κ FLC w surowicy a λ FLC w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym.

Wyniki mojego badania potwierdzają, że istnieją różnice w stężeniach wolnych łańcuchów lekkich λ surowicy i w płynie mózgowo-rdzeniowym pomiędzy początkowym etapem choroby i po leczeniu. **Spadek stężenia λ FLC w surowicy i wzrost poziomu λ FLC w płynie mózgowo-rdzeniowym po leczeniu może odzwierciedlać nie tylko wewnątrzoponową syntezę immunoglobulin, ale również uszkodzenie bariery krew-mózg.**

Ze względu na sytuację epidemiczną na świecie swoje dalsze badania poświęciłam grupie pacjentów z infekcją spowodowaną wirusem Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 to otoczkowy, jednoniciowy wirus RNA, który należy do grupy koronawirusów. Przenoszenie między ludźmi odbywa się głównie drogą kropelkową i w konsekwencji prowadzi do rozwinienia się choroby COVID-19. Obraz kliniczny COVID-19 może być niezwykle różnorodny, a zakres objawów jest szeroki: od bezobjawowej infekcji po zespół niewydolności oddechowej, a nawet niewydolność wielonarządową. Objawy jednak zależą od odpowiedzi układu immunologicznego. Dlatego doskonały wskaźnik diagnostyczny i prognostyczny COVID-19 powinien być bezpośrednio związany z odpowiedzią immunologiczną przeciwko SARS-CoV-2. Po kontakcie z SARS-CoV-2 układ odpornościowy człowieka wytwarza specyficzne przeciwciała anti-SARS-CoV-2, które rozpoznają wirusa i pomagają zwalczyć infekcję. We wczesnym stadium infekcji dochodzi do produkcji przeciwciał IgM, następnie wytwarzane są przeciwciała IgG. IgG zazwyczaj można wykryć nie wcześniej niż po 7–10 dniach od pojawienia się pierwszych objawów, ale we krwi utrzymują się one przez długi czas. Ponadto IgG ma cztery podklasy: IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4, z których sugerowano, że podwyższony poziom IgG4 wiąże się z gorszym przebiegiem COVID-19. Co ważne, synteza przeciwciał anti-SARS-CoV-2 następuje również po szczepieniu mającym imitować naturalną infekcję. Należy jednak zaznaczyć, że przeciwciała szczepionkowe celują wyłącznie w białko kolca (S) wirusa. Z kolei, w wyniku choroby mogą pojawić się przeciwciała przeciwko białku S i/lub przeciw białku nukleokapsydu (N). Biorąc powyższe pod uwagę, w publikacji pt. *"Evaluation of free light chains (FLCs) synthesis in response to exposure to SARS-CoV-2"* (Gudowska-Sawczuk M, Moniuszko-Malinowska A, Pączek S, Guziejko K, Chorąży M, Mroczo B. *International Journal of Molecular Sciences* 2022; 23, 19, 8 pp, Article ID 11589. (MEiN: 140; IF: 6,208) postawiłam hipotezę, że poziom wolnych łańcuchów lekkich może być związany z całkowitym stężeniem IgG, w tym podklasy 4 i swoistych przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2.

Grupę badaną stanowili pacjenci z COVID-19 przyjęci do Szpitala Tymczasowego Uniwersytetu Medycznego i Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Próbkę surowicy pobrano od wszystkich pacjentów z potwierdzoną infekcją SARS-CoV-2. Rozpoznanie COVID-19 postawiono w dniu przyjęcia do szpitala na podstawie pozytywnego wyniku testu reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w kierunku SARS-CoV-2 lub pozytywnego wyniku szybkiego testu do jakościowego wykrywania antygeny SARS-CoV-2 z jamy nosowo-gardłowej. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy, których podzielono na dwie podgrupy: grupę zdrowych osób w pełni zaszczepionych przeciwko COVID-19 (dwie dawki Pfizer-BioNTech, Spikevax (Moderna) lub AstraZeneca, lub jedna dawka Janssen Johnson & Johnson's) oraz grupę zdrowych osób nieszczepionych. U osób z grupy kontrolnej nigdy nie zdiagnozowano COVID-19. Stężenie FLCs, IgG oraz IgG4 w surowicy zmierzyłam metodą turbidymetryczną. Poziom przeciwciał IgG przeciwko białku nukleokapsydu (anty-N IgG) i domenie wiążącej receptor (RBD) podjednostki S1 białka kolca (anty-S-RBD IgG) SARS-CoV-2 oceniłam stosując metodę chemiluminescencji (CMIA).

Analiza uzyskanych wyników wykazała, że miano przeciwciał anty-S-RBD IgG, przeciwciał anty-N IgG oraz całkowite stężenia IgG, IgG4 i IL-6 różniły się pomiędzy badanymi grupami przy czym anty-N IgG, IgG, IgG4 i IL-6 były istotnie wyższe u pacjentów z COVID-19 niż u osób zdrowych zarówno szczepionych jak i nieszczepionych. Z kolei, stężenia przeciwciał anty-S-RBD IgG oraz κ FLCs w surowicy były znacząco wyższe w grupie pacjentów z COVID-19 i grupie kontrolnej zaszczepionej w porównaniu z osobami zdrowymi niezaszczepionymi. W przypadku wolnych łańcuchów lekkich λ , średnie stężenie różniło się istotnie tylko pomiędzy grupą COVID-19 a osobami nieszczepionymi. **Dlatego też zwiększone stężenie FLCs może świadczyć o ostrym stanie zapalnym i podwyższonej syntezie przeciwciał anty-SARS-CoV-2, zarówno po kontakcie z koronawirusem jak i po szczepieniu.** Zaobserwowałam także, że wartości współczynnika $\kappa:\lambda$ były wyższe u pacjentów zaszczepionych w porównaniu z grupą nieszczepioną i chorymi na COVID-19. Pomimo tego, że u zdrowych osób zaszczepionych stosunek $\kappa:\lambda$ nadal mieścił się w zakresie referencyjnym, to wartość tego stosunku wskazuje jednak na zwiększoną produkcję κ FLCs. Można to wytłumaczyć faktem, że **hiperaktywacja układu odpornościowego po szczepieniu prowadzi do natychmiastowej zwiększonej syntezy łańcuchów lekkich, zwłaszcza κ oraz tym, że rearanżacja genu łańcuchów lekkich κ poprzedza rearanżację łańcuchów lekkich λ .**

Na podstawie testu korelacji rang Spearmana wykazałam również, że w całej badanej grupie κ FLC korelowało ze wszystkimi badanymi parametrami z wyjątkiem CRP. Stężenie λ FLC korelowało ze wszystkimi badanymi parametrami z wyjątkiem IgG4. Anty-S-RBD IgG i IgG korelowały ze sobą, κ FLC, λ FLC i IgG4. Ponadto, anty-S-RBD IgG korelowało z IL-6. Zaobserwowałam również korelację między anty-N IgG a anty-S-RBD IgG, κ FLC, λ FLC, IgG, CRP i IL-6. Z kolei, IgG4 korelowało z anty-S-RBD IgG, κ FLC i IgG. Należy także podkreślić, że najwyższy współczynnik korelacji wystąpił między κ FLC i λ FLC. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż poziom IL-6 nie korelował z całkowitym

IgG, a wyłącznie ze swoistymi przeciwciałami anty-N i anty-S-RBD oraz FLCs. Podsumowując, **pozytywna korelacja FLCs z IgG, swoistymi przeciwciałami anty-SARS-CoV-2 i IL-6 może bezpośrednio odzwierciedlać ostrą odpowiedź immunologiczną przeciwko koronawirusowi.** Badanie to istotnie poszerzyło wiedzę na temat związku COVID-19 z syntezą wolnych łańcuchów lekkich oraz potwierdziło, że stężenie FLCs kappa i lambda jest podwyższone u pacjentów z łagodnym przebiegiem COVID-19 oraz u zdrowych pacjentów zaszczepionych przeciwko SARS-CoV-2. **Uzyskane wyniki sugerują zatem, że FLCs mogą być również niezależnymi i bardzo czułymi biomarkerami zakażenia SARS-CoV-2.**

Również w przebiegu chorób nowotworowych obserwuje się zwiększoną syntezę immunoglobulin. Wytwarzaniu przeciwciał zawsze towarzyszy niewielki nadmiar syntezy łańcuchów lekkich immunoglobulin kappa i lambda. Badania *in vitro* wykazały, że wolne łańcuchy lekkie mogą wywierać pośredni wpływ na proces angiogenezy, która jest jednym z najważniejszych elementów progresji nowotworu. W związku z powyższym celem mojej kolejnej pracy oryginalnej pt. ***"The clinical significance of serum free light chains in bladder cancer"*** (Gudowska-Sawczuk M, Kudelski J, Olkowicz M, Młynarczyk G, Chłosta P, Mroczko B. *Journal of Clinical Medicine* 2023; 12(9), 3294 (MEiN: 140; IF: 4,964) była ocena stężeń wolnych łańcuchów lekkich w surowicy osób z nowotworem pęcherza.

Zdecydowałam się na przeprowadzenie badań w grupie pacjentów z rakiem pęcherza moczowego (*bladder cancer*, BC), ponieważ jest to jeden z najczęstszych nowotworów układu moczowo-płciowego charakteryzujący się wysoką śmiertelnością. Ryzyko rozwoju raka pęcherza moczowego jest prawie 4-krotnie większe u mężczyzn niż u kobiet, a na liście czynników ryzyka znajduje się wiele czynników m.in. palenie tytoniu, cukrzyca typu 2, narażenie okolicy pęcherza moczowego na promieniowanie jonizujące czy przewlekłe zapalenie pęcherza moczowego. Co więcej, ryzyko raka pęcherza zwiększa się wraz z wiekiem, a blisko 70% zdiagnozowanych pacjentów to osoby w wieku 65 lat i więcej. Najczęstszym objawem BC jest pojawienie się bezbolesnego, ale masywnego krwiomoczu oraz częstomoczu.

Obecnie diagnostyka raka pęcherza moczowego obejmuje badanie ultrasonograficzne, cystoskopię oraz inwazyjne nakłucie podejrzanych miejsc do badania histopatologicznego. Jako uzupełnienie cystoskopii zalecana jest cytologia moczu, ale specyficzność diagnostyczna tego badania jest wysoka tylko w raku pęcherza moczowego o wysokim stopniu złośliwości. Niestety możliwości diagnostyki laboratoryjnej raka pęcherza moczowego są aktualnie mocno ograniczone. Znalezienie szybkiego i łatwego do oznaczenia nieinwazyjnego biomarkera wydaje się więc bardzo ważne, ponieważ czas postawienia diagnozy ma kluczowe znaczenie dla dalszego leczenia, rokowania i przeżycia pacjenta.

Jako pierwsza przeprowadziłam badania, w których podjęłam się oceny stężenia wolnych łańcuchów lekkich w grupie pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Diagnozę raka pęcherza stawiali

lekarze z Kliniki Urologii Uniwersytetu Medycznego oraz Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku na podstawie objawów chorobowych, badania ultrasonograficznego, cystoskopii oraz wyniku badania histopatologicznego. Chorych na raka pęcherza moczowego podzielono na dwie podgrupy: o niskim stopniu złośliwości (*low-grade*, LG) i o wysokim stopniu złośliwości (*high-grade*, HG). Grupę kontrolną stanowiły osoby zdrowe. Stężenie FLCs w surowicy oznaczyłam metodą turbidymetryczną, a stężenie CEA oraz CA19-9 jako markerów porównawczych metodą CMIA.

