

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko: Marzena Tylicka

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

2009 – ukończenie wyższych studiów dziennych (jednolite studia magisterskie) na kierunku Chemia na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Tytuł pracy magisterskiej „Oznaczenie flawonoidów z zastosowaniem HPLC i detekcji chemiluminescencyjnej.” Promotor pracy magisterskiej: prof. dr hab. Anatol Kojło (Zakład Chemii Analitycznej, Instytut Chemii, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Uniwersytet w Białymstoku).

2013 – ukończenie studiów doktoranckich na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB), uzyskanie stopnia naukowego doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna, nadany uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 11.09.2013 r. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Aktywność proteasomów w osoczu dzieci z raną oparzeniową umiarkowanej wielkości”. Promotor w przewodzie doktorskim: prof. dr hab. Wojciech Dębek (Klinika Chirurgii i Urologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku), recenzenci: dr hab. Małgorzata Wolańska (Zakład Biochemii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku) oraz prof. dr hab. Anna Piaseczna-Piotrowska (Klinika Chirurgii, Urologii Dziecięcej i Transplantologii, Instytut „Centrum Zdrowia Matki Polki” w Łodzi) (Załącznik nr 2).

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

UNIwersytet Medyczny w Białymstoku

Październik 2022- obecnie- etat adiunkta badawczo-dydaktycznego w Zakładzie Biofizyki na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Nauczania w Języku Angielskim.

Październik 2020-Maj 2022-zwolnienie lekarskie i urlop macierzyński.

2013-2022 – etat specjalisty naukowo-technicznego w Zakładzie Biofizyki na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Nauczania w Języku Angielskim (UMB).

Marzec 2015-Październik 2015- urlop macierzyński.

2009-2013 – doktorantka w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB).

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 2020 r. poz. 85 z późn. zm.).

A. Tematyka badawcza publikacji wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego

Publikacje wchodzące w skład głównego osiągnięcia przedstawiają wyniki przeprowadzonych eksperymentów, które miały na celu ocenę aktywności chymotrypsynopodobnej (*ChT-L*) proteasomów 20S (*P 20S*), stężenia wybranych cytokin, stężenia białek z grupy DAMPs (*DAMPs*) oraz stężenia mózgowego czynnika neurotroficznego BDNF (*BDNF*). Badania te prowadzone były u dzieci z urazami głowy, kończyn górnych oraz u dzieci, u których do urazu dochodziło na skutek zabiegu operacyjnego.

Ekspertyzy były realizowane we współpracy z Kliniką Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, Kliniką Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku oraz Zakładem Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Zasadność oceny wyżej wymienionych markerów podkreślają doniesienia literaturowe, które dostarczają cennych informacji o ich zaangażowaniu w różne stany patologiczne.

Proteasomy (*P*) są multikatalitycznymi kompleksami proteolitycznymi, które odgrywają ważną rolę w regulacji procesów zachodzących w komórkach oraz są odpowiedzialne za degradację około 80-90% wszystkich białek wewnątrzkomórkowych. Proteasomy eukariotyczne występują w dwóch podstawowych formach: P 20S i P 26S, przy czym większość stanowią P20S. Proteasomy wykazują trzy główne aktywności: chymotrypsynopodobną (odpowiada za nią podjednostka $\beta 5$), trypsynopodobną (podjednostka $\beta 2$) i hydrolizująca wiązania peptydyloglutamyloze nazywaną również kaspazopodobną (podjednostka $\beta 1$). Odgrywają one kluczową rolę w regulacji wielu procesów zachodzących w komórkach, a ich nieprawidłowe działanie może być przyczyną wielu zaburzeń. Osłabienie wydolności układu proteasomalnego występuje w chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona czy ataksja rdzeniowo-mózdkowa, w przypadku zakażeń wirusami HIV, HBV, a także w chorobie Wilsona i niedokrwistości Fanconiego. Zwiększenie aktywności P następuje natomiast w stanach katabolicznych, towarzyszących głodzeniu, posocznicy czy chorobom immunologicznym, takim jak mukowiscydoza, niewydolność nerek, dziedziczne nadciśnienie nerkowe oraz w chorobach nowotworowych, takich jak rak płuc, okrężnicy, jajnika, nerki czy białaczka limfoblastyczna. Ponadto wzrost aktywności proteasomów obserwuje się w przypadku urazów, co jest związane z indukcją mięśniowych ligaz ubikwitynowych. W mechanizmie powstawania wielu chorób uczestniczy pośrednio NF- κ B, w którego aktywacji istotną rolę odgrywają proteasomy.

Nieprawidłowe działanie szlaku ubikwityna-proteasom może być przyczyną wielu chorób. System ubikwityna-proteasom jest odpowiedzialny za rozkład białek ważnych dla prawidłowego funkcjonowania komórek, w tym między innymi białek kodowanych przez onkogeny i geny supresorowe czy też białek biorących udział w odpowiedzi immunologicznej. Proteasomy biorą udział w degradacji

uszkodzonych białek, które są wytypowane przez komórkę w procesie ubikwitynacji. Proces ten jest odwracalny, a łańcuch poliubikwitynowy musi zostać usunięty przed wniknięciem substratu białkowego do komory proteolitycznej proteasomu. Odcięte łańcuchy są z kolei degradowane przez enzymy deubikwitynujące, z których do najważniejszych należą enzymy z grupy UCHs (*ubiquitin C-terminal hydrolases; C-końcowe hydrolazy ubikwityny*). Enzymy deubikwitynujące pełnią więc ważną rolę w regulacji szlaku ubikwityna-proteasom. Przeprowadzone do tej pory eksperymenty wykazały, że deubikwitynacja jest powiązana z pewnymi procesami patologicznymi, a **enzym deubikwitynujący karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 (UHL1)** był badany m.in. jako potencjalny marker progresji choroby w ostrej niewydolności serca. Wzmożoną ekspresję białka UHL1 (*UHL1, Ubiquitin C-terminal hydrolase L1*) wykryto do tej pory w neuronach chorych z zespołem Alzheimer'a, Parkinsona i w innych chorobach neurodegeneracyjnych, gdzie obserwuje się nasilenie procesów proteolizy.

Cytokiny są białkowymi mediatorami międzykomórkowymi oraz regulatorami reakcji odpornościowych i zapalnych. W warunkach fizjologicznych występują miejscowo lub w płynach ustrojowych zazwyczaj w niewielkich stężeniach. Syntetyzowane są przez wiele typów komórek, a ich oddziaływanie jest wielokierunkowe. Biorą one udział w inicjowaniu stanu zapalnego, jego podtrzymywaniu, a nawet w utrzymywaniu patologicznego bólu. Cytokiny funkcjonują zatem jako mediatory procesu zapalnego, które oddziałują na komórki docelowe za pośrednictwem znajdujących się na powierzchni receptorów oraz stanowią główny mechanizm regulujący miejscową odpowiedź zapalną. Zalicza się do nich między innymi interleukiny, różne czynniki wzrostowe i chemokiny.

Interleukina-6 (IL-6, interleukin-6) jest jedną z ważniejszych cząsteczek sygnałowych wytwarzanych przez komórki układu odpornościowego. Jej głównym zadaniem jest koordynowanie procesu zapalnego w organizmie poprzez inicjowanie i rozwój odpowiedzi zapalnej oraz indukowanie białek tzw. ostrej fazy. W stanach zapalnych stężenie IL-6 istotnie wzrasta. Z tego względu jest ona uważana za wczesny i czuły, choć niespecyficzny marker reakcji zapalnej. Znaczący wzrost stężenia IL-6 występuje w chorobach zapalnych, takich jak zapalenie otrzewnej, jelita grubego, ostre zapalenie trzustki czy reumatoidalne zapalenie stawów. Ponadto zwiększenie jej stężenia następuje w odpowiedzi na zakażenia uogólnione (posocznica) i silne miejscowe urazy związane z przerwaniem ciągłości lub integralności tkanek, takie jak rozległe operacje, ciężkie oparzenia, choroby tkanki łącznej, rany tłuczone, martwica.

Interleukina-8 (IL-8, interleukin-8) jest cytokiną prozapalną stymulująca migrację komórek odpornościowych w organizmie. Ponadto IL-8 uczestniczy w aktywacji, proliferacji i różnicowaniu leukocytów oraz w procesie angiogenezy. Działa chemotaktycznie na komórki układu odpornościowego NK i bazofile, powodując akumulację leukocytów w ognisku zapalnym. Przeprowadzone badania kliniczne wykazały, że stężenie interleukiny-8 jest podwyższone w różnych stanach chorobowych. Źródła literaturowe wskazują na wzrastające stężenia IL-8 w przypadku urazowych uszkodzeń mózgu oraz na kluczową rolę tej cytokiny, jako mediator neurozapalny. Ponadto podkreślana jest jej rola w odpowiedzi zapalnej na choroby przewodu pokarmowego, w tym nieswoiste zapalenie jelit, nowotwory żołądka, okrężnicy oraz w przypadkach uszkodzenia mięśnia sercowego.

CXCL5 (*CXCL5, C-X-C motif chemokine ligand 5*) jest chemokiną indukowalną, czyli pojawiającą się w procesie zapalnym. Rolą chemokin jest obrona organizmu poprzez przyciąganie leukocytów do miejsc zagrożenia, przy czym określone chemokiny powodują rekrutację poszczególnych populacji komórkowych do ogniska zapalnego. Dostępna literatura naukowa wskazuje na korelację pomiędzy obecnością chemokin i występowaniem różnych jednostek chorobowych oraz podkreśla ich znaczącą rolę w patogenezie zapalenia. CXCL5, która pełni rolę chemoatraktantu dla neutrofilii jest jedną z najważniejszych chemokin indukowalnych związanych z występowaniem zapalenia stawów. Ponadto ekspresję CXCL5 powiązano z chorobami zapalnymi i zwłóknieniowymi, wśród których wyróżnia się miażdżycę tętnic, zapalenie trzustki, nieswoiste zapalenie jelit, idiopatyczne zapalenie płuc czy endometriozę.

Interleukina-33 (*IL-33, interleukin-33*) należy do grupy interleukiny 1. Ekspresja jej znacząco wzrasta w komórkach śródbłonna, komórkach nabłonkowych i komórkach podobnych do fibroblastów, zarówno podczas homeostazy, jak i stanu zapalnego. Działa ona jak sygnał alarmowy (alarmina) uwalniany po uszkodzeniu komórki lub tkanki. Doniesienia naukowe wskazują, że IL-33 może pełnić istotną rolę w ostrzeganiu układu odpornościowego o uszkodzeniu tkanek po urazie lub infekcji. Ponadto ze względu na swoją konstytutywną ekspresję w normalnych tkankach jest gotowa do uwolnienia w dowolnym momencie w celu alarmowania innych komórek odpornościowych.

Interleukina -11 (*IL-11, interleukin-11*) należy do grupy cytokin neuropoetycznych, które odgrywają istotne funkcje w rozwoju mózgu, a także w odpowiedzi na jego uszkodzenie. Dostępne źródła literaturowe donoszą, że IL-11 ulega ekspresji w komórkach neuronalnych hipokampa oraz w neuronach motorycznych i współczulnych rdzenia kręgowego. Białka te mogą być kluczowe dla wielu procesów zachodzących w mózgu. Cytokiny neuropoetyczne, w tym IL-11, mogą zatem pełnić istotną rolę w rozwoju układu nerwowego oraz koordynacji neuronalnej, a także w odpowiedzi odpornościowej na urazy.

Białka DAMPs (*DAMP, Danger/Damage Associated Molecular Patterns*) to struktury molekularne związane z uszkodzeniem, gdyż uwalniane są w następstwie uszkodzenia lub śmierci komórek. Wśród nich najlepiej poznanymi są białko HMGB-1 oraz białka szoku cieplnego HSP.

Białko HMGB-1 (*HMGB-1, High mobility group box 1*) występuje i oddziałuje zarówno w jądrze komórkowym, jak i w przestrzeni pozakomórkowej, do której uwalniane jest w wyniku oddziaływania czynników prozapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów- α (TNF- α), interferon- γ (INF- γ), endotoksyny oraz w sposób bierny z uszkodzonych komórek. Jego rolą jest pobudzenie procesów immunologicznych niezbędnych do rozwoju stanu zapalnego i eliminacji zagrożenia. HMGB-1 zachowując się jak prozapalna cytokina aktywuje makrofagi, monocyty, neutrofile i limfocyty Th oraz zwiększa syntezę szeregu mediatorów prozapalnych. Białko to bierze udział w regeneracji i odbudowie uszkodzonych tkanek pobudzając migrację i proliferację komórek macierzystych oraz inicjując procesy angiogenezy. Podwyższone stężenie HMGB1 obserwuje się u pacjentów ze wstrząsem septycznym, chorobami nowotworowymi i autoimmunologicznymi.

Białka HSP (*HSP, heat-shock proteins*) to grupa cząstek, których ekspresja wzrasta, kiedy

komórki narażone są na działanie czynników stresowych takich jak podwyższona temperatura, niska temperatura, stres solny czy osmotyczny. Ich produkcja może również wzrastać w odpowiedzi na infekcje, zapalenie, działanie toksyn, niedotlenienie. Synteza białek HSP może być więc indukowana przez różne stany patofizjologiczne. Dane literaturowe wskazują na ich nasiloną ekspresję w przypadku chorób nowotworowych, chorób nerek czy choroby Alzheimera. Do najlepiej poznanych należą białka z grupy **HSP70**. Pomimo, że są one aktywne w normalnych warunkach, to pod wpływem działania czynników patologicznych stają się odpowiedzialne za minimalizowanie obciążenia komórki, ochronę najważniejszych białek i enzymów komórkowych oraz doprowadzają do rozpadu źle funkcjonujących i uszkodzonych protein. Obecność białek HSP70 w przestrzeni pozakomórkowej jest wiązana przez wielu badaczy z rozwojem chorób autoimmunologicznych oraz nowotworowych, a ich ważną rolą jest utrzymanie prawidłowej homeostazy komórkowej.

Mózgowy czynnik neurotroficzny BDNF (*BDNF, brain-derived neurotrophic factor*) należy do rodziny neurotrofin syntetyzowanych w komórkach ośrodkowego oraz obwodowego systemu nerwowego. Badania immunochemiczne wykazały, że jest on najobficiej występującą neurotrofiną w mózgu. Dowiedziono także, że czynnik ten swobodnie przekracza barierę krew-mózg, a poziom krążącego BDNF we krwi może odzwierciedlać jego poziom w mózgu. BDNF odgrywa kluczową rolę w rozwoju systemu nerwowego poprzez wpływ na różnicowanie, wzrost neuronów, neurogenezę, modulację plastyczności, a także neuroregenerację. Występowanie tego czynnika w poszczególnych strukturach mózgu jest związane z modyfikacją ich fizjologicznych funkcji. BDNF wpływa na rozwój neuronów serotonergicznych, dopaminergicznych, noradrenergicznych i cholinergicznych. Ponadto, uczestniczy w regulacji plastyczności neuronalnej związanej z procesami uczenia się i pamięci, wpływając na proces długotrwałego wzmocnienia i osłabienia synaptycznego. Odpowiedni poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego zapewnia komunikację różnych obszarów mózgu. Jego niskie stężenie zostało powiązane z deficytami pracy mózgu, w tym między innymi z depresją, zaburzeniami lękowymi, zespołem stresu pourazowego czy zespołem wypalenia zawodowego.

Biorąc pod uwagę doniesienia naukowe wskazujące na zmiany aktywności proteasomów 20S oraz stężeń IL-6, IL-8, IL-33, IL-11, białka HMGB-1, białka HSP70 oraz czynnika BDNF w przebiegu różnych chorób, postanowiłam poddać ocenie wyżej wymienione białka w odpowiedzi na różnego typu urazy u dzieci, w tym urazy operacyjne. W odniesieniu do podjętego kierunku badawczego został sformułowany tytuł głównego osiągnięcia naukowego.

B. Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Wybrane markery odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek u dzieci z różnymi typami urazów”

C. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

- 1) **Marzena Tylicka**, Ewa Matuszczak, Maria Karpińska, Adam Hermanowicz, Wojciech Debek, Halina Ostrowska. „*Proteasome and C-reactive protein inflammatory response in children undergoing shorter and longer lasting laparoscopic cholecystectomy*”. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 2017; 77(8): 610-616.

Praca oryginalna, **IF: 1.498 [MEiN:20.000]**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji badania, zabezpieczeniu materiału, wykonaniu oznaczeń, analizie i opracowaniu wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, komunikacji z recenzentami i poprawie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów. **Mój udział procentowy szacuję na 75%.**

- 2) **Marzena Tylicka**, Ewa Matuszczak, Maria Karpińska, Adam Hermanowicz, Wojciech Dębek, Halina Ostrowska. „*Proteasome Activity and C-Reactive Protein Concentration in the Course of Inflammatory Reaction in Relation to the Type of Abdominal Operation and the Surgical Technique Used*”. *Mediators of Inflammation* 2018:8 pp, Article ID 2469098.

Praca oryginalna, **IF: 3.545 [MEiN:30.000]**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji badania, zabezpieczeniu materiału, wykonaniu oznaczeń, analizie i opracowaniu wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, komunikacji z recenzentami i poprawie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów. **Mój udział procentowy szacuję na 75%.**

- 3) Ewa Matuszczak, **Marzena Tylicka***, Marta Komarowska, Wojciech Dębek, Adam Hermanowicz. „*Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 - physiology and pathology*”. *Cell Biochemistry and Function* 2020; 38(5): 533-540.

***equal contribution**

Praca przeglądowa, **IF: 3.685 [MEiN:70.000]**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji pracy, zebraniu i krytycznej analizie dostępnej literatury, przygotowaniu manuskryptu. **Mój udział procentowy szacuję na 40%.**

- 4) **Marzena Tylicka**, Ewa Matuszczak, Joanna Kamińska, Wojciech Dębek, Beata Modzelewska, Tomasz Kleszczewski, Violetta Dymicka-Piekarska, Joanna Matowicka-Karna, Maria Karpińska,

Olga Martyna Koper-Lenkiewicz. *"Intraoperative peritoneal interleukin-6 concentration changes in relation to the high-mobility group protein B1 and heat shock protein 70 levels in children undergoing cholecystectomy"*. *Mediators of Inflammation* 2020; 9pp, Article ID 9613105.

Praca oryginalna, IF: 4.711 [MEiN:100.000]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji badania, wykonaniu oznaczeń przy pomocy metody ELISA, analizie i opracowaniu wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, poprawie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.
Mój udział procentowy szacuję na 70%.

5) **Marzena Tylicka**, Tomasz Guszczyn, Michał Maksimowicz, Joanna Kamińska, Ewa Matuszczak, Maria Karpińska, Olga Martyna Koper-Lenkiewicz. *"The concentration of selected inflammatory cytokines (IL-6, IL-8, CXCL5, IL-33) and damage-associated molecular patterns (HMGB-1, HSP-70) released in an early response to distal forearm fracture and the performed closed reduction with Kirschner wire fixation in children"*. *Frontiers in Endocrinology* 2021; 12: 9 pp, Article ID 749667.

Praca oryginalna, IF: 6.055 [MEiN:100.000]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji badania, wykonaniu oznaczeń przy pomocy metody ELISA, analizie i opracowaniu wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, poprawie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.
Mój udział procentowy szacuję na 75%.

6) **Marzena Tylicka**, Ewa Matuszczak, Adam Hermanowicz, Wojciech Dębek, Maria Karpińska, Joanna Kamińska, Olga Martyna Koper-Lenkiewicz. *"BDNF and IL-8, but not UCHL-1 and IL-11, are markers of brain injury in children caused by mild head trauma"*. *Brain Sciences* 2020; 10(10):10pp, Article ID 665.

Praca oryginalna, IF: 3.394 [MEiN:100.000]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: stworzeniu koncepcji badania, wykonaniu oznaczeń przy pomocy metody ELISA, analizie i opracowaniu wyników, zebraniu i interpretacji dostępnego piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, poprawie manuskryptu zgodnie z uwagami recenzentów.
Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Dane bibliometryczne prac wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego:

IF = 22.888

Punktacja MEiN zgodna z listą punktacyjną na dzień opublikowania źródła:

MEiN=420.000

Kopie ww. publikacji oraz oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie znajdują się w *Załącznikach nr 5 i 6*.

D. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Badania naukowe, składające się na cykl publikacji wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej, dotyczą oceny stężenia lub aktywności potencjalnych markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek u pacjentów pediatrycznych z różnymi typami urazów. Przeprowadzone eksperymenty miały na celu poszukiwanie nowych i bardziej czułych markerów, a opublikowane prace mogą stanowić źródło informacji na temat ich roli w patofizjologii urazów, w tym urazów operacyjnych.

Cykl przedstawionych artykułów jest powiązany tematycznie i koncentruje się na ocenie markerów, wśród których znajdują się cytokiny zapalne (*IL-6, IL-8, CXCL5, IL-11, IL-33*), białka uszkodzenia DAMPs (*HMGB-1, HSP-70*), proteasomy 20S (*P 20S*), karboksy-terminalna hydrolaza ubikwityny L1 (*UCHL1*) oraz neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (*BDNF*).