Badania wykazały, że stężenia κ FLC i λ FLC oraz CEA różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami i były wyższe w grupie pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Wartości stosunku κ : λ i CA19-9 były podobne w obu grupach pacjentów. Pomimo, że za pomocą badania histopatologicznego można szczegółowo opisać nowotwór, to wciąż poszukuje się innych prostszych i nieinwazyjnych sposobów oceny zaawansowania i stopnia złośliwości nowotworu. W związku z tym warto nadmienić, że wysokości stężeń κ FLC i λ FLC w surowicy zależały również od stopnia złośliwości guza. Zauważyłam, że stężenia κ FLC i λ FLC były wyższe w raku pęcherza moczowego HG niż w LG. Ponadto stężenia κ FLC, λ FLC i CEA były znacząco niższe w grupie kontrolnej w porównaniu z rakiem o niskim i wysokim stopniu złośliwości. Tak więc, **zwiększona synteza FLCs u pacjentów z BC jest prawdopodobnie bezpośrednio spowodowana przewlekłym stanem zapalnym. Oprócz tego wyższe poziomy κ i λ FLC w raku pęcherza moczowego o wysokim stopniu złośliwości sugerują, że postępujący proces rozwoju nowotworu koreluje ze zmianami stężeń FLCs.** Może to być powiązane z wpływem FLCs na komórki układu odpornościowego, w tym na komórki tuczne (mastocyty). Mastocyty to wielofunkcyjne komórki układu odpornościowego, które mogą wykazywać działanie zarówno przeciwnowotworowe jak i pronowotworowe. Pronowotworowe działanie mastocytów polega m.in. na ich udziale w stymulacji angiogenezy, reakcjach immunosupresyjnych poprzez wydzielanie czynników zapalnych czy degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, która ułatwia migrację komórek nowotworowych. **Wydaje się zatem, że rozwój raka pęcherza moczowego może być pośrednio powiązany z poziomem FLCs, które w czasie trwania stanu zapalnego są syntetyzowane w zwiększonej ilości, a w związku z tym mogą nadmiernie aktywować komórki tuczne.** Wykazałam także, że spośród wszystkich badanych parametrów wolne łańcuchy lekkie λ i κ w surowicy miały najwyższą wartość diagnostyczną dla raka pęcherza moczowego. Warta uwagi jest także wartość AUC dla λ FLCs w surowicy (0.906), która wskazuje na **doskonałą moc diagnostyczną w różnicowaniu pacjentów z nowotworem pęcherza moczowego od osób bez BC.** Poza tym odnotowałam, że stężenia FLCs korelują z poziomami CRP i CEA. Wiedząc, że CRP jest silnie reagującym białkiem ostrej fazy i, że CEA może być podwyższone w przewlekłym zapaleniu, jak również w nowotworach, można potwierdzić, że wolne łańcuchy lekkie są ściśle związane z odpowiedzią zapalną podczas progresji raka pęcherza moczowego. Ponadto, dodatnia korelacja między FLCs a podwyższonymi poziomami kreatyniny i mocznika może odzwierciedlać utrudnienie przepływu w drogach moczowych spowodowanego nowotworem. **Podsumowując, wydaje się, że**

pomiary wolnych łańcuchów lekkich, a w szczególności lambda mogą być szczególnie przydatne w diagnostyce i prognozowaniu raka pęcherza moczowego wykazując bardzo dużą moc diagnostyczną (czułość=93,30%, swoistość=83,80%, PPV=90,30%, NPV=89,70%).

4.5. Wnioski

1. Zwiększone stężenie κ FLCs w PMR oraz wartości opracowanego w badaniach własnych indeksu κ IgG u chorych na stwardnienie rozsiane wskazują na wewnątrzoponową syntezę immunoglobulin.
2. Bardzo wysoka moc diagnostyczna indeksu κ IgG oraz κ FLC, a także istotne różnice tych parametrów w zależności od typu prążków oligoklonalnych sugerują, iż oznaczenia wolnych łańcuchów lekkich kappa mogą stanowić uzupełnienie aktualnie obowiązujących kryteriów McDonalda.
3. Podwyższone stężenia λ FLCs w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z kleszczowym zapaleniem mózgu mogą świadczyć o zwiększonej produkcji swoistych immunoglobulin przeciwko wirusowi kleszczowego zapalenia mózgu.
4. Wzrost stężenia λ FLCs w PMR po przebytych leczeniu objawowym kleszczowego zapalenia mózgu i poprawie stanu klinicznego może świadczyć o utajonej zwiększonej przepuszczalności bariery krew-mózg.
5. Zwiększone stężenie wolnych łańcuchów lekkich w surowicy może świadczyć o syntezie przeciwciał anti-SARS-CoV-2, zarówno po kontakcie z koronawirusem (anty-N oraz anty-S-RBD) jak i po szczepieniu (wyłącznie anty S-RBD).
6. Pozytywna korelacja FLCs z IgG i swoistymi przeciwciałami anti-SARS-CoV-2, a także IL-6 może bezpośrednio odzwierciedlać hiperaktywację układu odpornościowego przeciwko koronawirusowi.
7. Wyższe stężenia wolnych łańcuchów lekkich κ i λ w raku pęcherza moczowego o wysokim stopniu złośliwości sugerują, że postępujący proces rozwoju nowotworu koreluje ze zmianami stężeń FLCs.
8. Bardzo wysoka moc diagnostyczna wolnych łańcuchów lekkich lambda wskazuje na to, iż mogłyby być one brane pod uwagę jako test uzupełniający do powszechnie stosowanych badań diagnostycznych raka pęcherza moczowego.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

5.1. Dane bibliometryczne dotyczące całego dorobku naukowego:

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie:

- 41 opublikowanych artykułów, w tym:
 - a) Prace z *Impact Factorem* i punktacją MEiN
 - 24 prace oryginalne
 - 10 prac przeglądowych
 - b) Prace z punktacją MEiN:
 - 2 prace oryginalne
 - 3 prace przeglądowe
 - 2 opisy przypadków
- 6 rozdziałów w monografiach
- 31 komunikatów zjazdowych, w tym:
 - 17 polskich streszczeń zjazdowych
 - 14 zagranicznych streszczeń zjazdowych

Łączny współczynnik oddziaływania Impact Factor (wg *Journal Citation Reports*) czasopism, w których opublikowałam prace wynosi **111,820**, a **punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN)** według wykazu czasopism z roku 2021, sporządzonego zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy wynosi **2702**.

Liczba cytowań wg SCOPUS: **292** **h-index – 10**

Liczba cytowań wg Web of Science:

Core Collection **276** (255 bez autocytowań) **h-index – 9**

All Databases **289** (268 bez autocytowań) **h-index – 9**

*liczba cytowań i h-index na dzień 23 czerwca 2023 r.

Analiza bibliometryczna dorobku naukowego poświadczona przez Bibliotekę Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku znajduje się w załączniku nr 7.

Mój **dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora** obejmuje łącznie **25** prac: 13 prac oryginalnych i 4 prace przeglądowe (w 71% prac jestem pierwszym autorem), 6 rozdziałów w monografiach i 2 opisy przypadków.

Byłam również autorem/współautorem **27 doniesień zjazdowych** (12 zagranicznych i 15 krajowych).

Sumaryczny IF przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych czasopism, w których opublikowałam prace wynosi **15,344**, a **punktacja MEiN** zgodna z listą punktacyjną z 2021 r. wynosi **292**.

Po uzyskaniu stopnia doktora, mój dorobek stanowi 13 prac oryginalnych, 9 prac przeglądowych. W łącznie 14 pracach jako pierwszy autor (64%) i w 15 pracach jako autor korespondencyjny (68%).

Byłam również autorem/współautorem 4 doniesień zjazdowych (2 krajowe i 2 zagraniczne). Kolejne 2 doniesienia zostały zgłoszone na konferencje zagraniczne.

Sumaryczny IF czasopism, w których opublikowałam prace po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych wynosi **96,476**, a **punktacja MEiN** wynosi **2410**.

5.2. Tematyka prac badawczych (nie wchodzących w skład osiągnięcia wymienionego w punkcie 4)

A. Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych

Po ukończeniu studiów magisterskich na kierunku Analityka Medyczna na UMB rozpoczęłam pracę w zawodzie diagnosty laboratoryjnego w Medycznym laboratorium diagnostycznym NZOZ Diagnostyka w Białymstoku. W międzyczasie rozpoczęłam także studia doktoranckie w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej (ZDB) UMB i wtedy też zdecydowałam się poświęcić pracy badawczej co wiązało się ze zrezygnowaniem ze swojej pierwszej pracy. Od tamtego czasu, tj. od roku 2013 moja kariera zawodowa i naukowa jest całkowicie związana z Zakładem Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB). W 2013 podpisałam również umowę o wolontariat w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, gdzie równoległe z pracą naukowo-badawczą mogłam spełniać się w roli diagnosty laboratoryjnego. W 2014 roku rozpoczęłam specjalizację z laboratoryjnej diagnostyki medycznej, a w 2016 roku zostałam zatrudniona w ramach umowy o pracę na stanowisku młodszego asystenta w ZDB USK w Białymstoku.

Mój dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora obejmuje łącznie 19 prac: 13 prac oryginalnych i 4 prace przeglądowe (w 71% prac jestem pierwszym autorem) i 2 opisy przypadków.

Byłam również autorem/współautorem 27 doniesień zjazdowych (12 zagranicznych i 15 krajowych). Sumaryczny IF czasopism przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych, w których opublikowałam prace wynosi 15,344, a punktacja MNiSW 292 punkty. Ponadto jestem współautorem łącznie 6 rozdziałów w wydanych w 2016 roku książkach „Medycyna i nauki pokrewne - wybrane zagadnienia” Red. Beata Zdunek, Monika Olszówka, „Najnowsze badania z zakresu chorób nowotworowych” Red. Beata Zdunek, Monika Olszówka, „Postęp medycyny w leczeniu i ochronie zdrowia T. 2” Red. Bartłomiej Drop, Paweł Kiciński oraz „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce. Choroby, nowotwory i wirusy” Red. nauk. Jacek Leśny, Jędrzej Nyckowiak.

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych moje badania naukowe były ściśle związane z tematyką badań prowadzoną w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej UMB i obejmowały: diagnostykę laboratoryjną marskości wątroby, będącą tematem mojej rozprawy doktorskiej, a także diagnostykę zapalenia i stłuszczenia wątroby, zapalenia i nowotworu trzustki oraz reumatoidalnego zapalenia stawów.

Nieinwazyjna ocena stopnia zwłóknienia w marskości wątroby

Włóknienie wątroby jest procesem, który towarzyszy przewlekłym schorzeniom tego narządu niezależnie od ich etiologii. Marskość wątroby to ostatnie stadium włóknienia wątroby, lecz patofizjologia tego stanu nie jest do końca poznana. W świetle aktualnej wiedzy w patologiczny proces włóknienia wątroby zaangażowane są same komórki zatok wątrobowych oraz macierz zewnątrzkomórkowa (ECM). Niestety największym problemem włóknienia wątroby jest fakt, iż proces ten rozwija się najczęściej w sposób bezobjawowy i wykrywany jest zwykle w sposób przypadkowy podczas wykonywania rutynowych badań, w tym laboratoryjnych. Za „złoty standard” diagnostyki zwłóknienia uznawana jest przezskórna biopsja wątroby. Ze względu jednak na fakt, iż jest to badanie inwazyjne i obciążone dużym ryzykiem błędu w ramach swoich badań wchodzących w skład rozprawy doktorskiej zdecydowałam się poszukać innego rozwiązania, tj. nieinwazyjnego biomarkera/testu laboratoryjnego, który umożliwiłby zdiagnozowanie alkoholowej i niealkoholowej marskości wątroby we wczesnym stadium. Celem nadrzędnym moich badań była ocena przydatności diagnostycznej biochemicznych markerów oznaczanych we krwi, tj. galektyny-3 oraz kwasu hialuronowego.

Powodem wybrania ww. parametrów był fakt, iż galektyna-3 jest wytwarzaną przez makrofagi wielofunkcyjną lektyną, która pełni wiele ważnych funkcji biologicznych takich jak zapalenie, angiogeneza czy przebudowa składników ECM. Z kolei, wytwarzany przez komórki gwiaździste wątroby kwas hialuronowy jest jednym z głównych składników ECM.

Moc diagnostyczna wybranych biomarkerów porównana była z 11 wskaźnikami wyliczonymi na podstawie wyników badań laboratoryjnych oraz danych klinicznych: APRI, GAPRI, HAPRI, FIB-4, Forn's index, Bonacini, Göteborg University Cirrhosis Index (GUCl), HUI, Age-Platelet (AP) index i Fibro Q. Przeprowadzone przez mnie badania wykazały, że galektyna-3, kwas hialuronowy oraz nieinwazyjne wskaźniki (algorytmy) marskości wątroby mają wysoką moc diagnostyczną, która pozwala na różnicowanie stopnia zaawansowania alkoholowej oraz niealkoholowej marskości wątroby (skala Child-Pugh'a). Najlepszym jednak, wskaźnikiem umożliwiającym różnicowanie stopnia zaawansowania marskości wątroby okazał się być algorytm HAPRI, do którego wyliczenia niezbędne jest oznaczenie stężenia kwasu hialuronowego – bezpośredniego wskaźnika włóknienia wątroby.

Publikacje stanowiące wyżej opisaną wyróżnioną rozprawę doktorską były cyklem sześciu prac, które miały łączny IF=5,414 oraz 82 pkt MEiN. We wszystkich pracach byłam pierwszym autorem, a mój udział w ich przygotowaniu wynosił 70%.

Kolejne prace oryginalne, opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych, niewchodzące w skład rozprawy doktorskiej prezentowały badania prowadzone u pacjentów z innymi chorobami wątroby, tj. zapalenie i stłuszczeniowe zapalenie wątroby, a także u pacjentów cierpiących na wybrane schorzenia trzustki i reumatoidalne zapalenie stawów.

Nieinwazyjna ocena stopnia zwłóknienia w marskości wątroby c.d.