W pierwszym zadaniu badawczym pt. ***"Proteasome and C-reactive protein inflammatory response in children undergoing shorter and longer lasting laparoscopic cholecystectomy"*** (*Tylicka M., Matuszczak E., Karpińska M., Hermanowicz A., Dębek W., Ostrowska H. Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation 2017; 77(8): 610-616 (MEiN:20.000; IF:1.498)*), które włączyłam do cyklu publikacji stanowiących główne osiągnięcie naukowe **oznaczyłam aktywność chymotrypsynopodobną proteasomów 20S (ChT-L P 20S) w osoczu dzieci poddawanych zabiegom cholecystektomii laparoskopowej w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku oraz oceniłam wpływ czasu trwania zabiegu na badany parametr**. Cholecystektomia jest zabiegiem chirurgicznym polegającym na usunięciu pęcherzyka żółciowego najczęściej z powodu kamicy żółciowej. Ostatnie badania wskazują na wzrastające statystyki występowania kamicy żółciowej u dzieci, a tym samym na zwiększającą się ilość przeprowadzanych zabiegów. Ze względu na fakt, że cholecystektomia przeprowadzana metodą klasyczną wiąże się z klasycznym chirurgicznym rozcięciem powłok brzusznych, preferowana jest cholecystektomia laparoskopowa. Cholecystektomia laparoskopowa jest zabiegiem mniej inwazyjnym, polegającym na usunięciu pęcherzyka żółciowego z wykorzystaniem kamery i specjalnych narzędzi, których wprowadzenie wiąże się z wykonaniem małych nacięć powłok brzusznych. Korzyści wynikające z przeprowadzania zabiegu usunięcia pęcherzyka żółciowego techniką laparoskopową są związane z redukcją urazu tkanek, mniejszymi dolegliwościami bólowymi, zmniejszonym ryzykiem zakażenia, krótszą hospitalizacją oraz szybszą rekonwalescencją w porównaniu

z cholecystektomią klasyczną. Odpowiedź zapalna jest proporcjonalna do stopnia uszkodzenia tkanek, a cholecystektomia laparoskopowa mimo, że jest zabiegiem mało inwazyjnym, również powoduje jej aktywację. Doniesienia naukowe wskazują, że krótko po urazie operacyjnym inicjowana jest reakcja zapalna, między innymi związana z ekspresją prozapalnych cytokin czy białek ostrej fazy. Aktywowane cytokiny zapalne mogą uczestniczyć w zmianach metabolizmu białek np. interleukina-6 (*IL-6*) może indukować degradację wewnątrzkomórkowych białek poprzez aktywację proteasomów. Ponadto *IL-6* oraz *TNF- α* mogą mieć wpływ na aktywność chymotrypsynopodobną proteasomów 20S. Ponieważ dostępne doniesienia naukowe nie analizowały, czy istnieje zależność pomiędzy aktywnością ChT-L P 20S i stężeniem CRP (*CRP, C-reactive protein*), a długością przeprowadzonego zabiegu operacyjnego, podjęłam się zbadania tej korelacji. Pacjenci z grupy badanej zostali podzieleni na dwie podgrupy, a kryterium podziału stanowiła długość trwania zabiegu. Biorąc pod uwagę brak lub też występowanie zrostów pomiędzy pęcherzykiem żółciowym a sąsiednimi strukturami, dzieci były poddawane odpowiednio cholecystektomii trwającej do 90 minut lub dłuższej. Badane parametry były oznaczane w osoczu pozyskanym na 4-8 godzin przed zabiegiem oraz 6-8 godzin po przeprowadzonej operacji. Aktywność ChT-L proteasomów 20S oznaczyłam w osoczu przy użyciu fluorogennego peptydu Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC, będącego substratem aktywności chymotrypsynopodobnej (*ChT-L*), w obecności SDS jako selektywnego aktywatora enzymu. SDS (sól sodowa siarczanu dodecyłu) ułatwia wniknięcie substratu białkowego do kanału proteasomu. Enzym ChT-L hydrolizuje C-końcowe wiązanie amidowe z uwolnieniem fluoryzującego produktu: 7-amino-4-metylokumaryny (AMC). Stężenie białka CRP zostało ocenione z wykorzystaniem metody immunoturbidymetrycznej. Uzyskane wyniki wskazują na istotny statystycznie wzrost aktywności ChT-L P 20S w osoczu dzieci po przeprowadzonym zabiegu cholecystektomii laparoskopowej w stosunku do jej wartości przed zabiegiem. Ponadto zaobserwowałam statystycznie istotną różnicę pomiędzy aktywnością chymotrypsynopodobną proteasomów 20S w grupie pacjentów poddawanych laparoskopowemu zabiegowi usunięcia pęcherzyka żółciowego trwającego do 90 minut oraz dłużej. Aktywność ChT-L proteasomów 20 S u dzieci poddawanych dłuższymi zabiegami była o 189,66% wyższa względem pacjentów poddawanych operacjom trwającym krócej. Uraz operacyjny spowodował również istotny statystycznie wzrost stężenia białka C-reaktywnego u pacjentów po przeprowadzonej cholecystektomii laparoskopowej w porównaniu do jego poziomu sprzed zabiegu. Jednakże w przypadku stężenia CRP nie zaobserwowałam istotnego statystycznie wzrostu u pacjentów poddawanych cholecystektomii laparoskopowej trwającej powyżej 90 minut w porównaniu do pacjentów, u których zabieg trwał do 90 minut. **Przeprowadzony przeze mnie eksperyment wykazał, że zarówno aktywność chymotrypsynopodobna proteasomów 20S, jak i stężenie białka CRP w osoczu wzrasta istotnie statystycznie w odpowiedzi na uraz operacyjny, a wzrost ten następuje w krótkim czasie po przeprowadzonej cholecystektomii laparoskopowej. Jednakże, tylko w przypadku aktywności ChT-L P20S zaobserwowałam korelację z czasem trwania zabiegu. Może to wskazywać na fakt, że białko CRP jest niespecyficznym markerem odpowiedzi zapalnej, podczas gdy proteasom 20S może być markerem zależnym od stopnia uszkodzenia tkanki oraz czasu ekspozycji na uraz operacyjny. Wartościowym elementem realizowanego zadania badawczego była ocena wpływu czasu trwania zabiegu na aktywność chymotrypsynopodobną proteasomów 20S, który nie był wówczas przedmiotem intensywnych**

badan.

W oparciu o powyższy wniosek dotyczący aktywności proteasomów postanowiłam ocenić, czy rzeczywiście stopień uszkodzenia tkanki może mieć wpływ na aktywność ChT-L P20S.

W związku z tym przeprowadziłam kolejne badanie u dzieci, u których wykonywane były operacje jamy brzusznej techniką otwartą i laparoskopową. Wyniki przeprowadzonego eksperymentu zostały opublikowane w pracy oryginalnej pt. **„Proteasome Activity and C-reactive Protein Concentration in the Course of Inflammatory Reaction in Relation to the Type of Abdominal Operation and the Surgical Technique Used”** (Tylicka M., Matuszczak E., Karpińska M., Hermanowicz A., Dębek W., Ostrowska H. *Mediators of Inflammation* 2018; 8pp, Article ID 2469098) (MEiN:30.000; IF:3.545). Celem tego zadania badawczego była ocena aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S, stężenia białka C-reaktywnego oraz stężenia prealbuminy w osoczu u dzieci poddawanych operacjom jamy brzusznej techniką otwartą i laparoskopową. Grupę badaną stanowiło pięćdziesięcioro dzieci przyjętych do Kliniki Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, u których przeprowadzono zabieg chirurgiczny jamy brzusznej. W obrębie tej grupy znajdowało się 25 pacjentów operowanych techniką laparoskopową oraz 25 pacjentów, u których przeprowadzono zabieg operacyjny techniką otwartą. Od każdego z pacjentów pobierana była krew żylna od 4 do 8 godzin przed i od 6 do 8 godzin po interwencji chirurgicznej. Przeprowadzone przeze mnie badanie wykazało istotne statystycznie zwiększenie aktywności ChT-L P20S w odpowiedzi na uraz operacyjny jamy brzusznej zarówno w przypadku dzieci poddawanych zabiegom techniką otwartą, jak i laparoskopową. Większy wzrost badanych parametrów w porównaniu do ich poziomu przed zabiegiem zaobserwowałam w przypadku pacjentów, u których przeprowadzono zabieg techniką otwartą. Podczas, gdy w grupie dzieci operowanych techniką laparoskopową aktywność chymotrypsynopodobna proteasomów 20S w stosunku do wartości sprzed zabiegu wzrosła o 101,22%, to w przypadku pacjentów operowanych techniką otwartą zaobserwowałam podwyższenie tego parametru o 193,08% w porównaniu do wartości sprzed przeprowadzonej operacji. Uraz chirurgiczny spowodował również istotny statystycznie wzrost stężenia białka C-reaktywnego. Jednakże typ zastosowanej procedury operacyjnej (otwarta, laparoskopowa) wpływał znacząco jedynie na aktywność ChT-L P20S. Analizując zależności pomiędzy aktywnością chymotrypsynopodobną proteasomów 20S, stężeniem prealbuminy oraz stężeniem białka CRP, wykazałam istnienie negatywnej korelacji pomiędzy aktywnością ChT-L P 20S a stężeniem prealbuminy przed oraz po przeprowadzonym zabiegu chirurgicznym jamy brzusznej. Źródła literaturowe wskazują, że obniżone stężenie prealbuminy może mieć związek między innymi ze stanem zapalnym, wyniszczeniem chorobą czy zakażeniami. Otrzymany przeze mnie wynik korelacji pomiędzy tymi parametrami może sugerować, że zarówno proteasomy 20S, jak i prealbumina mogą mieć znaczenie w patofizjologii urazów operacyjnych. **Podsumowując, przeprowadzony przeze mnie eksperyment wykazał, że uraz operacyjny jamy brzusznej u dzieci powoduje wzrost aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S w osoczu, podobnie jak stosowanego rutynowo w diagnostyce białka CRP. Jednocześnie badanie to było pierwszym, które wykazało, że proteasomy 20S mogą być specyficznym markerem odpowiedzi zapalnej oraz uszkodzenia tkanek, gdyż ich aktywność w osoczu wzrastała w reakcji na uraz operacyjny i była zależna od**

stosowanej procedury chirurgicznej (laparoskopowa vs otwarta). Wpływ rodzaju przeprowadzonej operacji na aktywność ChT-L P 20S może wynikać ze stopnia uszkodzenia tkanki, który jest różny w przypadku małoinwazyjnych zabiegów laparoskopowych oraz zabiegów przeprowadzanych techniką otwartą, które wiążą się z poważniejszymi uszkodzeniami tkanek. Białko C-reaktywne jest natomiast niespecyficznym markerem odpowiedzi zapalnej, którego stężenie wzrasta natychmiastowo po zabiegu operacyjnym, a rodzaj stosowanej procedury chirurgicznej nie ma wpływu na jego wartość. Moje badanie wskazuje zatem, że proteasomy 20S mogą mieć potencjalne znaczenie jako markery odpowiedzi zapalnej towarzyszącej urazom operacyjnym. Parametr ten może być również markerem różnicującym przebieg reakcji zapalnych u pacjentów poddawanych otwartym i laparoskopowym zabiegom jamy brzusznej. Przeprowadzony eksperyment potwierdził hipotezę, że aktywność chymotrypsynopodobna proteasomów 20S zależy od stopnia uszkodzenia tkanki.

Ze względu na chęć usystematyzowania i poszerzenia zdobytej już wiedzy na temat proteasomów jako struktur mogących odgrywać znaczącą rolę w patomechanizmie różnych chorób, kontynuowałam tą tematykę i dokonałam przeglądu literatury. Doniesienia literaturowe wskazywały, że nieprawidłowe działanie szlaku ubikwityna-proteasom również może być przyczyną wielu chorób, a w regulacji tego szlaku ważną rolę pełnią enzymy deubikwitynujące. Dlatego też postanowiłam zwrócić uwagę na rolę enzymu UCHL1 w różnych stanach patologicznych, w wyniku czego powstała praca pogładowa pt. „*Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 - physiology and pathology*” (Matuszczak E^{*}, Tylicka M^{*}, Komarowska M., Dębek W., Hermanowicz A. *Cell Biochemistry and Function* 2020; 38(5): 533-540) (MEiN:70.000; IF=3.685). Praca ta jest naukowym przeglądem literatury na temat systemu ubikwityna-proteasom degradującego białka, które mogą być kluczowe dla różnych procesów komórkowych, ze szczególnym podkreśleniem roli enzymu deubikwitynującego karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 (UCHL1, *ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1*). **Celem mojej pracy było przedstawienie dostępnych danych literaturowych na temat roli i znaczenia UCHL1 w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych.** UCHL1 jest enzymem o złożonej aktywności charakterystycznej zarówno dla enzymów z grupy ligaz, jak i hydrolaz. Jako hydrolaza UCHL1 przetwarza i usuwa cząsteczki ubikwityny z degradowanego białka. Podczas degradacji białek na szlaku ubikwityna-proteasom zachodzą dwa zasadnicze procesy: ubikwitynacja oraz rozpoznanie i degradacja ubikwitynowanych białek przez kompleks proteasomowy 26S, z jednoczesnym uwolnieniem ubikwityny przez enzymy deubikwitynujące, w tym UCHL1. Jako ligaza enzym ten łączy molekuly ubikwityny, które będą następnie znakowały białka przeznaczone do degradacji. Największa ekspresja UCHL1 występuje w komórkach neuroendokrynych oraz w ośrodkowym układzie nerwowym, ale wysoka ekspresja występuje również w komórkach nowotworowych pochodzących z różnych tkanek, w tym z mózgu, płuc, nerki, okrężnicy, prostaty czy trzustki. Dostępna literatura opisuje znaczenie biologiczne karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 w wielu procesach takich jak spermatogeneza, onkogeneza, angiogeneza, różnicowanie i proliferacja komórek w mięśniach szkieletowych. Ponadto udokumentowano rolę UCHL1 w odpowiedzi zapalnej, uszkodzeniu tkanek, uszkodzeniu neuronów oraz w procesach neurodegeneracyjnych. Przegląd literatury wykazał, że UCHL1 jest kluczowym enzymem dla prawidłowej spermatogenezy, ponieważ zaburzenia równowagi

w procesach ubikwitynacji i deubikwitynacji prowadzą do powstawania plemników o nieprawidłowej budowie. Ponadto enzym ten modeluje przebudowę naczyń i bierze udział w angiogenezie komórek śródbłonna, bierze udział w reakcji zapalnej, a jego stężenie wzrasta w przypadku uszkodzenia tkanek. Praca pogładowa przytacza również badania autorów, którzy sugerują, że UCHL1 może być wskaźnikiem uszkodzenia tkanek, biomarkerem ciężkiego uszkodzenia mózgu, a jego dysfunkcja może prowadzić do choroby Alzheimera czy Parkinsona.

Napisana przeze mnie praca jest zbiorem dostępnej wiedzy dotyczącej enzymu deubikwitynującego UCHL1, który odgrywa ważną rolę w proteasomalnej degradacji białek. Zrozumienie mechanizmów działania szlaku ubikwityna-proteasom może pozwolić na poszukiwanie przydatnych w diagnostyce markerów oraz nowych sposobów leczenia w oparciu o regulowanie proteasomalnej degradacji białek. Opublikowana praca może stanowić cenny przegląd aktualnej wiedzy wskazujący na kluczową rolę proteasomów oraz enzymów deubikwitynujących w patogenezie wielu stanów patologicznych.

Ze względu na chęć rozszerzenia swojego profilu badań, który pozwoliłby na poszukiwanie kolejnych markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek w reakcji na urazy u dzieci przeprowadziłam kolejny eksperyment dotyczący oznaczenia niebadanych przeze mnie do tej pory białek. Na jego podstawie powstała praca oryginalna pt. ***"Intraoperative peritoneal interleukin-6 concentration changes in relation to the high-mobility group protein B1 and heat shock protein 70 levels in children undergoing cholecystectomy"*** (Tylicka M., Matuszczak E., Kamińska J., Dębek W., Modzelewska B., Kleszczewski T., Dymicka-Piekarska V., Matowicka-Karna J., Karpińska M., Koper-Lenkiewicz OM. *Mediators of Inflammation 2020; 9pp, Article ID 9613105*) (MEiN: 100.000, IF: 4.711).

Ze względu na fakt, że białko HMGB-1 zalicza się do białek DAMPs, czyli tzw. „wzorców molekularnych związanych z uszkodzeniem”, podjęłam się oceny tego parametru u dzieci w odpowiedzi na urazy. Włączenie HMGB-1 do tematyki prowadzonych badań było uzasadnione ze względu na fakt, że uwalniany w wyniku uszkodzenia tkanek, może indukować procesy zapalne. Również interesujące wydawało się poszerzenie badań o analizę stężenia jednego z białek szoku cieplnego HSP70. Białka HSP to grupa cząstek, których ekspresja wzrasta, kiedy komórki narażone są na działanie czynników stresowych. Pełnią one ważną rolę w utrzymaniu prawidłowej homeostazy komórkowej, stąd też zasadność uwzględnienia tego typu białka w badaniach w grupie dzieci z urazami. Ponadto dostępne źródła wskazują, że IL-6 uwalniana jest gwałtownie ok. 60 minut po urazie a podwyższone jej stężenie stwierdza się w krwi obwodowej po upływie 12 – 48 godzin. Stężenie interleukiny-6 było dotąd oznaczane w przypadku urazów operacyjnych w osoczu, natomiast zmiany poziomu tego parametru w płynie pozyskiwanym z płukania otrzewnej w trakcie zabiegu nie były intensywnie analizowane. **Dlatego też celem mojego kolejnego badania była ocena stężenia IL-6 w płucznym płynie otrzewnej dzieci poddawanych zabiegom cholecystektomii zarówno techniką otwartą, jak i laparoskopową. Dodatkowo w celu określenia wpływu uszkodzenia tkanek na zmiany stężenia IL-6, analizie poddałam także stężenia białek HMGB-1 oraz HSP70.**

W grupie badanej znajdowało się 37 dzieci poddawanych zabiegom cholecystektomii techniką otwartą oraz laparoskopową w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego

Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Na początku oraz na końcu zabiegu operacyjnego przeprowadzany był śródoperacyjny drenaż jamy otrzewnej przy użyciu 0,9% NaCl, w czasie którego pobierane było 10 mL płucznin. Realizacja projektu była możliwa dzięki ścisłej współpracy z chirurgami. Pobieranie materiału do badań mogło się odbywać tylko w czasie operacji chirurgicznej. W tym celu każdą próbkę materiału badawczego pacjenta odbierałam osobiście bezpośrednio z bloku operacyjnego celem jej szybkiego i prawidłowego zabezpieczenia do dalszych badań. Stężenie IL-6 w płynie pozyskanym w czasie płukania jamy otrzewnej oznaczyłam z wykorzystaniem metody elektrochemiluminescencji (ECLIA), a stężenia HMGB-1 oraz HSP70 metodą immunoenzymatyczną (ELISA). W przeprowadzonym badaniu wykazałam, że stężenie IL-6 pod koniec zabiegu cholecystektomii otwartej wzrosło około 63-krotnie w odniesieniu do wartości sprzed zabiegu, podczas gdy w przypadku cholecystektomii laparoskopowej wzrost w stosunku do poziomu tego parametru na początku zabiegu był tylko 3-krotny. Zaobserwowałam silną, dodatnią korelację pomiędzy stężeniem interleukiny-6 w płuczninach z jamy otrzewnej a czasem trwania zabiegu zarówno wykonywanego techniką otwartą i laparoskopową oraz pomiędzy stężeniem IL-6 i długością hospitalizacji pacjentów po zabiegach cholecystektomii. Ponadto porównując stężenie tej cytokiny u pacjentów w materiale pobranym pod koniec zabiegów trwających około 2 godzin zauważyłam istotnie statystycznie wyższe stężenie IL-6 u dzieci operowanych techniką otwartą w porównaniu do dzieci poddawanych zabiegom cholecystektomii laparoskopowej. Na skutek urazu operacyjnego, do którego dochodziło zarówno w przypadku zastosowania techniki otwartej, jak i laparoskopowej, stężenie białka HSP-70 w płuczninach z jamy otrzewnej pobranych pod koniec trwania operacji istotnie statystycznie wzrosło w porównaniu do stężenia tego parametru na początku zabiegu. W przypadku stężenia HMGB-1 zaobserwowałam istotne statystycznie podwyższenie stężenia tylko w płynie pozyskanym z płukania otrzewnej u pacjentów operowanych techniką laparoskopową. Wyniki tego eksperymentu wskazały na brak korelacji między stężeniami analizowanych białek DAMPs, a stężeniem interleukiny-6.

Przeprowadzone przeze mnie badanie dotyczące przydatności diagnostycznej interleukiny-6 w odpowiedzi na uraz operacyjny u dzieci poddawanych zabiegom cholecystektomii otwartej i laparoskopowej wykazało, że IL-6 może być markerem wczesnej odpowiedzi zapalnej. Ponadto brak korelacji pomiędzy stężeniem tego markera, a stężeniami HMGB-1 oraz HSP-70 może sugerować, że na wzrost stężenia IL-6 nie mają wpływu badane „wzorce molekularne związane z uszkodzeniem”. W tym kontekście eksperyment ten wydaje się być cenny, gdyż pozwala wywnioskować, że stężenie interleukiny-6 w płuczninach z jamy otrzewnej wzrasta w odpowiedzi zapalnej na uraz operacyjny, natomiast wzrost ten nie jest zależny od uszkodzenia tkanki w zależności od zastosowanego dostępu chirurgicznego (otwarty, laparoskopowy). Nowatorskim elementem tego eksperymentu było wykorzystanie do badań płucznin z jamy otrzewnej, a tego typu materiał biologiczny nie był wówczas poddawany częstym analizom badawczym.

Kontynuacja kierunku badawczego związanego z analizą molekularnych wzorców związanych z uszkodzeniem u dzieci doświadczających urazów, skutkowałą przeprowadzeniem kolejnego zadania badawczego, którego wyniki przedstawiłam w pracy pt. ***“The concentration of selected inflammatory cytokines (IL-6, IL-8, CXCL5, IL-33) and damage-associated molecular patterns (HMGB-1,***

HSP-70) released in an early response to distal forearm fracture and the performed closed reduction with Kirschner wire fixation in children” (Tylicka M., Guszczyn T., Maksimowicz M., Kamińska J., Matuszczak E., Karpińska M., Koper-Lenkiewicz OM. *Frontiers in Endocrinology* 2021; 12: 9 pp, Article ID 749667) (MEiN:100.000, IF:6.055). Eksperyment koncentrował się na poszukiwaniu nowych markerów diagnostycznych odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanki u dzieci z urazami kończyny górnej. Do grupy eksperymentalnej włączono 29 dzieci, które zostały przyjęte do Kliniki Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku z powodu dystalnego złamania kości przedramienia. **Celem zadania badawczego było oznaczenie stężenia IL-6, IL-8, CXCL-5, IL-33 HMGB-1 oraz HSP-70 w osoczu dzieci w odpowiedzi na dystalne złamanie kości przedramienia, a także ocena zmian stężenia tych parametrów na skutek przeprowadzonej interwencji ortopedycznej.** Wybór tych markerów był nieprzypadkowy i podyktowany chęcią poszerzenia projektu o badania dodatkowych białek, mogących mieć potencjalne znaczenie w diagnostyce urazów kończyny górnej u dzieci.

W celu przeprowadzenia eksperymentu pobrana została krew od dzieci z dystalnym złamaniem kości przedramienia 30 minut przed zabiegiem oraz 12-14 godzin po przeprowadzonej zamkniętej repozycji złamania ze stabilizacją przezskórną drutami Kirschnera (*CRKF, closed reduction with percutaneous Kirschner wire fixation*). U dzieci zakwalifikowanych do eksperymentu czas trwania zabiegu wynosił od 20 do 60 minut. Leczenie złamań polegało na zamkniętej repozycji odłamów kostnych, które uległy przemieszczeniu w wyniku urazu i przezskórnej stabilizacji drutami Kirschnera.