Apolipoproteina B (ApoB) to główna apolipoproteina cholesterolu LDL i VLDL. Duże znaczenie dla metabolizmu lipoprotein ma skład łańcucha węglowodanowego apolipoprotein, w którym znajduje się kwas sjałowy (*sialic acid*, SA). Dowiedziono, iż sialilacja białek surowicy, w tym Apo B, może być zaburzona właśnie w przebiegu chorób wątroby. Dlatego celem pracy pt. „*Serum sialic acid concentration and content in apoB-containing lipoproteins in liver diseases*” (Gudowska M, Gruszewska E, Cylwik B, Panasiuk A, Filisiak R, Szmitkowski M, Chrostek L. **Clin Lab. 2016;62(6):1069-74**) była ocena wpływu chorób wątroby (alkoholowa i niealkoholowa marskość, przewlekłe zapalenie, toksyczne zapalenie, przewlekłe wirusowe zapalenie, rak wątroby) na stężenie i zawartość SA w lipoproteinach zawierających ApoB. Badania nie wykazały znamiennych zmian poziomu Apo-B, natomiast wykazały istotny wzrost stężenia SA w lipoproteinach zawierających ApoB w wirusowym zapaleniu i alkoholowej marskości wątroby. Ponadto, wykazałam, iż istnieje związek między stężeniem SA a stężeniem triglicerydów w alkoholowej marskości wątroby i wirusowym zapaleniu wątroby. Również w wirusowym zapaleniu wątroby stężenie SA korelowało ujemnie z cholesterolem HDL. **Badanie to może wyjaśniać zmienność stężenia lipidów i lipoprotein w surowicy pacjentów cierpiących na choroby wątroby. Wydaje się, że przyczyną tych nieprawidłowości mogą być zmiany stężenia kwasu sjałowego w lipoproteinach zawierających ApoB.**

Jak wspomniałam wcześniej, proces włóknienia wątroby jest m.in. spowodowany nadmierną produkcją składników ECM w komórkach gwiazdzistych wątroby. Wzrost ilości zdeponowanych fragmentów ECM w przestrzeni Dissego prowadzi do uszkodzenia narządu. Oprócz kwasu hialuronowego, jednym z najważniejszych składników ECM jest kolagen, a w wątrobie występuje głównie kolagen typu III. Dowiedziono, iż podczas syntezy kolagenu typu III, od prokolagenu typu III zostaje odłączony N-końcowy propeptyd prokolagenu typu III (PIIINP). W wyniku procesu fibrogenyzy dochodzi do uwolnienia fragmentów składników macierzy zewnątrzkomórkowej do krwi. Moje badania opisane w pracy pt. ***“High serum N-terminal propeptide of procollagen type III concentration is associated with liver diseases”*** (Gudowska M, Gruszewska E, Panasiuk A, Cylwik B, Swiderska M, Flisiak R, Szmitkowski M, Chrostek L. **Prz Gastroenterol.** 2017;12(3):203-207) wykazały, że poziomy PIIINP są podwyższone w surowicy pacjentów z marskością i toksycznym zapaleniem wątroby w porównaniu z osobami zdrowymi. Stąd też wydaje się, że ilość propeptydu prokolagenu typu III może być bezpośrednim wykładnikiem syntezy kolagenu i jego odkładania w przestrzeni pozakomórkowej. Poziomy PIIINP były jednak podobne w chorobach wątroby o różnej etiologii i nie różniły się w zależności od stopnia uszkodzenia narządu. **Badania zatem sugerują, że PIIINP może być przydatnym testem wyłącznie do wykrywania chorób wątroby.**

Dokładny pomiar uszkodzenia wątroby umożliwiają także proste nieinwazyjne biomarkery opracowane przez firmę BioPredictive. FibroMax Test jest połączeniem kilku testów (FibroTest, SteatoTest, AshTest, NashTest, ActiTest), które umożliwiają jednoczesną ocenę stopnia zwłóknienia i stłuszczenia wątroby o różnej etiologii, a także ocenę aktywności martwiczo-zapalnej. Co ciekawe, w pracy pt. ***“The Distribution of Liver Steatosis, Fibrosis, atitis and Inflammation Activity in Alcoholics According to FibroMax Test”*** (Gudowska M, Wojtowicz E, Cylwik B, Gruszewska E, Chrostek L. **Adv Clin Exp Med.** 2015 Sep-Oct;24(5):823-7) napisanej we współpracy z **Novencia Pharma** z siedzibą w Warszawie wykazałam, iż **częstość występowania chorób wątroby u alkoholików oszacowana za pomocą FibroMax Test jest wyższa niż częstość występowania alkoholowych chorób wątroby potwierdzonych biopsją.** Wyniki mogą wskazywać na przeszacowanie występowania choroby wątroby rozpoznanej przez FibroMax Test lub na obecność innych niż alkohol czynników wpływających na progresję choroby wątroby.

Kolejne badania we współpracy z **Syneo, Laboratoria Medicover** w Warszawie również były prowadzone na grupie pacjentów nadużywających alkoholu „***The higher prevalence of non-alcoholic versus alcoholic steatohepatitis in alcoholics***” (Gruszewska E, Gudowska M, Wojtowicz E, Cylwik B, Szmitkowski M, Chrostek L. **Clin Lab.** 2015;61(11):1769-74). Dotyczyły one oceny częstości występowania alkoholowego (ASH) i niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby (NASH) u alkoholików za pomocą nieinwazyjnych markerów biochemicznych: AshTest i NashTest. **Wyniki badań okazały się być zaskakujące, ponieważ wykazały, że częstość występowania niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby u alkoholików jest wyższa niż alkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby.** Z kolei, współwystępowanie alkoholowego stłuszczeniowego

zapalenia wątroby i niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby u alkoholików jest bardzo niskie. Wydaje się, że wysoka częstość występowania niealkoholowego stłuszczeniowego zapalenia wątroby związana jest z częstym występowaniem u alkoholików innych metabolicznych czynników ryzyka takich jak cukrzyca, dyslipidemie czy otyłość.

Profil izoform transferyny w chorobach wątroby, trzustki i reumatoidalnym zapaleniu stawów

W wątrobie metabolizowana jest większość glikoprotein obecnych w surowicy, a jedną z nich jest transferyna (*Transferrin*, Tf). Transferyna posiada dwa miejsca N-glikozylacji, do których przyłączone są łańcuchy oligosacharydowe zakończone kwasem sialowym. Ze względu na strukturę transferyna wykazuje dużą mikroheterogeniczność w zależności od liczby reszt kwasu sialowego (9 sialowanych izoform: od asjalo- do okta-sjalo-transferyny). Dominującą izoformą u osób zdrowych jest tetrasialotransferyna (64–80%), tak więc transferyna może być jednym z najlepszych modeli do analizy zmian w glikozylacji białek. Za zmianę profilu izoform Tf odpowiedzialne są zmiany aktywności enzymów czy zaburzenia transportu niektórych białek wewnątrzkomórkowych. Zatem wydaje się, że stan czynnościowy hepatocytów wątroby może odgrywać ważną rolę w tworzeniu profilu izoform transferyny, który może różnić się w zależności od etiologii choroby wątroby. Celem kolejnej pracy pt. **„The transferrin isoforms in chronic hepatitis”** (Gruszewska E, Wrona A, **Gudowska M**, Panasiuk A, Cylwik B, Lipartowska-Klimuk K, Flisiak R, Chrostek L. **Clin Biochem. 2017 Dec;50(18):1131-1135**) była ocena wpływu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby na profil izoform transferyny w surowicy. Próbkę analizowano metodą elektroforezy kapilarnej w systemie MINICAP. Wykazaliśmy, że u pacjentów z **przewlekłym zapaleniem wątroby poziom tetrasialotransferyny był podwyższony, a pentasialotransferyny obniżony w porównaniu z osobami zdrowymi**. Natomiast **nie było różnic w poziomie tetrasialotransferyny i pentasialotransferyny w zależności od zaawansowania aktywności zapalenia wątroby i stadium zwłóknienia**. Jednak analiza statystyczna wykazała, że poziom **trisialotransferyny różnił się m.in. w zależności od stopnia nasilenia stanu zapalnego w przestrzeniach wrotnych oraz okołowrotnych czy stopnia zwłóknienia (dwukrotny wzrost stężenia w najbardziej zaawansowanym stadium choroby)**. Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdziliśmy, że przewlekłe zapalenie wątroby wpływa na profil izoform transferyny w surowicy, ale **jedynie stężenie trisialotransferyny może być przydatne w określaniu progresji przewlekłego zapalenia wątroby i stopnia zaawansowania włóknienia**.

Kolejne badania przedstawione w pracy **„Changed profile of serum transferrin isoforms in liver diseases”** (**Gudowska M**, Gruszewska E, Panasiuk A, Cylwik B, Swiderska M, Flisiak R, Szmitkowski M, Chrostek L. **Clin Lab. 2017 Feb 1;63(2):349-354**) wykazały istotne różnice we względnych stężeniach disialotransferyny u pacjentów z toksycznym zapaleniem wątroby oraz w stężeniach trisialotransferyny u pacjentów z alkoholową i niealkoholową marskością wątroby w porównaniu z grupą zdrowych osób. Dzięki czemu parametry te mogą odzwierciedlać upośledzenie sialilacji

transferyny w poszczególnych schorzeniach wątroby. Ponadto, średnie stężenia disialotransferyny i tetrasialotransferyny były istotnie wyższe u pacjentów z zapaleniem wątroby niż w grupie pacjentów z niealkoholową i alkoholową marskością wątroby. Z kolei, poziom trisialotransferyny był niższy w toksycznym zapaleniu wątroby niż marskości, niezależnie od jej etiologii. Wystąpiły także istotne różnice w stężeniu tri-, tetra- i pentasialotransferyny w zależności od stopnia niewydolności wątroby ocenianym wg skali Child-Pugh'a. Zważywszy na powyższe, **surowiczy profil izoform transferyny wykazuje zmiany w chorobach wątroby oraz zmienia się w zależności od etiologii choroby i stopnia zaawansowania marskości wątroby.** Zważywszy jednak na duży rozrzut wyników w poszczególnych podgrupach, zastosowanie oznaczeń izoform transferyny w ocenie stopnia zaawansowania marskości może być utrudnione.

Kolejną grupą schorzeń w których może dochodzić do zmian profilu glikozylacji transferyny są choroby trzustki. W związku z tym, iż transferyna jest ujemnym białkiem ostrej fazy, spodziewaliśmy się zmniejszenia jej stężenia w surowicy, a także przesunięcia obrazu izoform transferyny u pacjentów cierpiących na zapalenie trzustki. Ponadto do zmian glikozylacji białek, w tym transferyny, dochodzi także w chorobach nowotworowych. Prace *"Serum carbohydrate-deficient transferrin in pancreatic diseases of different etiologies"* (Cylwik B, Gruszewska E, **Gudowska M**, Lipartowska-Klimuk K, Szmitkowski M, Kedra B, Chrostek L. Clin Lab. 2016 Sep 1;62(9):1787-1793) oraz *„Changes in transferrin isoforms in pancreatic cancer”* (Gruszewska E, Cylwik B, **Gudowska M**, Kedra B, Szmitkowski M, Chrostek L. Ann Clin Lab Sci. 2016 May;46(3):286-90) były pierwszymi, które oceniły przydatność oznaczeń transferyny i jej izoform w diagnostyce podstawowej i różnicowej schorzeń trzustki. Okazało się, że średnie **względne (%) i bezwzględne (mg/l) stężenia transferyny ubogowęglowodanowej (CDT), która stanowi sumę a-, mono- oraz disialotransferyny w ostrym i przewlekłym zapaleniu trzustki nie różniły się pomiędzy ostrym a przewlekłym zapaleniem narządu, ale były istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej i u pacjentów z pierwotnym rakiem trzustki.** Z kolei, stężenia te. Ponadto, względne i bezwzględne stężenia CDT w zapaleniu trzustki wywołanym alkoholem były znacznie wyższe w porównaniu z zapaleniem trzustki wywołanym przez schorzenia dróg żółciowych i grupą kontrolną. Co za tym idzie, ostre i przewlekłe poalkoholowe zapalenie trzustki, może wpływać na poziom CDT, wskazując na zaburzenia glikozylacji transferyny w przebiegu alkoholowych chorób. Tak więc **CDT może być przydatnym testem do odróżniania alkoholowego i niealkoholowego zapalenia trzustki.** Co więcej, średnie stężenie tetrasialotransferyny okazało się być **znacznie wyższe, podczas gdy pentasialotransferyny niższe u pacjentów z rakiem trzustki** niż w grupie kontrolnej. Lokalizacja guza ani klasyfikacja TNM nie miały wpływu na profil izoform transferyny, z wyjątkiem trisialotransferyny, która była **istotnie wyższa u chorych bez przerzutów odległych niż u chorych z przerzutami odległymi.** Głównym wnioskiem z tego badania jest to, że u pacjentów z **rakiem trzustki występują zmiany w sializacji transferyny,** ale oznaczenie izoform transferyny ma mniejszą moc diagnostyczną niż CA19-9 – powszechnie znanego markera przydatnego w diagnostyce raka trzustki.