Stężenie interleukiny-6 w osoczu zostało oznaczone z wykorzystaniem metody elektrochemiluminescencji (ECLIA), a stężenia IL-33, IL-8, CXCL5, HSP70 i HMGB-1 metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Przeprowadzone analizy wykazały, że stężenie białka HSP-70 u dzieci z dystalnym złamaniem przedramienia było istotnie statystycznie podwyższone w porównaniu do grupy kontrolnej, w przeciwieństwie do HMGB-1, którego stężenie nie zmieniło się istotnie w odpowiedzi na uraz. Jednocześnie stężenia obu tych markerów po przeprowadzonej interwencji CRKF nie różniły się istotnie statystycznie od wartości tych parametrów w grupie kontrolnej. Zaobserwowałam również istotny wzrost stężenia interleukiny-6 w odpowiedzi na złamanie kości przedramienia oraz istotne, dalsze zwiększenie stężenia tego parametru po przeprowadzeniu zamkniętej repozycji złamania z przezskórną stabilizacją drutami Kirschnera. Przeprowadzona analiza korelacji wskazała na istnienie silnej dodatniej zależności pomiędzy stężeniem IL-6 w osoczu, a czasem trwania zabiegu ortopedycznego. Podobnie jak w przypadku naszego poprzedniego eksperymentu również nie znaleziono korelacji pomiędzy stężeniem IL-6, a stężeniami HMGB-1 i HSP70. Nie zaobserwowałam również wzrostów stężeń IL-8 oraz CXCL5 w odpowiedzi na dystalne złamanie kości przedramienia oraz na zastosowaną interwencję ortopedyczną. Stężenia tych cytokin nie różniły się istotnie statystycznie w zestawieniu z wynikami uzyskanymi dla dzieci z grupy kontrolnej. Stężenia interleukiny-33 we wszystkich próbkach osocza były poniżej poziomu detekcji zestawu ELISA.

Przeprowadzone przeze mnie badanie jako pierwsze oceniło przydatność wybranych cytokin oraz molekularnych wzorców związanych z uszkodzeniem (DAMPs) jako markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek u dzieci z dystalnym złamaniem kości przedramienia poddawanych zabiegowi CRKF. Taka analiza potencjalnych markerów u dzieci nie była

dotychczas przeprowadzona. Przegląd dostępnej literatury może sugerować, że badania w grupie dzieci z urazami ortopedycznymi, które były poddawane różnego typu zabiegom ortopedycznym, nie były prowadzone na szeroką skalę. Temat ten natomiast wydaje się ważny z uwagi na to, że urazy narządu ruchu występują powszechnie, a wiele kwestii związanych z odpowiedzią zapalną i uszkodzeniem tkanek wymaga prowadzenia intensywnych badań. Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują na przydatność IL-6, CRP oraz HSP70 w ocenie wczesnej odpowiedzi zapalnej na dystalne złamanie kości przedramienia u dzieci. Ponadto leczenie z wykorzystaniem zamkniętej repozycji z przezskórną stabilizacją drutami Kirschnera może być efektywnym i mało inwazyjnym sposobem, gdyż podejście to nie wywołuje nadmiernej odpowiedzi zapalnej, a stężenia „molekularnych wzorców związanych z uszkodzeniem” znacznie obniżają się po 12-14 godzinach od zabiegu.

Kolejne badania poświęciłam dalszemu poszukiwaniu markerów u dzieci z urazami. Tym razem eksperyment dotyczył młodych pacjentów, którzy doświadczyli urazów głowy. Wyniki badań własnych przedstawiłam w pracy pt. *” BDNF and IL-8, but not UCHL-1 and IL-11, are markers of brain injury in children caused by mild head trauma”* (Tylicka M., Matuszczak E., Hermanowicz A., Dębek W., Karpieńska M., Kamińska J., Koper-Lenkiewicz OM. *Brain Sciences* 2020; 10(10):10pp, Article ID 665) (MEiN:100.000, IF:3.394). Celem tego badania była ocena stężeń UCHL1, IL-8, neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF oraz IL-11 w osoczu, w celu sprawdzenia ich przydatności jako markerów u dzieci z łagodnymi urazami głowy (z lekkim wstrząsem mózgu bez utraty przytomności oraz z ciężkim wstrząsem mózgu i utratą przytomności).

Biorąc pod uwagę istniejące doniesienia o roli wymienionych parametrów w stanach patologicznych, istotą przeprowadzonego zadania badawczego było sprawdzenie hipotezy czy stężenia BDNF, IL-11, IL-8 oraz UCHL1 ulegają zmianie w osoczu dzieci z łagodnymi urazami głowy (z lekkim wstrząsem mózgu bez utraty przytomności oraz z ciężkim wstrząsem mózgu i utratą przytomności) w porównaniu z grupą kontrolną. Do projektu zakwalifikowanych zostało 29 dzieci przyjętych do Kliniki Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, od których pobierana była krew w ciągu 2-6 godzin od wystąpienia urazu. Pomiary stężenia wszystkich potencjalnych markerów w osoczu pacjentów wykonałam z wykorzystaniem metody immunoenzymatycznej (ELISA). Przeprowadzone badania wykazały istotnie statystycznie podwyższone stężenie interleukiny-8 oraz neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF w całej grupie dzieci z łagodnymi urazami głowy w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenie BDNF było istotnie statystycznie wyższe u dzieci z ciężkim wstrząsem mózgu i utratą przytomności niż w grupie kontrolnej. Nie było natomiast różnic pomiędzy stężeniem tego czynnika w osoczu dzieci z lekkim wstrząsem mózgu bez utraty przytomności, a grupą kontrolną. Zaobserwowałam również, że stężenie BDNF u dzieci z ciężkim wstrząsem mózgu i utratą przytomności było wyższe niż u dzieci z lekkim wstrząsem mózgu bez utraty przytomności, ale różnica pomiędzy wartościami w obu tych grupach nie była istotna statystycznie. Stężenia pozostałych analizowanych białek nie różniły się istotnie pomiędzy tymi grupami. Uzyskane wyniki wskazały na brak znaczących zmian stężenia IL-11 w odpowiedzi na łagodny uraz głowy. Natomiast stężenia UCHL1 zarówno w próbkach osocza dzieci z grupy badanej,

jak i z grupy kontrolnej były poniżej poziomu detekcji zestawu ELISA.

Przeprowadzone badania sugerują, że spośród badanych parametrów, tylko BDNF i IL-8 mogą być czułymi markerami odpowiedzi zapalnej na łagodne urazy głowy u dzieci. Jednocześnie brak różnic istotnych statystycznie pomiędzy stężeniami BDNF i IL-8 u dzieci z lekkim wstrząsem mózgu bez utraty przytomności oraz z ciężkim wstrząsem mózgu z utratą przytomności może wskazywać, że ich podwyższone stężenia odzwierciedlają raczej zaburzenia funkcjonalne mózgu, nie zaś wynikają z jego strukturalnego uszkodzenia.

Wnioski:

Przeprowadzone przeze mnie badania w aspekcie praktycznym dostarczają nowych informacji na temat potencjalnych krążących markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek u dzieci z urazami wynikającymi z przeprowadzanych zabiegów operacyjnych, z urazami głowy oraz z urazami kończyn górnych. Warto w tym miejscu podkreślić, że wartościowym aspektem moich badań jest poszukiwanie nowych, użytecznych markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek w grupie dzieci z urazami operacyjnymi, która nie była do tej pory przedmiotem intensywnych badań. Ponadto moje badania są także jednymi z pierwszych, które koncentrują się na oznaczaniu aktywności proteasomów oraz stężenia białek z grupy DAMPs u dzieci, u których urazy były spowodowane przeprowadzonym zabiegiem operacyjnym.

Na podstawie przeprowadzonych przeze mnie badań wyciągnęłam następujące wnioski:

1. Pomiar aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S w osoczu może być przydatny do oceny odpowiedzi zapalnej wynikającej z uszkodzenia tkanek u dzieci poddawanych zabiegom cholecystektomii laparoskopowej. Wzrost aktywności ChT-L tych markerów jest zależny od czasu ekspozycji tkanek na uraz operacyjny.
2. Proteasomy 20S mogą być specyficznymi markerami odpowiedzi zapalnej na uraz operacyjny jamy brzusznej, a ich aktywność chymotrypsynopodobna wzrasta w osoczu pacjentów poddawanych zabiegom otwartym i laparoskopowym zależnie od stopnia uszkodzenia tkanki.
3. Interleukina-6 w popłuczynach z jamy otrzewnej może być przydatnym markerem wczesnej odpowiedzi zapalnej na uraz operacyjny, którego stężenie wzrasta zarówno w przypadku pacjentów poddawanych cholecystektomii otwartej, jak i laparoskopowej. Brak korelacji pomiędzy stężeniem tej cytokiny, a stężeniami białek HMGB-1 oraz HSP-70, będącymi „molekularnymi wzorcami związanymi z uszkodzeniem”, pozwala wywnioskować, że stężenie IL-6 wzrasta w odpowiedzi zapalnej na uraz, natomiast wzrost ten nie jest zależny od uszkodzenia tkanek.
4. IL-6, CRP oraz HSP70 w osoczu mogą być markerami odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek u dzieci z dystalnym złamaniem kości przedramienia. Ponadto stosowane leczenie z wykorzystaniem zamkniętej repozycji ze stabilizacją przezskórną drutami Kirschnera może być efektywnym i mało inwazyjnym sposobem leczenia, gdyż podejście to nie wywołuje nadmiernej odpowiedzi zapalnej, a osoczowe stężenia „molekularnych wzorców związanych z uszkodzeniem”

(HMGB-1 oraz HSP70) ulegają znacznemu obniżeniu po 12-14 godzinach od zabiegu. Przeprowadzony eksperyment nie wykazał natomiast przydatności IL-8, CXCL5, IL-33 oraz HMGB-1 w osoczu, jako markerów reakcji zapalnej i uszkodzenia tkanek u dzieci z dystalnym złamaniem kości przedramienia.

5. BDNF i IL-8 w osoczu mogą być czułymi markerami odpowiedzi zapalnej na łagodne urazy głowy u dzieci. Jednocześnie brak różnic istotnych statystycznie pomiędzy stężeniami BDNF i IL-8 u dzieci z lekkim wstrząsem mózgu bez utraty przytomności oraz z ciężkim wstrząsem mózgu z utratą przytomności może wskazywać, że ich podwyższone stężenia wynikają raczej z zaburzeń funkcjonalnych mózgu, nie zaś ze strukturalnego uszkodzenia. Przeprowadzone badanie nie wykazało przydatności oceny stężenia UCHL1 oraz IL-11 w osoczu u dzieci z łagodnymi urazami głowy.

Opisane powyżej badania oraz wyciągnięte na ich podstawie wnioski wydają się być cenne zwłaszcza ze względu na fakt, że urazy występują powszechnie i wiążą się z częstymi powikłaniami. Ocena markerów odpowiedzi zapalnej oraz uszkodzenia tkanek może mieć nie tylko potencjalną wartość diagnostyczną, ale może być wskazaniem do prowadzenia dalszych badań pod kątem korelacji oznaczanych markerów z występowaniem powikłań pourazowych. Zarówno w prawidłowym przebiegu pourazowym, jak i w późniejszych powikłaniach kluczową rolę odgrywa bowiem reakcja zapalna. Nadal pomimo ogromnego postępu w medycynie nie udaje się w skuteczny sposób przewidywać i zapobiegać powikłaniom pourazowym, które są głównym powodem zgonów. Podkreśla to zasadność wyboru tematyki badawczej publikacji wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego.