Zaburzenia glikozylacji można zaobserwować także w chorobach reumatycznych, w tym reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS). RZS jest przewlekłą, autoimmunologiczną chorobą tkanki łącznej, w której układ odpornościowy produkuje także autoprzeciwciała. Specyficzne autoprzeciwciała powstające w RZS są związane z posttranslacyjnymi modyfikacjami białek i peptydów. Modyfikacje te odgrywają ważną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu odpornościowego i obejmują m.in. glikozylację, cytrulinację, metylację, acetylację. W badaniu „*Independence of carbohydrate-deficient isoforms of transferrin and cyclic citrullinated peptides in rheumatoid arthritis*” (Gudowska M, Gindzińska-Sieskiewicz E, Gruszevska E, Cylwik B, Sierakowski S, Szmikowski M, Chrostek L. **Rev Bras Reumatol Engl Ed.** 2017 May-Jun;57(3):185-189) chcieliśmy sprawdzić czy istnieje zależność pomiędzy dwoma rodzajami potranslacyjnych modyfikacji białek w RZS: glikozylacją na przykładzie transferyny ubogowęglowodanowej oraz cytrulinacją na przykładzie autoprzeciwciał przeciwko cyklicznemu peptydowi cytrulinowemu (anty-CCP). Badanie wykazało, że 80% pacjentów z RZS miało dodatni wynik anty-CCP, 70% czynnika reumatoidalnego (*rheumatoid factor*, RF) i 62% zarówno anty-CCP, jak i RF. Ponadto stężenie względne (%CDT) było istotnie podwyższone, natomiast bezwzględny poziom CDT nie uległ zmianie u pacjentów cierpiących na RZS. Jednak co ciekawe, okazało się, że średnie bezwzględne stężenie CDT było wyższe u pacjentów z dodatnim wynikiem anty-CCP niż u pacjentów u których nie stwierdzono obecności przeciwciał anty-CCP. Ponadto stężenie CDT (jednostki bezwzględne i względne) korelowało z DAS 28 (*Disease Activity Score 28*) u wszystkich pacjentów anty-CCP dodatnich co świadczy o tym, że zmiany w glikozylacji transferyny odzwierciedlają aktywność choroby. Niniejsze badanie nie wykazało jednak związku między stężeniem CDT a poziomem autoprzeciwciał. Wyniki te dowodzą, że zmiany stężeń CDT i anty-CCP nie są bezpośrednio związane ze sobą i wskazują na niezależność potranslacyjnych modyfikacji białek w reumatoidalnym zapaleniu stawów.

Przypadki kliniczne

Bardzo ciekawym doświadczeniem i uzupełnieniem mojej pracy naukowej była współpraca z **REVITA Centrum Medycznym** w Białymstoku oraz Zakładem Medycyny Estetycznej UMB. W Ramach współpracy opisaliśmy dwa przypadki kliniczne.

Współczesne zabiegi odmładzające zyskują na coraz większej popularności. Istnieje bardzo dużo typów interwencji kosmetycznych, które skutecznie redukują oznaki starzenia. Celem pracy „*Metoda endoliftingu 4D przy użyciu lasera Fotona - opis przypadku*” (Głazewska EK, Bednarczyk M, **Gudowska M**, Sobolewska M, Przyłipiak A. *Derm Est.* 2015; 17: 182-184) była ocena efektów endoliftingu 4D. Opisaliśmy przypadek 58-letniej pacjentki, której lekarz zaproponował kilkietapowy zabieg endoliftingu z zastosowaniem lasera Nd:YAG, a następnie po kilku miesiącach dokonał oceny porównawczej. Okazało się, iż wg subiektywnej oceny lekarza na uwagę zasługiwały: zwiększona elastyczność i rozświetlenie skóry, redukcja przebarwień oraz spłycenie zmarszczek.

Istotny problem kosmetyczny stanowią także teleangiektazje. Dlatego kolejny analizowany przez nas przypadek dotyczył mężczyzny u którego stwierdzono właśnie tę przypadłość. Zabiegu zamykania naczyń krwionośnych dokonano metodą laserową Nd:YAG, a efekty opisano w pracy „**Redukcja teleangiektazji przy użyciu lasera Nd:YAG - opis przypadku**” (Bednarczyk M, Głazewska EK, Gogol P, **Gudowska M**, Zajkowska M, Przyłipiak A. Derm Est. 2016; 18: 195-198). W zależności od obszaru twarzy leczenie przeprowadzono stosując różne ustawienia powierzchniowej gęstości energii (od 120 do 160 J/cm²). Po miesiącu od zabiegu dokonano konsultacji pacjenta. W efekcie okazało się, że dzięki zabiegowi zamykania teleangiektazji z zastosowaniem lasera Nd:YAG uzyskano poprawę wyglądu i zmniejszenie zaczerwienienia skóry w obrębie obszaru objętego leczeniem.

B. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

W 2017 roku zdobyłam z wyróżnieniem tytuł doktora nauk medycznych, a w 2018 tytuł specjalisty w zakresie laboratoryjnej diagnostyki medycznej. Od 2019 roku jestem zatrudniona w ramach umowy o pracę na etacie naukowo-dydaktycznym w ZDB na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku. Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych mój dorobek stanowi **22 publikacje**, w tym: **13 prac oryginalnych i 9 prac przeglądowych** (w tym w **64% prac jako pierwszy i w 68% jako korespondencyjny autor**). Byłam również autorem/współautorem 4 doniesień zjazdowych (2 zagraniczne i 2 krajowe). Kolejne 2 doniesienia zostały zgłoszone na konferencje zagraniczne.

Sumaryczny IF po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych czasopism, w których opublikowałam prace wynosi **96,476**, a **punktacja MEiN** zgodna z listą punktacyjną z 2021 r. wynosi **2410**.

Nieinwazyjna ocena stopnia zwłóknienia w marskości wątroby c.d.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych wciąż uczestniczyłam w badaniach dotyczących nieinwazyjnej diagnostyki chorób wątroby. Poza wcześniej opisanym kolagenem typu III, również poziom kolagenu typu I wzrasta podczas procesu fibrogenyzy. W związku z tym bezpośrednim wskaźnikiem ilości syntetyzowanego kolagenu może być także N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PINP), który w trakcie syntezy kolagenu typu I, odłączony zostaje od N- końca cząsteczki prokolagenu typu I. Cząsteczki PINP są metabolizowane w wątrobie, a część propeptydów przenika do krwi, gdzie możliwe jest oznaczenie ich stężenia. Oprócz prokolagenu, miofibroblasty syntetyzują również interleukinę-6 (*interleukin-6*, IL-6). IL-6 jest wielofunkcyjną cytokiną prozapalną, a w wątrobie jest ona głównym induktorem odpowiedzi ostrej fazy i jest wydzielana w odpowiedzi na działanie czynnika martwicy nowotworu. IL-6 wykazuje zarówno działanie pro-mitogeniczne jak i anty-apoptotyczne w stosunku do hepatocytów. I, ponieważ zarówno PINP, jak i IL-6 są zaangażowane

w procesy włóknienia, wydawało się, że pomiary poziomu IL-6 stymulującej wydzielanie kolagenu oraz PINP uwalnianego podczas syntezy tegoż składnika ECM mogłyby być prawdopodobnie użyteczne jako wskaźniki fibrogenyzy. W publikacji „*Serum level of interleukin-6 (IL-6) and N-terminal propeptide of procollagen type I (PINP) in patients with liver diseases*” (Gudowska-Sawczuk M, Wrona A, Gruszewska E, Cylwik B, Panasiuk A, Flisiak R, Chrostek L. *Scand J Clin Lab Invest.* 2018 Feb-Apr;78(1-2):125-130) oceniliśmy stężenia interleukiny-6 i N-końcowego propeptydu prokolagenu typu I i ich związek z chorobami wątroby o różnej etiologii. Głównym wnioskiem przeprowadzonych badań było to, że stężenia **PINP są podwyższone w marskości wątroby o etiologii alkoholowej** podczas gdy, stężenie IL-6 było podwyższone zarówno w marskości alkoholowej i niealkoholowej jak i toksycznym zapaleniu wątroby. Wyniki te sugerują, że **zwiększone stężenie IL-6, niezależnie od etiologii marskości, może być spowodowane upośledzonym wychwytem wątrobowym**. Z drugiej strony zwiększone stężenie w alkoholowym uszkodzeniu narządu wskazuje na wyższą syntezę IL-6 w marskości wątroby o tej etiologii. Okazało się także, że **oba parametry związane są z ciężkością uszkodzenia wątroby, osiągając najwyższe stężenia w zaawansowanej niewydolności narządu (klasa C w skali Child-Pugh’a)**. W związku z tym PINP i IL-6 są mogłyby prawdopodobnie być bardzo czułymi i swoistymi markerami do monitorowania stadium dysfunkcji wątroby, w szczególności spowodowanej nadużywaniem alkoholu.

W pracy pt. “*Noninvasive indirect markers of liver fibrosis in alcoholics*” (Chrostek L, Przekop D, Gruszewska E, Gudowska-Sawczuk M, Cylwik B. *Biomed Res Int.* 2019 May 5;2019:3646975) porównaliśmy moc diagnostyczną pięciu nieopatentowanych, nieinwazyjnych markerów zwłóknienia wątroby: APRI, GAPRI, Forns, FIB-4, Age-Platelet i jednego opatentowanego algorytmu Hepascore u pacjentów nadużywających alkoholu. Dodatkowo u tych samych pacjentów oceniliśmy stężenie ubogowęglowodanowych izoform transferyny - CDT jako markera nadużywania alkoholu. Badania wykazały zwiększenie wartości nieinwazyjnych wskaźników w przebiegu alkoholowych schorzeń wątroby (stłuszczenia, stłuszczeniowego zapalenia, zwłóknienia, aktywności martwiczo-zapalnej), które jednocześnie korelowały ze stopniem zaawansowania choroby. Stąd też wyniki te sugerują, że **ww. markery będące algorytmami prostych badań laboratoryjnych obejmujących tylko enzymy wątrobowe, liczbę płytek krwi czy cholesterol mogą być rzeczywiście pomocne w identyfikacji poalkoholowego uszkodzenia wątroby oraz określania stadium zwłóknienia narządu**. Ku naszemu zaskoczeniu, opatentowany algorytm Hepascore miał niższą wartość diagnostyczną u alkoholików niż pozostałe markery. Najlepszym wskaźnikiem zwłóknienia wątroby u pacjentów alkoholowych okazał się być wskaźnik Forns’a stanowiący kombinację oznaczeń liczby płytek krwi, stężenia gamma-glutamylotransferazy i cholesterolu w surowicy oraz wieku pacjenta, a opracowany pierwotnie w czasie badań na grupie pacjentów z HCV.

Przeprowadzone przez nas wcześniej badania wykazały zwiększone stężenie kwasu sjałowego w lipoproteinach zawierających ApoB m.in. w wirusowym zapaleniu wątroby. W związku z tym, celem kolejnej pracy pt. „*The concentration of total sialic acid in chronic hepatitis B and C*” (Gruszewska E, Cylwik B, **Gudowska M**, Panasiuk A, Flisiak R, Chrostek L. *Ann Clin Biochem.* **2019 Jan;56(1):118-122**) było sprawdzenie czy zmiany sialilacji białek mogą wypłynąć także na zmianę całkowitego stężenia SA (*total sialic acid*, TSA) u pacjentów z potwierdzonym zakażeniem HBV i HCV. Zaskakująco, odnotowaliśmy **wzrost stężenia TSA w surowicy pacjentów z wirusowym zapaleniem wątroby typu C oraz jego zmniejszenie u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B** niż u osób zdrowych. Analizując nasze wyniki, wzięliśmy pod uwagę, że TSA jest sumą kwasu sjałowego związanego z białkami i lipidami oraz wolnego SA. Tak więc różnice w stężeniu każdej z komponent TSA mogą mieć istotny wpływ na jego stężenie w surowicy. Zwiększone stężenie TSA w surowicy u pacjentów z HCV może być spowodowane zaburzeniami równowagi w biosyntezie i potranslacyjnej glikozylacji białek ostrej fazy w wątrobie, w tym sjałilotransferazy, a tym samym zwiększonej aktywności tej glikozylotransferazy w przebiegu zapalenia wątroby. Z kolei, wyjaśnieniem obniżonego stężenia TSA w wirusowym zapaleniu wątroby typu B może być zmniejszona aktywność sjałilotransferazy w przewlekłym stanie zapalnym. Dodatkowo, wydaje się, że różnice te mogą być spowodowane innymi cechami klinicznymi wirusowego zapalenia wątroby typu B i C wynikającymi z różnych mechanizmów zaangażowanych w proces rozwoju zakażenia wirusami zapalenia wątroby. Niemniej, jednak powyższe obserwacje wskazują na **potencjalną możliwość wykorzystania oznaczeń całkowitego stężenia kwasu sjałowego w różnicowaniu wirusowego zapalenia wątroby o różnej etiologii.**