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

A. Dane bibliometryczne

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie:

- 37 prac opublikowanych, w tym:
 - 33 prace oryginalne (IF=88.111; MEiN=2080.000)
 - 3 prace przeglądowe (IF=4.375; MEiN=90.000)
 - 1 opis przypadku (IF=0,573; MEiN=15.000)
- komunikatów zjazdowych (polskie streszczenia zjazdowe=7; zagraniczne streszczenia zjazdowe=4)
- rozdziały w monografii (krajowa:2)

Łączna punktacja całości dorobku:

Łączny współczynnik oddziaływania **Impact Factor** (IF, wg *Journal Citation Reports*) czasopism, w których opublikowałam prace wynosi:

IF=93.059

a **punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki** (MEiN) zgodna z listą punktacyjną na dzień opublikowania źródła wynosi:

MEiN=2185.000

Liczba cytowań wszystkich prac opublikowanych wg *Web of Science**:

Core Collection: **220** (155 bez autocytowań)

All Database: **235** (170 bez autocytowań)

Index Hirscha (H-index) wg *Web of Science**:

Core Collection: **10**

All Database: **10**

* liczba cytowań i H-index wg bazy *Web of Science* na dzień 22 maja 2023 r.

Liczba cytowań wszystkich prac opublikowanych wg bazy *SCOPUS***:

Cytowania: **240**

H-index: **10**

** liczba cytowań i H-index wg bazy *SCOPUS* na dzień 22 maja 2023 r.

Analiza bibliometryczna dorobku naukowego poświadczona przez Bibliotekę Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wraz z wykazem osiągnięć naukowych stanowi *Załącznik nr 4*.

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

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych moje badania naukowe koncentrowały się na poszukiwaniu potencjalnych markerów odpowiedzi na urazy oparzeniowe u dzieci. W tym czasie powstały 2 prace oryginalne. Jedna z nich pt. **“Hand burns children - management and results”** (Matuszczak E., Dębek W., Ciszynska M. Chomicz A. *Pediatrics polska* 2011; 86(3): 260-262) (MEiN: 5.000) dotyczyła urazów oparzeniowych kończyn górnych u dzieci. Z kolei w publikacji pt. **„The incidence of MRSA cultures in children treated surgically because of purulent skin infections”** (Matuszczak E., Małowiecka M., Parol A., Pałasz-Krasowska I., Tararuj Ł., Dębek W.,

Tylicka M. Standardy Medyczne-Problemy Chirurgii Dziecięcej 2013; 3: 23-29 (MEiN: 1.000) wraz z zespołem badawczym podjęliśmy się analizy częstości występowania szczepów MRSA (gronkowca złocistego odpornego na metycylinę) u dzieci leczonych chirurgicznie z powodu ropnych zmian skórnych.

W moim dorobku przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora znajduje się także współautorstwo rozdziału w monografii pt. **“PAI-1 and some other fibrinolytic parameters in diabetes mellitus type 2 with nephropathy and without vascular complications” (Iwan-Ziętek I., Rość D., Wernik T., Ruprecht Z., Bielis L., Kulwas A., Bielis R., Gadomska G., Ciszynska M. Wellness and support in good health and sickness. Red. Henryk Wiktor. Lublin : NeuroCentrum, 2009: 141-151) (MEiN: 7.000)**, rozdziału w monografii pt. **”Połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej i wstrzykowej analizy przepływowej z detekcją chemiluminescencyjną” (Nalewajko-Sieliwoniuk E., Wołyniec E, Ciszynska M.,Kojło A. Analiza przepływowa: metody i zastosowania. T. 3. Red. Paweł Kościelniak, Marek Trojanowicz. Kraków : Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, 2012: 141-158)** oraz uczestnictwo w **6 doniesieniach zjazdowych** (3 krajowe, 3 zagraniczne).

Sumaryczna punktacja MEiN przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych zgodna z listą punktacyjną na dzień opublikowania źródła wyniosła:

artykuły: **MEiN= 6.000**

monografie: **MEiN= 7.000**

Po uzyskaniu tytułu doktora nauk medycznych związałam się zawodowo z Zakładem Biofizyki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (UMB), gdzie zostałam zatrudniona najpierw na etacie starszego technika, następnie specjalisty naukowo-technicznego, a od października 2022 roku na etacie adiunkta badawczo-dydaktycznego.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych mój dorobek stanowi **31 prac oryginalnych, 3 prace przeglądowe, 1 opis przypadku** (w tym 20 jako pierwszy, drugi lub ostatni autor) oraz **5 doniesień zjazdowych** (4 krajowe, 1 zagraniczne).

Sumaryczny **IF** czasopism, w których opublikowałam prace po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych wyniósł:

IF= 93.059

a punktacja MEiN zgodna z listą punktacyjną na dzień opublikowania źródła wyniosła:

MEiN=2179.000

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych moje badania skupiły się na poszukiwaniu markerów, które mogłyby mieć wartość diagnostyczną w przypadku różnych jednostek chorobowych. Dlatego też w latach 2014-2023, oprócz cyklu 6 prac wchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej, opublikowałam również inne prace oryginalne oraz przeglądowe opisujące badania markerów

odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek w różnych stanach patologicznych.

Tematyka moich pozostałych prac badawczych koncentrowała się głównie na oznaczaniu aktywności chymotrypsynopodobnej (*ChT-L*) proteasomów 20S (*P 20S*) oraz ich stężenia, stężenia C-końcowej hydrolazy L1 ubikwityny (*UCHL1*), a także stężeń takich markerów białkowych jak: metaloproteinazy (*MMPs*) i ich inhibitory tkankowe (*TIMPs*), cytokiny, białka z grupy DAMP (*DAMP*), w tym białka szoku cieplnego HSP (*HSP*), białka macierzy zewnątrzkomórkowej czy katepsyna B. Badania były prowadzone m.in. u dzieci z urazami oparzeniowymi, z urazami głowy czy brzucha, u chłopców z wnetrostwem, u dzieci z zapaleniem wyrostka robaczkowego czy u dorosłych z chorobami ośrodkowego układu nerwowego.

Eksperymenty były realizowane we współpracy z: Kliniką Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, Zakładem Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Kliniką Neurochirurgii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku oraz Laboratorium Bioanalizy działającym na Wydziale Chemii Uniwersytetu w Białymstoku.

Chęć rozszerzenia zakresu prowadzonych badań skłoniła nas do realizacji kolejnych zadań badawczych mających na celu oznaczenie dodatkowych, dotąd przez nas niebadanych parametrów.

Metaloproteinazy (*MMPs, matrix metalloproteinases*) należą do głównych enzymów proteolitycznych uczestniczących w wielu procesach fizjologicznych, takich jak apoptoza czy angiogeneza. W wielu stanach patologicznych *MMPs* wykazują nadmierną aktywność. Są one zaangażowane w patogenezę wielu chorób, takich jak artretyzm czy nowotwory. Ponadto wzrost aktywności tych enzymów towarzyszy chorobom sercowo-naczyniowym, chorobie Alzheimera czy chorobom autoimmunologicznym. Aktywność *MMPs* zależy od równowagi pomiędzy syntezą metaloproteinaz i ich tkankowych inhibitorów (*TIMPs, tissue inhibitor of metalloproteinases*). Wszystkie inhibitory *TIMP* hamują metaloproteinazy. W warunkach fizjologicznych, przy niskich stężeniach metaloproteinaz układ *MMP-TIMP* działa niezawodnie. W stanach patologicznych tkankowe inhibitory nie są w stanie zahamować aktywności podwyższonego miana czynnych *MMPs*. Stąd też zwiększona ekspresja *MMPs* w stosunku do *TIMPs* występuje w przypadku uszkodzenia tkanek i może odzwierciedlać jego stopień. Doniesienia naukowe wskazują na występowanie zmian stężeń metaloproteinaz w odpowiedzi na uraz oparzeniowy, co jest związane z ich główną rolą polegającą na degradacji białek macierzy pozakomórkowej (*ECM*). Metaloproteinazy regulują gojenie się ran oraz są produkowane przez komórki, które są uwikłane w procesy naprawcze i aktywują wiele chemokin. Zgodnie z dostępną literaturą *MMP-1* uczestniczy także w procesie zstępowania jąder, a *MMP-2* bierze udział w procesie spermatogenezy. W zadaniu badawczym przeprowadzonym w grupie dorosłych poddawanych leczeniu endodontycznemu lub chirurgicznej ekstrakcji zęba jako materiał badawczy wykorzystaliśmy ślinę. Koncepcja eksperymentów z wykorzystaniem śliny opiera się na tym, że materiał ten zawiera wiele elementów pochodzących z układu odpowiedzi immunologicznej. Ślina może zawierać zatem metaloproteinazy, w szczególności z grupy kolagenaz i żelatynaz, które pochodzą z płynu dziąsłowego lub gruczołów ślinowych. Metaloproteinazy kontrolują procesy fizjologiczne tj. procesy przebudowy tkanek, a ich główną rolą jest trawienie komponentów macierzy

pozakomórkowej, między innymi lamininy, kolagenu czy fibronektyny.

Białka macierzy zewnątrzkomórkowej, takie jak kolagen, fibronektyna czy laminina stanowią główny składnik macierzy zewnątrzkomórkowej tworzącej szkielet podporowy służący do utrzymania kształtu komórek i sprężystości tkanek. Kolagen tworzy rusztowanie dla elementów błony podstawnej, utrzymuje kształt komórki oraz odpowiada za integralność strukturalną i sprężystość tkanki łącznej. Laminina może oddziaływać z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej uczestnicząc w tworzeniu właściwej struktury błon podstawnych. Osłabiona ekspresja lamininy może towarzyszyć np. rzadkiej chorobie wrodzonej - pęcherzowemu oddzieleniu się naskórka. Fibronektyna bierze udział m.in. w tkankowych procesach naprawczych po zranieniach. We krwi występuje w postaci nieaktywnego biologicznie białka globularnego, które jest gotowe do wzięcia udziału w ważnych procesach tkankowych np. w procesie odbudowania zniszczonej tkanki. Fibronektyna osoczowa wraz z fibryną tworzą prowizoryczną siateczkę, która stanowi podstawę do odbudowania zniszczonej tkanki. Może być ona także wskaźnikiem stanu jamy ustnej oraz niespecyficznym czynnikiem obrony przed bakteriami. W macierzy zewnątrzkomórkowej znajdują się również enzymy rozcinające białka, wśród których wyróżnia się metaloproteinazy. Główną rolą MMPs jest degradacja białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Nieprawidłowy przebieg tej proteolizy może prowadzić do zmian patologicznych, wpływających m.in. na gojenie się ran, rozwój stanu zapalnego, a także nowotworzenie.

Katepsyny, podobnie jak proteasomy, powodują hydrolityczną degradację łańcuchów białkowych zaangażowanych w rozkład komórek oraz biorą udział w fizjologicznych i patologicznych procesach odpowiedzi immunologicznej. Różnorodne czynniki stresogenne indukują uwolnienie katepsyn do cytoplazmy, gdzie pełnią one funkcje proteolityczne. Katepsyna B (*Kat B*, *Katepsyna B*) jest z kolei jedną z najbardziej rozpowszechnionych proteaz lizosomalnych w organizmie, a jej podwyższony poziom obserwuje się w wielu przewlekłych chorobach zapalnych. Wyniki licznych badań potwierdziły bezpośredni wpływ aktywności katepsyn na stymulowanie bądź hamowanie wydzielania cytokin, odgrywających ważną rolę w regulacji wrodzonej odpowiedzi immunologicznej.