Profil izoform transferyny w chorobach autoimmunologicznych

Następne dwie publikacje stanowią kontynuację badań nad glikozylacją transferyny w grupie chorób autoimmunologicznych. Celem pracy pt. „*The profile of serum transferrin isoforms in rheumatoid arthritis*” (**Gudowska M**, Gruszewska E, Wrona A, Gindzienska-Sieskiewicz E, Domyslawska I, Lipartowska-Klimuk K, Cylwik B, Sierakowski S, Chrostek L. *J Clin Rheumatol.* **2019 Jun;25(4):159-162**) była ocena profilu izoform transferyny: asialo-, disialo-, trisialo-, tetrasialo- i pentasialotransferyny w momencie rozpoznania reumatoidalnego zapalenia stawów. Diagnoza RZS w grupie badanej postawiona była zgodnie z kryteriami American College of Rheumatology (ACR). Analizując uzyskane wyniki oznaczeń stwierdziliśmy, iż względne stężenia **trisialo- i pentasialotransferyny u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów były istotnie niższe niż u osób zdrowych w przeciwieństwie do stężenia tetrasialotransferyny, które było istotnie wyższe u pacjentów z RZS.** Oceniliśmy również związek pomiędzy profilem glikozylacji transferyny, a aktywnością choroby mierzoną za pomocą skali DAS 28. Okazało się, że tylko względne stężenie **trisialotransferyny korelowało z aktywnością choroby, tj. im wyższa wartość wskaźnika DAS 28 i im bardziej aktywna choroba tym niższe stężenie trisialotransferyny. Związku trisialotransferyny**

z aktywnością choroby dowodzi również jej korelacja z **wartością OB i stężeniem CRP**, a także z liczbą **płytek krwi**, stężeniem **hemoglobiny i przeciwciał anty-CCP**. Związek ze stężeniem hemoglobiny może wynikać z faktu, iż niedokrwistość jest częstą chorobą współistniejącą u pacjentów z RZS. Z kolei, istotna korelacja z OB i stężeniem CRP czy liczbą płytek krwi wynikała prawdopodobnie z tego, że OB, CRP i liczba płytek krwi są zatwierdzonymi markerami aktywności RZS i rozwinięcia się reakcji ostrej fazy. Podsumowując, badanie wykazało, że pacjenci cierpiący na RZS mają zmieniony profil izoform transferyny. Ponadto ponieważ poziom trisialowanych izoform transferyny koreluje z aktywnością choroby, wydaje się, iż jej poziom może odzwierciedlać progresję choroby. Dlatego też przewidujemy, że trisialotransferyna mogłaby służyć jako użyteczny marker biochemiczny aktywności reumatoidalnego zapalenia stawów.

Nasze prace wykazały, że zmiany w glikozylacji białek są obecne w chorobach reumatycznych dorosłych, jednak informacje dotyczące chorób reumatycznych u dzieci są bardzo ograniczone. Dlatego też kolejne badania opisane w pracy *"Serum profile of transferrin isoforms in juvenile idiopathic arthritis: a preliminary study"* (Gruszewska E, Sienkiewicz M, Abramowicz P, Konstantynowicz J, **Gudowska-Sawczuk M**, Chrostek L, Cylwik B. **Rheumatol Int. 2018 Jul;38(7):1235-1240**) dotyczyły oceny profilu izoform transferyny u pacjentów cierpiących na młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS), które jest najczęstszą przewlekłą chorobą reumatyczną dzieci i młodzieży. U osób zdrowych tetrasialotransferyna stanowi największą frakcję transferyny i osiąga poziom 64–80%, podczas gdy pentasialotransferyna stanowi zwykle ok. 15%. W naszym badaniu **dzieci i młodzież z MIZS** wykazały znaczny **spadek frakcji tetrasialotransferyny i wzrost frakcji pentasialotransferyny** we krwi w porównaniu z osobami zdrowymi. W przeciwieństwie do naszego poprzedniego projektu przeprowadzonego w grupie osób dorosłych, w niniejszym badaniu nie zaobserwowaliśmy jednak związku pomiędzy profilem glikozylacji transferyny a aktywnością MIZS określaną tzw. wskaźnikiem JADAS (*Juvenile Arthritis Disease Activity Score*). Z drugiej, jednak strony, wartości **OB i poziomy CRP dodatkowo korelowały z disialo- i pentasialotransferyną, a ujemnie z trisialo- i tetrasialotransferyną**. To pilotażowe badanie pokazuje specyficzny profil izoform transferyny u pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów. Wyniki te, choć oparte na małej liczbie badanej grupy, wskazują na **potencjalną przydatność diagnostyczną pomiaru izoform transferyny w MIZS, zwłaszcza tetrasialotransferyny i pentasialotransferyny**.

SARS-CoV-2 i schorzenia neurologiczne

Moje poprzednie badania wschodzące w skład niniejszego osiągnięcia dotyczyły zarówno pacjentów z SM jak i tych z potwierdzoną infekcją SARS-CoV-2. Wiedząc, że ryzyko infekcji jest prawdopodobnie większe w grupie pacjentów cierpiących na stwardnienie rozsiane wraz z Kliniką Neurologii postanowiliśmy połączyć te dwa obszary badań, tj. SM i COVID-19. Chociaż ostatnie doniesienia wykazały, że ta grupa pacjentów nie przechodzi COVID-19 ciężiej niż populacja ogólna i nie obserwuje się większej śmiertelności w grupie pacjentów z SM to odpowiedź serologiczna na

zakażenie SARS-CoV-2 i szczepień jest nadal przedmiotem badań. Za główny cel prezentowanych w publikacji pt. „*Antibodies against SARS-CoV-2 S and N proteins in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with disease-modifying therapies*” (Kulikowska J, Czarnowska A, **Gudowska-Sawczuk M**, Kulczyńska-Przybik A, Bazylewicz M, Collins F, Chorąży M, Mroczo B, Kochanowicz J, Kapica-Topczewska K, Kułakowska A. **Neurol Neurochir Pol. 2023;57(1):121-130**) badań przyjęliśmy analizę obecności przeciwciał anty-SARS-CoV-2 przeciwko białkom spike (S) w klasie IgA i IgG oraz nukleokapsydu (N) w klasie IgG u pacjentów z rzutowo-remisyjną postacią SM u których stosowano terapię lekami modyfikującym przebieg choroby (*disease modifying therapy*, DMT). Obecność przeciwciał anty-SARS-CoV-2 oceniano dwukrotnie: na pierwszej wizycie (maj–czerwiec 2020 r.) oraz podczas wizyty drugiej (maj–czerwiec 2021 r.) Na temat wszystkich pacjentów zebrano szczegółowe dane demograficzne i kliniczne, a w tym: czas trwania SM, punktację rozszerzonej skali niepełnosprawności (EDSS, *Expanded Disability Status Scale*), rodzaj zastosowanej terapii DMT oraz historię COVID-19 (dodatni wynik testu PCR lub antygenowy w przeszłości), status szczepień i rodzaj szczepionki. Wykazaliśmy, że na pierwszej wizycie: 3,7% pacjentów miało dodatnie wyniki IgA przeciwko białku S (IgA-S), 3,2% IgG przeciwko białku S (IgG-S) lecz żaden z badanych nie miał pozytywnych wyników na obecność IgG przeciwko białku N (IgG-N). Na kolejnej wizycie, najczęściej wykrywanymi przeciwciałami były IgG-S (71,3%), następnie IgA-S (65,1%), a najrzadziej IgG-N (18,2%). Podczas drugiej wizyty okazało się, że ponad 20,45% pacjentów miało dodatni wynik testu SARS-CoV-2 PCR lub antygenowy w ciągu ostatniego roku. Do czasu drugiej wizyty 42,05% pacjentów zaszczepiło się w pełni przeciwko COVID-19. Badanie to wykazało, że u pacjentów cierpiących na SM szczepienie przeciwko SARS-CoV-2 istotnie indukuje produkcję IgG-S i IgA-S podczas gdy nie wykazano żadnej różnicy między pacjentami zaszczepionymi i nieszczepionymi w wykrywaniu IgG-N. Ciekawe jest także, że nie wykazaliśmy korelacji między przebyłym zakażeniem COVID-19 i poziomem przeciwciał przeciwko białkom S i N w grupie badanej. Co więcej, przedstawione badanie nie wykazały żadnego związku pomiędzy zdolnością do wytwarzania przeciwciał przeciwko białku S, a rodzajem stosowanego leczenia modyfikującego DMT, w tym fumanem dimetylu, interferonem beta i octanem glatirameru. Do tej pory nie przeprowadzono takiej analizy syntezy przeciwciał anty-SARS-CoV-2 w północno-wschodniej Polsce, a aktualna literatura nie dostarcza danych na temat obecności przeciwciał przeciwko białkom N i S w innych populacjach pacjentów z SM. Niniejsze badania jednoznacznie wykazały, że pacjenci z SM leczeni DMT są zdolni do wytwarzania przeciwciał przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Wykazaliśmy także, że częstość zachorowania na COVID-19 jest niższa niż w populacji ogólnej, ale jest to prawdopodobnie efekt bardziej rygorystycznego trybu życia i mniejszej ilości kontaktów interpersonalnych u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

Niestety schorzeniom neurologicznym, w tym SM często towarzyszy także depresja. W związku z powyższym w maju 2023 roku wraz z panią Profesor Barbarą Mroczo rozpoczęłam również

współpracę z Kliniką Psychiatrii UMB i USK w Białymstoku. Badania mają na celu ocenę syntezy przeciwciał anty-SARS-CoV-2 u pacjentów cierpiących na depresję oraz wpływu przebytej infekcji koronawirusem na rozwój depresji.

Metaloproteiny w wybranych schorzeniach urologicznych

W roku 2020 rozpoczęłam współpracę naukową z dr. n. med. Jackiem Kudelskim z Kliniki Urologii UMB i USK oraz pracownikami Zakładu Biochemii Lekarskiej UMB. Owocem tej współpracy są badania z zakresu: oznaczeń wybranych metaloproteinaz macierz zewnątrzkomórkowej (MMPs) u pacjentów z rakiem pęcherza: „*Enhanced expression but decreased specific activity of matrix metalloproteinase 10 (MMP-10) in comparison with matrix metalloproteinase 3 (MMP-3) in human urinary bladder carcinoma*” (Kudelski J, Młynarczyk G, Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B, Darewicz B, Bruczko-Goralewska M, Sobolewski K, Romanowicz L. **J Clin Med.** 2021 Aug 19;10(16):3683), „*The significance of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and metalloproteinase 2 (MMP-2) in urinary bladder cancer*” (Kudelski J, Tokarzewicz A, Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B, Chłosta P, Bruczko-Goralewska M, Mitura P, Młynarczyk G. **Biomedicines.** 2023 Mar 20;11(3):956) oraz oznaczeń MMP-2 i MMP-3 w tkankach pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem nerki: „*Higher content but not activity of stromelysin-2 (MMP-10) in comparison to stromelysin-1 (MMP-3) in human renal carcinoma*” (Kudelski J, Młynarczyk G, Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B, Darewicz B, Bruczko-Goralewska M, Romanowicz L. **Int J Environ Res Public Health.** 2022 Oct 2;19(19):12613).

Celem badań była m.in. ocena ekspresji i aktywności metaloproteinaz należących do grupy stromelizyn w tkankach pacjentów z rakiem pęcherza i nerki. Zawartość i aktywność MMPs oceniliśmy stosując techniki ELISA oraz Western blot. W pierwszej z ww. publikacji wykazaliśmy, iż MMP-3 (stromelizyna-1) i MMP-10 (stromelizyna-2) występują w wielkocząsteczkowych kompleksach w ludzkim pęcherzu moczowym, zarówno w tkankach zdrowych jak i nowotworowych. Okazało się jednak, że zawartość MMP-3 była większa, a MMP-10 mniejsza w tkance zdrowej w porównaniu do tkanki nowotworowej. Zawartość MMP-10 przeważała jednak nad MMP-3 zarówno w tkance zdrowej jak i nowotworowej. Co ciekawe, tkanki raka pęcherza moczowego o niskim stopniu złośliwości (low-grade) charakteryzowały się wzrostem aktualnej i właściwej aktywności MMP-3 i MMP-10, przy czym aktywność właściwa MMP-3 wydawała się być wyższa niż MMP-10. Warto również podkreślić, że wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania raka pęcherza moczowego mierzona aktywność malała. Wspomniane różnice między wynikami dla obu metaloproteinaz mogą wskazywać na ich przeciwstawny udział we wzroście, jak również różnicowaniu nowotworu. Biorąc pod uwagę różnice występujące w badanych tkankach, zdolność katalityczna enzymów prawdopodobnie wzrasta w raku pęcherza moczowego o niskim stopniu złośliwości, a komórki nowotworowe guza pęcherza moczowego o wysokim stopniu złośliwości (high-grade) mogą wyciszać aktywność MMPs. Można również

podjeżdżać, że znacznie więcej cząsteczek MMP-10 występowało w postaci aktywnej w porównaniu z MMP-3. Na podstawie ujawnionych różnic w aktywności obu stromelizyn stwierdziliśmy ich przeciwstawny udział w różnych fazach przebudowy ECM oraz w różnych stadiach rozwoju nowotworu pęcherza.

Kolejne dwie metaloproteinazy, które przebadaliśmy w tkankach raka pęcherza to MMP-2 i MMP-9 należące do grupy żelatynaz. Wykazaliśmy, że obie MMPs były obecne w wysoko- i niskocząsteczkowych kompleksach zarówno w tkankach zdrowych i raka pęcherza moczowego. Analiza zawartości badanych MMPs oceniana we wszystkich możliwych formach tj. utajonej, aktywnej i związanej z tkankowymi inhibitorami MMPs (TIMPs) wykazała, że zawartość MMP-9 była zwiększona w porównaniu z MMP-2, szczególnie w tkance nowotworowej high-grade. Podobna jednak zawartość MMP-2 i MMP-9 w tkance niezmięnionej nowotworowo świadczy o tym, że oba enzymy mogą mieć identyczne znaczenie w odbudowie ECM w zdrowym pęcherzu moczowym. Również aktywność aktualna MMP-9 była najwyższa w raku o wysokim stopniu złośliwości. Z kolei, aktywność właściwa obu MMPs była najwyższa w raku niskim stopniu złośliwości, lecz aktywność MMP-9 była wyższa w porównaniu z MMP-2. Stąd też aktywność enzymatyczną w większym stopniu wywiera prawdopodobnie żelatynaza B (MMP-9) niż żelatynaza A (MMP-2). Podobnie do MMP-3 oraz MMP-10, wydaje się, że również MMP-2 i MMP-9 mają odmienny udział w przebudowie ECM na różnych etapach rozwoju nowotworu. Na podstawie uzyskanych wyników obu pomiarów, tj. zawartości obu postaci żelatynaz z ich specyficzną aktywnością w różnych tkankach, można stwierdzić, że w tkankach low-grade oba enzymy występują w postaci aktywnej, natomiast w tkankach high-grade występują w postaci utajonej lub ograniczonej przez TIMPs. Co więcej, nasza obserwacja połączona z wynikami wszystkich pomiarów wykonanych dla MMP-2 i MMP-9 w tkankach wskazuje, że MMP-9 jest bardziej zaangażowana we wzrost i rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych pęcherza moczowego niż MMP-2. W związku z tym wydaje się, że to jednak MMP-9 ma większą użyteczność kliniczną niż MMP-2 jako potencjalna opcja terapeutyczna i biomarker diagnostyczny raka pęcherza moczowego.

Kontynuacją wcześniejszych badań nad stromelizynami była ocena ekspresji i aktywności obu stromelizyn w nowotworach nerki człowieka. Badania wykazały, że zarówno stadium G2 jak i G3 zaawansowania nowotworu objawia się istotnie niższą zawartością obu enzymów w porównaniu z odpowiednią tkanką kontrolną. Stwierdziliśmy również, że zarówno tkanka kontrolna ludzkiej nerki jak i objęta procesem nowotworowym zawierały znacznie mniejszą ilość MMP-3 niż MMP-10. Dowodzi to, że stromelizyna-2 ma prawdopodobnie większe znaczenie w przebudowie macierzy pozakomórkowej. Ponadto wyniki te mogą sugerować, że nowotworowe i prawidłowe komórki nerek różnią się wydzielaniem stromelizyn na zewnątrz komórki. Wydaje się, że poziom syntezy stromelizyny-1 może być podobny dla obu rodzajów komórek, jednak komórki nowotworowe ograniczają wydzielanie MMP-3 do przestrzeni pozakomórkowej. Z drugiej strony zawartość

stromelizyny-2 jest na wyższym poziomie w porównaniu z MMP-3 w komórkach nowotworowych, ale nadal jest znacząco niższa w porównaniu z tkanką kontrolną. Dlatego też można przypuszczać, że komórki nowotworowe nie ograniczają wydzielania MMP-10 do przestrzeni pozakomórkowej w tak dużym stopniu jak MMP-3. Wykazaliśmy także, że MMP-10 jest około trzy razy bardziej aktywna w zdrowej nerce człowieka niż MMP-3. Aktywność aktualna obu MMPs spadała wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania choroby i w przeciwieństwie do aktywności aktualnej, MMP-3 wykazuje znacznie wyższą aktywność właściwą niż MMP-10 zarówno w tkankach kontrolnych, jak i nowotworowych. Liczne różnice w uzyskanych wynikach mogą wskazywać, że wartości właściwej aktywności istotnie różnią się w zależności od stopnia i fazy procesu kancerogennego. Znajomość udziału stromelizyn w degradacji ECM może być istotna dla zrozumienia patomechanizmu rozwoju raka nerki. Wydaje się więc, że nasze badanie przedstawia bardzo ważne wyniki dla raka nerkowokomórkowego, a różnice w zawartości i działaniu obu stromelizyn pokazują, że oba enzymy mogą być potencjalnymi biomarkerami wczesnego wykrywania i czynnikami prognostycznymi nowotworu nerki.

Jestem także współautorem **13 prac przeglądowych** w większości indeksowanych czasopismach z listy filadelfijskiej, które są wynikiem moich zainteresowań naukowych dotyczących przede wszystkim nieinwazyjnych markerów diagnostycznych chorób wątroby, wolnych łańcuchów lekkich jako biomarkerów wybranych schorzeń o podłożu immunologicznym, poszukiwania nowych markerów kleszczowego zapalenia mózgu, czy zastosowania oznaczeń chemokin w rutynowej praktyce klinicznej. Najnowsze prace opisują rolę neuropiliny-1 i jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF kappa B w patogenezie rozwoju COVID-19. **Wszystkie prace przeglądowe napisane po uzyskaniu tytułu doktora nauk medycznych opublikowane zostały w czasopismach z listy filadelfijskiej.**

- 1) **Gudowska, M;** Chrostek L. *Galektyna-3 w diagnostyce laboratoryjnej*. Polski Mercuriusz Lekarski 2014: 37, 222, s. 348-352.
Punktacja MEiN: 7.
- 2) **Gudowska, M;** Głazewska, EK; Sobolewska, M; Bednarczyk, M. *Modelowanie i kształtowanie ciała w gabinecie kosmetycznym*. Polish Journal of Cosmetology 2015: 18, 2, s. 96-100.
Punktacja MEiN: 7.
- 3) Sobolewska, M; Głazewska, EK; **Gudowska, M;** Bednarczyk, M. *Autologiczny przeszczep tkanki tłuszczowej*. Polish Journal of Cosmetology 2015: 18, 2, s. 110-112.
Punktacja MEiN: 7.
- 4) **Gudowska, M;** Cylwik, B; Chrostek, L. *The role of serum hyaluronic acid determination in the diagnosis of liver fibrosis*. Acta Biochimica Polonica 2017 : 64, 3, s. 451-457.
Impact Factor: 1,239, Punktacja MEiN: 15.

- 5) **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B. *Free light chains as a novel diagnostic biomarker of immune system abnormalities in multiple sclerosis and HIV infection.* BioMed Research International 2019, Article ID 8382132, 7pp.
Impact Factor: 2,276 , Punktacja MEiN: 70.
- 6) **Gudowska-Sawczuk, M;** Kudelski, J; Mroczko, B. *The role of chemokine receptor CXCR3 and its ligands in renal cell carcinoma.* International Journal of Molecular Sciences, 2020 : 21, 22, 11 pp, Article ID 8582.
Impact Factor: 5,924, Punktacja MEiN: 140.
- 7) **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B. *Chemokine ligand 13 (CXCL13) in neuroborreliosis and neurosyphilis as selected spirochetal neurological diseases: a review of its diagnostic significance.* International Journal of Molecular Sciences 2020 : 21, 8, 14 pp., Article ID 2927.
Impact Factor: 5,924, Punktacja MEiN: 140.
- 8) **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B. *The role of neuropilin-1 (NRP-1) in SARS-CoV-2 infection: review.* Journal of Clinical Medicine 2021 : 10, 13, 8 pp, Article ID 2772.
Impact Factor: 4,964, Punktacja MEiN: 140.
- 9) **Gudowska-Sawczuk, M,** Mroczko, B. *Selected biomarkers of tick-borne encephalitis: a review.* International Journal of Molecular Sciences 2021 : 22, 19, 16 pp, Article ID 10615.
Impact Factor: 6,208, Punktacja MEiN: 140.
- 10) **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B. *What is currently known about the role of CXCL10 in SARS-CoV-2 infection?* International Journal of Molecular Sciences 2022 : 23, 7, 13 pp, Article ID 3673.
Impact Factor: 6,208, Punktacja MEiN: 140.
- 11) **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B. *The role of Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) in development and treatment of COVID-19: review.* International Journal of Molecular Sciences 2022 : 23, 9, 13 pp, Article ID 5283.
Impact Factor: 6,208, Punktacja MEiN: 140.
- 12) Bazylewicz, M; **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B; Kochanowicz, J; Kułakowska, A. *COVID-19: the course, vaccination and immune response in people with multiple sclerosis: systematic review.* International Journal of Molecular Sciences 2023 : 24, 11, 13 pp., Article ID: 9231.
Impact Factor: 6,208, Punktacja MEiN: 140.
- 13) **Gudowska-Sawczuk, M;** Mroczko, B. *Free light chains κ and λ as new biomarkers of selected diseases.* International Journal of Molecular Sciences 2023 : 24, 11, 17 pp., Article ID: 9531.
Impact Factor: 6,208, Punktacja MEiN: 140.

Jestem również współautorem **sześciu rozdziałów w monografiach naukowych:**

- 1) **Gudowska M**, Zajkowska M, Głazewska EK, Chrostek L. Skuteczność wybranych nieinwazyjnych markerów w wykrywaniu alkoholowej marskości wątroby. Rozdział w Monografii pt.: „Postęp medycyny w leczeniu i ochronie zdrowia. Tom II” ISBN 978-83-65598-18-9. Str. 115-123.
- 2) Głazewska EK, **Gudowska M**, Zajkowska M. MMP-9 i M-CSF jako biomarkery raka piersi. Rozdział w Monografii pt. „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce Choroby, nowotwory i wirusy” ISBN (wydanie online) 978-83-65362-61-2. Str. 43-47.
- 3) Zajkowska M, Głazewska EK, **Gudowska M**. VEGF i MMP-2 jako markery mało zaawansowanego raka piersi. Rozdział w Monografii pt. „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce Choroby, nowotwory i wirusy” ISBN (wydanie online) 978-83-65362-61-2. Str. 32-38.
- 4) Zajkowska M, **Gudowska M**, Głazewska EK. Biomarkery nowotworowe kluczem do wczesnej diagnostyki raka piersi. Rozdział w Monografii pt. „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce Choroby, nowotwory i wirusy” ISBN (wydanie online) 978-83-65362-61-2. Str. 39-42.
- 5) Głazewska EK, **Gudowska M**, Zajkowska M, Ławicki S. M-CSF i MMP-2 jako biomarkery raka piersi. Rozdział w Monografii pt.: „Najnowsze badania z zakresu chorób nowotworowych” ISBN 978-83-65598-15-8. Str. 32-41.
- 6) Zajkowska M, Głazewska EK, **Gudowska M**, Ławicki S. VEGF i MMP-9 jako markery małozaawansowanego raka piersi. Rozdział w Monografii pt.: „Medycyna i nauki pokrewne – wybrane zagadnienia” ISBN 978-83-65598-36-3. Str. 177-186.

5.3. Badania naukowe realizowałam i realizuję we współpracy z jednostkami:

- Uniwersytet Medyczny w Białymstoku/ Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku:
 - Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii
 - II Klinika Chirurgii Ogólnej i Gastroenterologicznej
 - Klinika Reumatologii i Chorób Wewnętrznych
 - Zakład Medycyny Estetycznej
 - Zakład Diagnostyki Chorób Neurozwyrodnieniowych
 - Klinika Neurologii
 - Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji
 - II Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy
 - Szpital Tymczasowy
 - Klinika Urologii

- Zakład Biochemii Lekarskiej
- Klinika Psychiatrii

- Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny (UDSK) w Białymstoku:
 - Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej;
 - Klinika Pediatrii, Reumatologii, Immunologii i Chorób Metabolicznych Kości

- Szpital Psychiatryczny w Choroszczycy:
 - Oddział detoksykacji alkoholowej

- Novencia Pharma, Warszawa, Polska

- Synevo, Laboratoria Medicover, Warszawa, Polska

- Centrum Medyczne REVITA, Białystok, Poland

- Uniwersytet Medyczny w Lublinie:
 - Katedra i Klinika Urologii i Onkologii Urologicznej

W załączniku nr 8a przedstawiam zaświadczenie potwierdzające współpracę.