Cytokiny odgrywają kluczową rolę we wzajemnych oddziaływaniach poszczególnych składników mikrośrodowiska guzów nowotworowych, wpływają na wzrost i przeżycie komórek nowotworowych, biorą udział w kształtowaniu macierzy pozakomórkowej i wielostopniowym procesie tworzenia przerzutów odległych, czy też regulują odpowiedź immunologiczną. Dane literaturowe wskazują na syntezę cytokin prozapalnych: IL-1 (*IL-1*, *interleukin-1*) w przypadku raka żołądka, ostrej białaczki szpikowej czy raka jajnika oraz IL-6 (*IL-6*, *interleukin-6*) w przypadku szpiczaka mnogiego, raka szyjki macicy, czerniaka, chłoniaka, białaczki szpikowej, raka jajnika czy raka okrężnicy. Prowadzone do tej pory badania umożliwiły wyselekcjonowanie cytokin, które mogą być najbardziej przydatne w diagnostyce onkologicznej. Spośród wielu oznaczanych cytokin najczęściej spotyka się podwyższone stężenia IL-6 oraz IL-8 (*IL-8*, *interleukin-8*). Ponadto dostępne dane literaturowe podkreślają rolę cytokin, a szczególnie interleukin i chemokin w procesie powstawania i rozwoju tętniaków mózgu. Do grupy długołańcuchowych cytokin helikalnych typu I zaliczana jest także **leptyna**,

która w obecności cytokin prozapalnych, takich jak IL-1, IL-6 i TNF- α potęguje istniejący stan zapalny. Ponadto leptyna wraz z białkiem C-reaktywnym, interleukiną-1 oraz interleukiną-6 może być uważana za wczesne białko ostrej fazy zapalenia. Zaobserwowano, że poziom leptyny podnosi się podczas sepsy, a także w przebiegu wielu chorób zapalnych lub autoimmunologicznych, takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy czy stwardnienie rozsiane. Istnieją także doniesienia wskazujące na zmniejszenie stężenia leptyny u pacjentów z łżejszym przebieg choroby. Dostępna literatura sugeruje, że promuje ona rozwój wielu stanów patologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem nowotworzenia.

Białka mielinowe są kolejnymi ważnymi białkami w przebiegu chorób ośrodkowego układu nerwowego. Mielina jest składnikiem osłonek włókien nerwowych w obrębie ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. W wyniku zaburzeń funkcjonowania układu odpornościowego organizmu, białka mielinowe rozpoznawane są jako obce. Uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) są związane z nieprawidłowościami w działaniu systemu immunologicznego prowadzącymi do reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciwko antygenom mielinowym, w szczególności białkom osłonki mielinowej.

Jądrowy czynnik transkrypcyjny NF- κ B (NF- κ B, Nuclear-kappa B factor) pełni znaczącą rolę w procesach odpornościowych i zapalnych. Posiada on zdolność do hamowania apoptozy, indukcji proliferacji oraz nasilania procesu angiogenezy, co sugeruje, że NF- κ B może być istotnym czynnikiem w procesie onkogenezy i progresji nowotworu. Dostępne źródła naukowe podkreślają rolę czynnika jądrowego Kappa B, którego aktywacja w wyniku stresu hemodynamicznego oraz działania cytokin na ścianę tętnicy mózgowej inicjuje powstawanie tętniaków wewnątrzczaszkowych.

Powyżej opisane białka oraz te omówione w ramach analizy tematyki badawczej prac wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego były ponadto przedmiotem badań u dzieci z urazami termicznymi, urazami głowy oraz brzucha, u dzieci z zapaleniem wyrostka robaczkowego, u chłopców z wnetrostwem oraz u dorosłych z chorobami ośrodkowego układu nerwowego.

BADANIA W GRUPIE DZIECI Z URAZAMI OPARZENIOWYMI, URAZAMI GŁOWY ORAZ BRZUCHA

Wyniki eksperymentów przeprowadzonych u dzieci hospitalizowanych z powodu różnego typu urazów w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku zostały przedstawione m.in. w publikacjach oceniających chymotrypsynopodobną aktywność proteasomów 20S u dzieci oparzonych pt. **“Correlation between circulating proteasome activity, total protein and c-reactive protein levels following burn in children”** (Matuszczak E., Tylicka M., Dębek W., Hermanowicz A., Ostrowska H. *Burns* 2014; 40(5): 842-847) (MEiN: 25.000, IF: 1.880), u dzieci z łagodnymi urazami głowy pt. **“Circulating proteasome activity following mild head injury in children”** (Tylicka M., Matuszczak E., Dębek W., Hermanowicz A., Ostrowska H. *Child Nervous System* 2014; 30 (7):1191-1196) (MEiN: 20.000, IF: 1.114) oraz u dzieci z urazami brzucha pt. **“The comparison of C-proteasome activity in the plasma of children after burn injury,**

mild head injury and blunt abdominal injury” (Matuszczak E., Tylicka M., Dębek W., Hermanowicz A., Ostrowska H. *Advances in Medical Sciences* 2015; 60(2): 253-258) (MEiN: 15.000, IF: 1.211). Pierwsza z wyżej wymienionych prac wskazywała na istotne podwyższenie aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S 12-16 godzin od wystąpienia urazu termicznego, a wzrost tego parametru był zależny od ciężkości oparzenia. Podobnie wyniki drugiej pracy potwierdzały tendencję wzrostową aktywności ChT-L P20S już po 2-6 godzinach od wystąpienia łagodnego urazu głowy, przy czym jej najwyższa wartość była obserwowana po upływie 12-16 godzin od urazu. W trzeciej pracy aktywność ChT-L P20S oceniono po 2-6, 12-16 oraz 44-48 godzinach od wystąpienia tępego urazu brzucha i podobnie jak w przypadku uprzednio przebadanych urazów, aktywność chymotrypsynopodobna proteasomów 20S osiągnęła najwyższą wartość po 12-16 godzinach od wystąpienia urazu. Jednocześnie w ostatniej z wymienionych prac dokonałam porównania aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S zmierzonej po 12-16 godzinach od wystąpienia urazu oparzeniowego, łagodnego urazu głowy oraz tępego urazu brzucha. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazywały na istotnie podwyższoną wartość aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S u dzieci oparzonych oraz na niższe i zbliżone wartości tego parametru u dzieci z łagodnymi urazami głowy i tępyimi urazami brzucha. W przypadku każdego z przedstawionych w powyższych publikacjach urazu, aktywność ChT-L P20S po 12-16 godzinach była istotnie statystycznie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną.

Efektom kolejnych badań prowadzonych w grupie dzieci z oparzeniami była praca pt. ***”Application of SPR imaging biosensor for the measurement of 20S proteasomes in blood plasma of children with thermal injury***” (Matuszczak E., Tylicka M., Hermanowicz A., Dębek W., Sankiewicz A., Gorodkiewicz E. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 2016;46(4): 407-411) (MEiN: 15.000, IF: 0.727), która dotyczyła pomiaru stężenia proteasomów 20S w osoczu metodą powierzchniowego rezonansu plazmonowego (SPRI, *Surface Plasmon Resonance Imaging biosensor*) po upływie 2-6 godzin, 12-16 godzin, 3 dni, 5 dni i 7 dni od urazu termicznego. Wyniki uzyskane w tym badaniu pokazywały jednakowy trend zmienności w przypadku stężenia proteasomów, jak i wcześniej zbadanej aktywności chymotrypsynopodobnej. Zarówno w czasie 2-6, 12-16 godzin oraz 3 i 5 dni od wystąpienia urazu parametr ten był istotnie statystycznie podwyższony w porównaniu z grupą kontrolną, przy czym stężenie proteasomów 20S było najwyższe 12-16 godzin od wystąpienia urazu termicznego. Podobnie jak aktywność chymotrypsynopodobna proteasomów 20S, wartość stężenia P20S była zależna od ciężkości urazu.

Dalsze badania koncentrowały się również wokół tematyki proteasomów i proteasomalnej degradacji białek. Ponieważ proteasomy mogą także rozkładać białka, które uległy znakowaniu w procesie ubiquitynacji regulowanym przez enzymy deubikwitynujące takie jak UCHL1, następną pracą oryginalną pt. ***”Overexpression of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCHL1) in serum of children after thermal injury***” (Matuszczak E., Tylicka M., Dębek W., Sankiewicz A., Gorodkiewicz E., Hermanowicz A. *Advances in Medical Sciences* 2017; 62(1): 83-86) (MEiN: 15.000, IF: 2.064) dotyczyła pomiaru stężenia UCHL1 w pobranej krwi obwodowej od dzieci oparzonych oraz jego korelacji z ciężkością urazu. Doniesienia naukowe sugerują, że urazy termiczne inicjują szybką odpowiedź zapalną. Potwierdzenie tego stwierdzenia znajduje się w wyżej wspomnianej pracy,

której wyniki wskazują na szybki wzrost stężenia UCHL1 u dzieci już po 2-6 godzinach, a jego najwyższą wartość zaobserwowano po 12-16 godzin od wystąpienia urazu termicznego. Ponadto wyniki tej pracy podkreślają, że wzrost stężenia UCHL1 jest zależny od ciężkości oparzenia.

W celu poszerzenia realizowanego kierunku badań dotyczącego poszukiwania potencjalnych markerów odpowiedzi na urazy oparzeniowe u dzieci wraz z zespołem badawczym przeprowadziliśmy eksperyment mający na celu ocenę stężenia metaloproteiny-2, lamininy-5 oraz kolagenu typu IV w osoczu dzieci po upływie 2-6, 12-16 godzin, 3 dni, 5 oraz 7 dni od wystąpienia urazu. W pracy pt. **“Matrix metalloproteinase-2 and its correlation with 2 basal membrane components laminin-5 and collagen type IV in paediatric burn patients measured with Surface Plasmon Resonance Imaging (SPRI) biosensors” (Weremijewicz A., Matuszczak E., Sankiewicz A., Tylicka M., Komarowska M., Tokarzewicz A., Dębek W., Gorodkiewicz E., Hermanowicz A. Burns 2018; 44(4): 931-940) (MEiN: 25.000, IF: 2.247)** wykazaliśmy, że stężenia wszystkich badanych parametrów wzrastały we wczesnej odpowiedzi zapalnej na uraz termiczny. Jednocześnie, jak w przypadku wcześniejszych naszych badań prowadzonych w grupie dzieci, które uległy oparzeniom, największy wzrost stężeń badanych markerów był obserwowany po 12-16 godzinach od wystąpienia urazu. Jednakże zmiany stężenia MMP-2, lamininy-5 oraz kolagenu typu IV nie zależały od ciężkości oparzenia. Stężenia badanych parametrów ulegały obniżeniu odpowiednio w trzeciej i piątej dobie, a w siódmej dobie od wystąpienia urazu osiągnęły wartości porównywalne z uzyskanymi w grupie kontrolnej. W badaniu nie wykazaliśmy korelacji pomiędzy stężeniami metaloproteiny-2 i lamininy-5, która jest raczej degradowana przez innego typu metaloproteiny, a pozostaje nienaruszona w obecności MMP-2. Wyniki wskazują natomiast na silną, negatywną korelację pomiędzy stężeniem MMP-2 a stężeniem kolagenu IV, co może wynikać z faktu, że kolagen jest degradowany przez tę metaloproteinazę. Oznaczania stężenia MMP-2, lamininy-5 i kolagenu IV w osoczu przeprowadzane były z wykorzystaniem metody powierzchniowego rezonansu plazmonowego SPRI.