- Medical University of Vienna, Austria oraz Klinika Urologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
 - *Współpraca międzynarodowa*

W 2022 roku wraz z dr n. med. Jackiem Kudelskim rozpoczęliśmy współpracę naukową z Prof. dr n. med. Piotrem Chłosta z Department of Urology, Medical University of Vienna, Austria oraz Katedra i Klinika Urologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Celem naszej współpracy jest **próba zrozumienia patomechanizmu oraz poszukiwania markerów diagnostycznych i prognostycznych raka pęcherza moczowego.**

W ramach dotychczasowej działalności powstały następujące publikacje naukowe potwierdzające współpracę:

- 1) Kudelski J, Tokarzewicz A, **Gudowska-Sawczuk M**, Mroczko B, Chłosta P, Bruczko-Goralewska M, Mitura P, Młynarczyk G. The Significance of Matrix Metalloproteinase 9 (MMP-9) and Metalloproteinase 2 (MMP-2) in Urinary Bladder Cancer. *Biomedicines*. 2023 Mar 20;11(3):956.

Impact Factor: 4,757; Punktacja MEiN: 100

- 2) **Gudowska-Sawczuk M**, Kudelski J, Olkowicz, M, Młynarczyk G, Chłosta P, Mroczo B. The clinical significance of serum free light chains in bladder cancer. *Journal of Clinical Medicine* 2023, 12(9), 3294 – składowa nieniejszego osiągnięcia naukowego.
Impact Factor: 4,964; Punktacja MEiN: 140

W załączniku nr 8b przedstawiam zaświadczenie potwierdzające współpracę.

- The Binging Site, Birmingham, United Kingdom oraz Biokom Diagnostyka, Janki, Polska
- Współpraca międzynarodowa

W 2019 roku wraz z Prof. dr hab. n. med. Barbarą Mroczo rozpoczęliśmy współpracę naukową z firmami **The Binging Site, Birmingham, United Kingdom oraz Biokom Diagnostyka, Janki, Polska**. Współpraca miała na celu przyznanie i realizację grantu naukowego na oznaczenie wolnych łańcuchów lekkich u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym oraz u pacjentów z innymi chorobami neurologicznymi. Ideą projektu była ocena przydatności diagnostycznej oznaczeń wolnych łańcuchów lekkich kappa (κ) i lambda (λ) w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, a tym samym poszukiwanie wczesnych wskaźników diagnostycznych tego schorzenia.

Współpraca prowadzona była/jest w oparciu o umowy na **2 granty zewnętrzne**:

1. **„Diagnostic usefulness of free light chains determination in multiple sclerosis and other neurological disorders”** – grant realizowany w latach 2019-2020, w którym pełniłam rolę **Wykonawcy projektu**. W ramach współpracy powstały dwie prace stanowiące niniejsze osiągnięcie:
 - 1) **Gudowska-Sawczuk M**, Tarasiuk J, Kułakowska A, Kochanowicz J, Mroczo B. Kappa Free Light Chains and IgG Combined in a Novel Algorithm for the Detection of Multiple Sclerosis. *Brain Sci.* 2020 May 27;10(6):324.
Impact Factor: 3,394; Punktacja MEiN: 100
 - 2) **Gudowska-Sawczuk M**, Czupryna P, Moniuszko-Malinowska A, Pancewicz S, Mroczo B. Free Immunoglobulin Light Chains in Patients with Tick-Borne Encephalitis: Before and after Treatment. *J Clin Med.* 2021 Jun 29;10(13):2922.
Impact Factor: 4,964; Punktacja MEiN: 140
2. **„Diagnostic value of kappa and lambda free light chains determinations in multiple sclerosis”** – grant realizowany od roku 2022 do chwili obecnej, w którym pełnię rolę **Głównego Wykonawcy projektu**.

Badania w ramach grantu są wciąż realizowane, a w związku z tym publikacje będące wynikiem powyższej współpracy są w trakcie przygotowania.

W załącznikach nr 8c-e przedstawiam zaświadczenia potwierdzające współpracę.

Powyższa współpraca z **The Binding Site** oraz **Biokom Diagnostyka sp. z o.o.** reprezentowana z ramienia **UMB** przeze mnie oraz **prof. dr hab. Barbarę Mroczko**, **prof. dr hab. Alinę Kulakowską** i **prof. Jana Kochanowicza** została nagrodzona w **grudniu 2022 roku** w konkursie „**Pomosty Przyszłości**”. „Pomosty Przyszłości” było pierwszym wydarzeniem w województwie podlaskim **promującym dobre wzorce współpracy na linii nauka-biznes**. Celem konkursu było podniesienie świadomości środowisk naukowych i biznesowych odnośnie korzyści płynących z obopólnej współpracy, a także pokazanie najlepszych praktyk i przykładów projektów, które powstały wspólnie i niosą za sobą korzyści dla gospodarki i przede wszystkim świata nauki.

W załączniku nr 8f zaświadczenie Prorektora ds. Nauki i Rozwoju UMB Prof. dr hab. Marcina Moniuszko o prowadzonych współpracach międzynarodowych i krajowych.

5.4. Wykaz projektów naukowych prowadzonych na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku

Byłam kierownikiem **7 projektów** oraz **współwykonawcą 37 grantów** statutowych finansowanych ze środków subwencji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

A. Kierownik projektów badawczych realizowanych na UMB:

1. **2015 rok - grant statutowy nr 154-07523F** - N-końcowy propeptyd prokolagenu typu III (PIIINP) w chorobach wątroby;
2. **2016 rok - grant statutowy nr N/ST/MN/16/002/2207** - N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PINP) i interleukina-6 (IL-6) w chorobach wątroby;
3. **2019 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/19/002/2207** - Wolne łańcuchy lekkie w stwardnieniu rozsianym;
4. **2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/003/2207** - Wolne łańcuchy lekkie w wybranych chorobach ośrodkowego układu nerwowego;
5. **2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/005/2207** - Rola wybranych cytokin oraz wolnych łańcuchów lekkich w chorobach o podłożu zapalnym;

6. **2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/001/2207** - Angiopoetyny, cytokiny oraz wolne łańcuchy lekkie a etiopatogeneza i przebieg wybranych chorób o podłożu zapalnym;
7. **2023 rok - grant statutowy nr B.SUB.23.378** - Rola wybranych białek oraz wolnych łańcuchów lekkich a patogeneza i przebieg wybranych chorób o podłożu zapalnym.

B. Współwykonawca projektów badawczych:

1. **2015 rok - grant statutowy nr 153-07528F** - Profil izoform transferyny w wirusowych zapaleniach wątroby;
2. **2015 rok - grant statutowy nr 153-07529F** - Kwas hialuronowy – marker zwłóknienia w chorobach wątroby;
3. **2015 rok - grant statutowy nr 153-20567F** - Profil izoform transferyny w chorobach trzustki;
4. **2016 rok - grant statutowy nr N/ST/MN/16/001/2230** - Ocena stężeń MMP-9 w osoczu chorych na łuszczycę przed i po terapii promieniami UV;
5. **2016 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/16/002/2207** - Profil izoform transferyny w chorobach wątroby;
6. **2016 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/16/003/2207** - Profil izoform transferyny w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS);
7. **2016 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/16/001/2220** - Profil izoform transferyny w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów (MIZS);
8. **2017 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/17/004/2207** - Profil izoform transferyny w toczniu rumieniowatym układowym (SLE) i twardzinie układowej (SSc);
9. **2017 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/17/001/2207** - Nieinwazyjne biomarkery w diagnostyce alkoholowych chorób wątroby;
10. **2017 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/17/001/2220** - Profil izoform transferyny u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS) leczonych lekami biologicznymi;
11. **2017 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/17/008/2207** - Kwasy sjałowe w wirusowych zapaleniach wątroby;
12. **2017 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/17/005/2207** - Profil izoform i izoenzymów fosfatazy alkalicznej (ALP) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w wirusowych zapaleniach wątroby;
13. **2018 rok - grant statutowy nr - N/ST/ZB/18/009/2207** - Galektyna-3 w chorobach reumatycznych;
14. **2018 rok - grant statutowy nr - N/ST/ZB/18/003/2207** - Profil izoenzymów i izoform fosfatazy alkalicznej (ALP) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w nadużywaniu alkoholu i alkoholowej marskości wątroby;

15. **2018 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/18/002/2207** - Ocena regresji włóknienia wątroby u chorych po eradykacji HCV na podstawie analizy wybranych nieinwazyjnych metod oceny włóknienia wątroby;
16. **2018 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/18/002/2220** - Kwas hialuronowy w chorobach reumatycznych;
17. **2019 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/19/003/1198** - Znaczenie wybranych białek specyficznych w rozwoju chorób cywilizacyjnych;
18. **2019 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/19/004/2207** - Znaczenie wybranych biomarkerów w rozwoju raka jelita grubego;
19. **2019 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/19/001/2207** - Znaczenie wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w rozwoju chorób nowotworowych;
20. **2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/003/1198** - Znaczenie wybranych biomarkerów w diagnostyce chorób cywilizacyjnych;
21. **2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/001/1198** - Ocena stężenia oraz przydatności diagnostycznej wybranych chemokin oraz ich receptorów u pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego;
22. **2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/002/2207** - Rola wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w diagnostyce pacjentów z chorobami nowotworowymi;
23. **2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/001/2207** - Znaczenie wybranych biomarkerów w rozwoju raka jelita grubego. (kontynuacja subwencji z 2019 – rozszerzona o nowe parametry);
24. **2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/002/3324** - Rola bekliny 1 w rozwoju raka żołądka;
25. **2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/002/1144** - Analiza obecności przeciwciał IgG i IgA przeciw wirusowi SARS-CoV-2 u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym;
26. **2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/001/1198** - Rola wybranych białek specyficznych w diagnostyce chorób cywilizacyjnych;
27. **2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/003/1198** - Rola wybranych chemokin i ich specyficznych receptorów w rozwoju raka żołądka;
28. **2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/004/1198** - Ocena stężenia oraz przydatności diagnostycznej wybranych chemokin oraz ich receptorów u pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego;
29. **2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/003/2207** - Rola wybranych białek z rodziny adamalizyn w rozwoju nowotworów przewodu pokarmowego;
30. **2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/004/1198** - Ocena stężenia oraz przydatności diagnostycznej białek angipoetynopodobnych u pacjentów z nowotworami przewodu pokarmowego;

31. **2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/004/2207** - Znaczenie białek ADAMs w wybranych nowotworach przewodu pokarmowego;
32. **2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/003/1198** - Znaczenie wybranych białek specyficznych w diagnostyce i prognozowaniu przebiegu chorób cywilizacyjnych;
33. **2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/001/1144** - Analiza odpowiedzi immunologicznej i występowania odczynu poszczepiennego po szczepieniu przeciwko SARS-CoV-2 u chorych na stwardnienie rozsiane;
34. **2023 rok - grant statutowy nr B.SUB.23.347** - Ocena wybranych parametrów odpowiedzi humoralnej i odporności komórkowej przeciw wirusowi SARS-CoV-2 u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym leczonych lekami modyfikującymi przebieg choroby, po 3 latach trwania pandemii;
35. **2023 rok - grant statutowy nr B.SUB.23.500** - Rola badań proteomicznych we wczesnej diagnostyce chorób cywilizacyjnych;
36. **2023 rok - grant statutowy nr B.SUB.23.352** - Ocena przydatności oznaczania białka Tau i kopeptyny w chorobie COVID-19 oraz zespole post-COVID-19 w praktyce klinicznej;
37. **2023 rok - grant statutowy nr B.SUB.23.376** - Rola wybranych białek specyficznych w rozwoju nowotworów przewodu pokarmowego.

Zaświadczenie o udziale w projektach prac statutowych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku znajduje się w załączniku nr 9.

5.5. Aplikacje w konkursach Narodowego Centrum Nauki o finansowanie działań naukowych

2022 – złożenie do konkursu Narodowego Centrum Nauki MINIATURA 6 wniosku o finansowanie działania naukowego pt. „*Profil α -chemokin w przebiegu zakażenia SARS-CoV-2*”.

2023 – złożenie do konkursu Narodowego Centrum Nauki MINIATURA 7 wniosku o finansowanie działania naukowego pt. „*Czy profil α -chemokin zmienia się w zależności od stadium zaawansowania COVID-19?*” – wniosek w trakcie oceny

Zaświadczenie o aplikacji w konkursach w Załączniku nr 10.

5.6. Członkostwo w komitetach redakcyjnych czasopism międzynarodowych

2022-2023 - Guest Editor numeru specjalnego pt. "**Early Biomarkers of Cancer: Diagnosis and Progression**" w czasopiśmie **Cells (IF= 7,666, MEiN=140)**

2023-obecnie - Guest Editor numeru specjalnego pt. **"The end of COVID-19 pandemic - what is currently known and what could be useful four years ago?"** w czasopiśmie **Biomedicines** (IF= 4,757, MEiN=100)

5.7. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych

Cyklicznie recenzuję publikacje w międzynarodowych czasopismach naukowych z listy JCR. Czasopisma dla których recenzowałam manuskrypty to:

- Journal of Clinical Medicine (IF=4,964, MEiN=140)
- International Journal of Molecular Sciences (IF=6,208, MEiN=140)
- Biomolecules (IF=6,064, MEiN=100)
- Life (IF=3,253, MEiN=70)
- Journal of Personalized Medicine (IF=3,508, MEiN=70)
- Arabian Journal of Chemistry (IF=6,212, MNiE=70)
- Diagnostics (IF=3,992, MEiN=70)
- Medicina (IF=2,948, MEiN: 40)
- Venereology

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Udział w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji

2016 - II Ogólnopolska Konferencja S Profil izoform transferyny w chorobach wątroby tudentów Medycyny Laboratoryjnej i Młodych Diagnostów „Wschodząca Diagnostyka”, Białystok 16.04.2016
- członek komitetu organizacyjnego

2016 - Międzynarodowa konferencja “11th Białystok International Medical Congress for Young Scientists” (BIMC), Białystok 5-7.05.2016
- członek komitetu organizacyjnego

2019 - Szkolenie pt. „Zdrowie kobiety – nowe trendy w diagnostyce i terapii zorganizowane w ramach obowiązku szkoleń ciągłych dla diagnostów laboratoryjnych, Białystok 05.09.2019
- członek komitetu naukowo-organizacyjnego

6.2. Prowadzenie zajęć ze studentami polsko- i anglojęzycznymi:

2013-obecnie – prowadzę wykłady, ćwiczenia, seminaria, fakultety ze studentami na:

Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, kierunku Analityka Medyczna, II rok, z przedmiotów:

- „*Diagnostyka laboratoryjna niepłodności*” (fakultet)

Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, kierunku Analityka Medyczna, III rok, z przedmiotów:

- „*Biochemia kliniczna*” (wykłady, ćwiczenia, seminaria)
- „*Chemia kliniczna*” (ćwiczenia, wykłady)

Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, kierunku Analityka Medyczna, IV rok, z przedmiotów:

- „*Biochemia kliniczna*” (wykłady, ćwiczenia, seminaria)
- „*Chemia kliniczna*” (ćwiczenia, wykłady)

Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, kierunku Analityka Medyczna, V rok, z przedmiotów:

- „*Systemy jakości i akredytacji laboratoriów*” (wykłady)
- „*Praktyczna nauka zawodu*” (ćwiczenia)

Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Nauczania w Języku Angielskim, III rok, z przedmiotów:

- „*Diagnostyka laboratoryjna*” (ćwiczenia)
- „*Laboratory Medicine*” (ćwiczenia)

Od roku 2022 sprawuję także opiekę nad studentami podczas wakacyjnych praktyk dla studentów kierunku Analityka Medyczna III r. w Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej.

Biorę także udział w popularyzacji diagnostyki laboratoryjnej podczas dni otwartych UMB w ramach Podlaskiego Festiwalu Nauki i Sztuki dla uczniów szkół ponadpodstawowych woj. podlaskiego.

Ponadto, jestem promotorem i recenzentem prac magisterskich realizowanych na UMB. Byłam promotorem trzech, a kolejne dwie prace magisterskie, w których jestem promotorem są zaplanowane do realizacji w roku akademickim 2023/2024.

6.3. Opiekun Koła Naukowego przy Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej UMB:

2019-obecnie – opiekun Koła Naukowego przy Zakładzie Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

6.4. Prowadzenie wykładów i ćwiczeń podczas kursów w ramach specjalizacji z Laboratoryjnej Diagnostyki Medycznej oraz szkoleń dla techników analityki medycznej

Regularnie od roku 2019 prowadzę wykłady i ćwiczenia na kursach specjalizacyjnych dla diagnostów laboratoryjnych:

- 1) Kurs specjalizacyjny „Badania laboratoryjne w stanach nagłych”** – Prowadzenie wykładów: *„Zaburzenia gospodarki węglowodanowej i diagnostyka ostrych powikłań cukrzycy”, „Diagnostyka laboratoryjna ostrych stanów zapalnych”, „Diagnostyka laboratoryjna stanów zagrożenia życia spowodowanych ostrymi zatruciami”, „Stany nagłe w alergologii”* oraz ćwiczeń *„Badania laboratoryjne we wstrząsie anafilaktycznym”*.
- 2) Kurs specjalizacyjny „Zastosowanie technik immunochemicznych w oznaczeniach hormonów i markerów białkowych”** – Prowadzenie wykładu *„Wpływ zmian narządowych na wyniki badań hormonalnych”*.
- 3) Kurs specjalizacyjny „Laboratoryjna diagnostyka narządowa w świetle rozwoju wiedzy medycznej i technik badawczych”** – Prowadzenie wykładów *„Diagnostyka komponentowa alergii”, „Badanie płynu owodniowego”* oraz *„Wolne łańcuchy lekkie i pary łańcuchów ciężki/lekki jako nowe biomarkery w diagnostyce laboratoryjnej”*.

6.5. Opiekun i kierownik specjalizacji z Laboratoryjnej Diagnostyki Medycznej

2019 – obecnie - kierownik 4 specjalizacji z laboratoryjnej diagnostyki medycznej

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

7.1. Otrzymane nagrody

UMB:

1. Studia doktoranckie:

Przez **cztery lata** z rzędu już od pierwszego roku studiów doktoranckich otrzymywałam **stypendium na dofinansowanie zadań projakościowych**, które przysługuje dla nie więcej niż 30% najlepszych doktorantów na poszczególnych latach studiów doktoranckich

2. Od momentu zatrudnienia na UMB w roku 2019 otrzymałam 2 indywidualne nagrody naukowe Jego Magnificencji (JM) Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku:

- **I stopnia** – za osiągnięcia naukowe w roku 2021
- **II stopnia** – za osiągnięcia naukowe w roku 2020

Pozostałe:

1. Nagroda w III Ogólnopolskim konkursie streszczeń Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej oraz Fundacji Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej – **stypendium wyjazdowe na 22. Międzynarodowy Kongres Chemii Klinicznej 2014 w Stambule.**
2. Nagroda w Ogólnopolskim konkursie Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej oraz Fundacji Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej – **stypendium wyjazdowe na 4. Kongres EFLM-UEMS „Laboratory Medicine at the Clinical Interface” w Warszawie.**
3. **II miejsce w konkursie prac prezentowanych:** II Ogólnopolska Konferencja Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Młodych Diagnostów „Wschodząca Diagnostyka”, Białystok 18.04.2015
4. **II miejsce w konkursie prac prezentowanych:** III Ogólnopolska Konferencja Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Młodych Diagnostów „Wschodząca Diagnostyka”, Białystok 16.04.2016.

5. **I miejsce** w konkursie prac prezentowanych na organizowanych przez Polskie Towarzystwo Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych, Polskie Towarzystwo Hepatologiczne i MSD XIX Warsztatach Hepatologicznych „*Via therapeutica – in decursu*” w Józefowie. **Stypendium wyjazdowe na “International Liver Congress - EASL 2015” w Wiedniu, 2015.**
6. Uzyskanie **stypendium Ministra Zdrowia dla wybitnych doktorantów na rok 2016/2017.**
7. Nagroda zespołowa **Ministra Zdrowia za znaczące osiągnięcia w zakresie działalności naukowej w latach 2019-2020.**
8. Laureatka konkursu „**Pomosty Przyszłości**” w kategorii „Pomost nauki do biznesu dla osoby”, **2022.**

7.2. Udział w kursach, szkoleniach zawodowych, konferencjach naukowo-szkoleniowych

W celu podwyższenia swoich kompetencji naukowych jak i zawodowych regularnie biorę udział w licznych kursach i szkoleniach.

Od 2013 – cykliczne *posiedzenia naukowo-szkoleniowe PTDL*

05.09.2013 – posiedzenie naukowo-szkoleniowe „*DiagKompas – polityka przejrzystego postępowania*”

17.04.2014 – konferencja naukowa „*Wczesna diagnostyka i leczenie chorób neurozwyrodnieniowych*”

04.11.2014 – spotkanie naukowo-szkoleniowe „*Aspekty diagnostyczne i epidemiologiczne w zakażeniach wirusem EBV (Ebola)*”

02-05.02.2015 - kurs specjalizacyjny „*Badania laboratoryjne w stanach nagłych*”

06-07.02.2015 – konferencja naukowa „*Diagnostyka laboratoryjna w Polsce – historia, terażniejszość, przyszłość*”

13-15.04.2015 - kurs specjalizacyjny „*Zastosowanie technik immunochemicznych w oznaczeniach hormonów i markerów białkowych*”

22.04.2015 – sympozjum „*Meeting the needs of the diverse hepatitis C patient population*”

22-26.04.2015 – kongres *“The international liver congress 2015”*

14-16.09.2015 - kurs specjalizacyjny *„Organizacja, wprowadzanie i utrzymywanie jakości”*

20.10.2015 – spotkanie naukowo-szkoleniowe *„Problemy oporności bakterii na antybiotyki w aspekcie klinicznym i diagnostycznym”*

08-11.02.2016 - kurs specjalizacyjny *„Diagnostyka laboratoryjna niedokrwistości i hematologicznych zespołów rozrostowych”*

13-15.06.2016 - kurs specjalizacyjny *„Diagnostyka laboratoryjna wrodzonych i nabytych zaburzeń hemostazy”*

19.09-21.09.2016 – kurs specjalizacyjny *„Badania układu odpornościowego”*

22.05-09.06.2017 - kurs specjalizacyjny *„Laboratoryjna diagnostyka narządowa w świetle rozwoju wiedzy medycznej i technik badawczych”*

04-07.04.2017 - kurs specjalizacyjny *„Techniki biologii molekularnej”*

05.09.2019 – udział w szkoleniu *„Zdrowie kobiety – nowe trendy w diagnostyce i terapii”*

10.10.2019 – udział w kursie *„Jesiennie spotkania z diagnostyką laboratoryjną”*

30.07.2020 – szkolenie *„Korupcja w administracji publicznej”*

08.09.2020 – szkolenie *„Zasady ochrony danych osobowych w Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku zgodnie z RODO”*

20.10.2020 – szkolenie *„Metody nierekomendowane w diagnostyce nadwrażliwości pokarmowej”*

03-05.12.2020 – kongres Polskiego Towarzystwa Lipidologicznego

25.02.2021 – szkolenie *„Czy wiesz, że są różne CCD?”*

06-07.04.2021 – szkolenie dla fizjoterapeutów, farmaceutów i diagnostów laboratoryjnych prowadzących szczepienia ochronne przeciwko COVID-19

16.04.2021 – szkolenie dla fizjoterapeutów, farmaceutów i diagnostów laboratoryjnych prowadzących badania kwalifikacyjne w celu wykluczenia przeciwwskazań do wykonania szczepienia przeciwko COVID-19

27.05.2021 – webinarium *„Dieta w terapii zaburzeń lipidowych”*

13.10.2021 – symposium naukowe *„COVID-19: breakthrough infections – badania odporności w Polsce – nowe warianty”*

20.11.2021 – konferencja naukowo-szkoleniowa „*Postępy w diagnostyce chorób autoimmunologicznych. Późne powikłania po COVID-19. Aktualności w diagnostyce reumatologicznej – rekomendacje i zalecenia eksperckie*”

03-05.12.2021 – kongres Polskiego Towarzystwa Lipidologicznego

10.01.2022 – posiedzenie naukowo-szkoleniowe „*Dezynfekcja*”

10.01.2022 – posiedzenie naukowo-szkoleniowe „*Zakażenia płuc szpitalne i pozaszpitalne*”

10.01.2022 – posiedzenie naukowo-szkoleniowe „*Diagnostyka molekularna – czy tylko SARS? Profilaktyka i diagnostyka zakażeń wirusowych, bakteryjnych i grzybiczych*”

13.01.2022 – sympozjum naukowe „*Szczepienia przeciw COVID-19 u dzieci w opinii wakcynologa*”

17.02.2022 – webinarium „*The role of anti-PLA2R and other biomarkers in the diagnosis of membranous nephropathy*”

09.03.2022 – szkolenie „*Cytometria przepływowa w diagnostyce nowotworów hematologicznych*”

19.02.2022 – posiedzenie naukowo-szkoleniowe „*Neuroimmunologia w praktyce*”

14.11.2022 – webinarium „*Measuring T-cell responses and its application to the study of SARS-CoV-2 infection and vaccination*”

19.01.2023 – szkolenie „*Rewolucja w diagnostyce raka szyjki macicy w Polsce*”

17-18.02.2023 – konferencja naukowo-szkoleniowa „*Stare i nowe patogeny – aktualne problemy*”

13.04.2023 – szkolenie z zakresu prawidłowej obsługi i konserwacji analizatora parametrów krytycznych ABL835 FLEX oraz unikania błędów przedanalizacyjnych w badaniach gazometrycznych

16.03.2023 – webinarium „*Dystrybucja monocytów (MDW) jako wczesny marker sepsy a inne wskaźniki stanu zapalnego*”

22.06.2023 – szkolenie „*STI - Choroby przenoszone drogą płciową - "Wstydlivy problem" poza kontrolą*”

7.3. Inne ważne

2017- obecnie – żona

2018 – obecnie – mama Laury

Monika Gudowska-Sawczuk
(podpis wnioskodawcy)