Powyższe publikacje, jako jedne z niewielu, wskazują na trend zmienności aktywności i stężenia proteasomów 20S oraz stężeń UCHL1, MMP-2, lamininy-5 i kolagenu IV w osoczu w czasie od wystąpienia urazu termicznego. Uzyskane wyniki zmieniających się w czasie od wystąpienia urazu stężeń analizowanych markerów pozwalają na ocenę kinetyki reakcji zapalnej w odpowiedzi na urazy oparzeniowe u dzieci.

W kolejnej pracy pt. **„Effects of combined Pulsed Dye Laser and Fractional CO2 Laser treatment of burn scars and correlation with plasma levels of collagen type I, MMP-2 and TIMP-1” (Matuszczak E., Weremijewicz A., Koper-Lenkiewicz OM., Kamińska J., Hermanowicz A., Dębek W., Komarowska M., Tylicka M. Burns 2021; 47(6): 1342-1351) (MEiN: 140.000, IF: 2.609)** wraz z zespołem badawczym przedstawiliśmy wyniki eksperymentu, którego tematyka dotyczyła oceny stężenia wybranych metaloproteinaz oraz jej tkankowych inhibitorów w osoczu dzieci z urazami oparzeniowymi. Projekt ten miał na celu ocenę osoczowych stężeń MMP-2, TIMP-1, alfa 1 kolagenu typu I oraz określenie wpływu pulsacyjnego lasera barwnikowego i frakcyjnego lasera CO2 na przerostowe blizny po oparzeniach. Blizny tego rodzaju powstają na skutek głębokiego termicznego uszkodzenia tkanek. Towarzyszy temu stan zapalny oraz nadmierne odkładanie się białek macierzy pozakomórkowej. Ponadto w przypadku przerostowych blizn mamy do czynienia z nadmierną produkcją

kolagenu oraz tworzeniem się nowych naczyń krwionośnych w tkankach. Doskonałe efekty w leczeniu blizn przerostowych uzyskuje się w przypadku zastosowania laserów. Najczęściej wykorzystuje się w tym celu pulsacyjny laser barwnikowy oraz frakcyjny laser CO₂, dlatego też zadanie badawcze zakładało ocenę ich efektywności w terapii blizn. W przeprowadzonym projekcie grupę badawczą stanowiły dzieci z bliznami kończyn i tułowia powstałymi po oparzeniach I i II stopnia. Były one poddawane procedurze leczenia, która zakładała wykorzystanie obu laserów. W pierwszej kolejności blizna była naświetlana pulsacyjnym laserem barwnikowym, a następnie frakcyjnym laserem CO₂. Terapia laserem zakładała wykonanie 4 takich zabiegów w przeciągu 6-8 tygodni. W tym czasie zostało zabezpieczone również osocze pochodzące od naświetlanych laserem pacjentów. Pierwsze pobranie krwi miało miejsce po przyjęciu do Kliniki Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku przed rozpoczęciem laseroterapii, a kolejne po upływie miesiąca od rozpoczęcia leczenia laserami. W zabezpieczonych próbkach oznaczyliśmy stężenie metaloproteinazy-2, tkankowego inhibitora metaloproteinazy-1 oraz kolagenu typu I. Uzyskane wyniki wskazywały, że stężenia wszystkich tych parametrów w osoczu dzieci z bliznami były istotnie statystycznie wyższe przed rozpoczęciem laseroterapii w porównaniu do grupy kontrolnej. Zaobserwowaliśmy również istotnie statystycznie obniżenie stężeń MMP-2 i TIMP-1 po upływie miesiąca od rozpoczęcia procedury leczenia, co może być związane ze zredukowaniem blizny po naświetlaniu laserem. Wykazaliśmy także obniżenie stężenia kolagenu typu I. Ponadto ocena blizny u badanych pacjentów po zakończonej laseroterapii pozwoliła na wyciągnięcie wniosków, że stosowana terapia laserowa wpłynęła korzystnie na bliznę, poprawiając jej teksturę, koloryt, czy też łagodząc świąd.

Przeprowadzony eksperyment pozwolił na jednoczesną ocenę wpływu laseroterapii na zbadane markery odpowiedzi zapalnej oraz na parametry blizny powstałej w następstwie urazu oparzeniowego.

BADANIA W GRUPIE DZIECI Z ZAPALENIEM WYROSTKA ROBACZKOWEGO

Tematyka kolejnych badań skupiała się na grupie dzieci hospitalizowanych i leczonych chirurgicznie z powodu zapalenia wyrostka robaczkowego w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku.

W pracy oryginalnej pt. ***"Concentration of UHCL1 in the serum of children with acute appendicitis, before and after surgery, and its correlation with CRP and prealbumin"*** (Matuszczak E., Tylicka M., Dębek W., Tokarzewicz A., Gorodkiewicz E., Hermanowicz A. *Journal of Investigative Surgery* 2018; 31(2): 136-141) (MEIN: 20.000, IF: 1.642) we krwi dzieci pobranej przed operacją oraz po upływie 24 i 72 godzin od zabiegu otwartej lub laparoskopowej appendektomii (chirurgiczne usunięcie wyrostka robaczkowego) wraz z zespołem badawczym oceniliśmy stężenia UCHL1, białka C-reaktywnego oraz prealbuminy. Stężenie UCHL1 oznaczone metodą powierzchniowego rezonansu plazmonowego SPRI było istotnie statystycznie podwyższone u pacjentów przed operacją w porównaniu do stężenia tego parametru po przeprowadzonym zabiegu usunięcia wyrostka robaczkowego. Wyższe stężenie UCHL1 przed appendektomią mogło być związane z ostrym stanem zapalnym wyrostka robaczkowego. Stężenie enzymu deubikwitynującego karboksy-

terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 oznaczone 24 oraz 72 godziny po operacji było istotnie statystycznie wyższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednocześnie zastosowana metoda operacji (otwarta oraz laparoskopowa) nie wpływała na zmiany stężenia UCHL1 we krwi dzieci poddawanych usunięciu wyrostka robaczkowego. Nasze badania dostarczają wniosków, że sama resekcja wyrostka, niezależnie od stosowanego typu procedury, może być czynnikiem wpływającym na redukcję odpowiedzi zapalnej u pacjentów z rozpoznaniem ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego. Opublikowane wyniki mogą wskazywać na związek markera UCHL1 z występowaniem procesów zapalnych. Mogą to także potwierdzać otrzymane korelacje pomiędzy stężeniem tego enzymu a stężeniami białek ostrej fazy, będącymi ważnymi diagnostycznymi markerami w przebiegu odpowiedzi zapalnej.

Wyniki kolejnego eksperymentu koncentrującego się na poszukiwaniu markerów odpowiedzi zapalnej u dzieci poddawanych zabiegom appendektomii zostały przedstawione w pracy pt. „**Concentration of proteasome in the blood plasma of children with acute appendicitis, before and after surgery, and its correlation with CRP**” (Matuszczak E., Tylicka M., Debek W., Sankiewicz A., Gorodkiewicz E., Hermanowicz A. *World Journal of Surgery* 2018; 42 (7): 2259-2264) (MEiN: 35.000, IF: 2.768). Celem tego zadania badawczego była ocena stężenia proteasomów 20S w osoczu dzieci, u których zdiagnozowano ostre zapalenie wyrostka robaczkowego. Trend zmian stężenia P20S był analogiczny do przedstawionego w badaniu dotyczącym UCHL1, co może być związane z udziałem obu badanych parametrów w degradacji proteasomalnej towarzyszącej odpowiedzi immunologicznej i zapalnej. Stężenie proteasomów 20S w osoczu pacjentów było mierzone z wykorzystaniem metody SPRI. Podobnie jak w przypadku UCHL1, stężenie P20S było istotnie statystycznie wyższe przed zabiegiem w porównaniu do wartości zmierzonej po przeprowadzonej appendektomii. Następnie zaobserwowaliśmy obniżenie stężenia badanego parametru 24 godziny, a następnie 72 godziny po zabiegu. Stężenie P 20S nie różniło się istotnie statystycznie u dzieci, które operowano metodą laparoskopową oraz otwartą. Przeprowadzony eksperyment wskazał również na istnienie korelacji pomiędzy stężeniem białka C-reaktywnego, a stężeniem P20S w osoczu u dzieci po przeprowadzonym chirurgicznym usunięciu wyrostka robaczkowego. Uzyskane wyniki sugerują, że zmiany stężenia proteasomów 20S, podobnie jak stężenia UCHL1, mogą odzwierciedlać odpowiedź organizmu na ostre zapalenie wyrostka robaczkowego. Natomiast przeprowadzone leczenie w formie zabiegu chirurgicznego, niezależnie od zastosowanej metody, może wpływać na redukcję jej nasilenia, a tym samym na obniżenie stężenia proteasomów 20S.

W kolejnym etapie badań prowadzonych w grupie młodych pacjentów zdiagnozowanych z powodu ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego wraz z zespołem badawczym skupiliśmy się na oznaczeniu stężenia katepsyny B (*Kat B*) i poszukiwaniu korelacji między stężeniem tej proteazy, a stężeniem proteasomów. Zwieńczeniem tego przedsięwzięcia naukowego była praca pt. „**Determination of the concentration of cathepsin B by SPRI biosensor in children with appendicitis, and its correlation with proteasomes**” (Matuszczak E., Komarowska M., Tylicka M., Dębek W., Gorodkiewicz E., Tokarzewicz A., Sankiewicz A., Hermanowicz A. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2018; 27(11):1529-1534) (MEiN: 15.000, IF: 1.227). W tym projekcie badawczym ocenione zostały stężenia katepsyny B oraz proteasomów 20S metodą SPRI w osoczu

dzieci przed operacją, 24 godziny oraz 72 godziny po zabiegu chirurgicznego usunięcia wyrostka robaczkowego. Ze względu na potencjalne znaczenie obu tych parametrów w przebiegu chorób zapalnych przeanalizowaliśmy również istnienie korelacji pomiędzy stężeniami Kat B oraz proteasomów 20S w osoczu dzieci z ostrym zapaleniem wyrostka robaczkowego. Poddany ocenie został także wpływ rodzaju przeprowadzonej interwencji chirurgicznej (otwarta, laparoskopowa) na badane parametry. Wyniki eksperymentu wskazują na istotne statystycznie podwyższenie stężenia katepsyny B w przebiegu ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego w odniesieniu do grupy kontrolnej. Parametr ten osiągnął najwyższy poziom po upływie 24 godzin od zabiegu, a po 72 godzinach obserwowane było obniżenie jego stężenia, które nadal było istotnie statystycznie podwyższone w porównaniu do pacjentów z grupy kontrolnej. Stężenie proteasomów 20S było najwyższe przed zabiegiem, natomiast po upływie 24 i 72 godzin od przeprowadzonej operacji obserwowane było jego nieznaczne obniżenie. Nasze badanie nie wykazało istotnych statystycznie różnic między stężeniami Kat B i P20S u dzieci operowanych metodą klasyczną i laparoskopową. Zaobserwowaliśmy natomiast silną, dodatnią korelację między tymi parametrami po upływie 24 godzin od zabiegu chirurgicznego usunięcia wyrostka robaczkowego. Może to wskazywać na fakt, że zarówno system lizosomalny, jak i proteosomalny są zaangażowane w procesy proteolityczne, które nasilają się w warunkach patologicznych, a w tym przypadku na skutek stanu zapalnego czy przeprowadzonej interwencji chirurgicznej.

Powyższe badania wiązały się z oceną stężeń UCHL1, proteasomów 20S oraz katepsyny B w osoczu w odpowiedzi na zapalenie wyrostka robaczkowego oraz z analizą wpływu przeprowadzonego zabiegu chirurgicznego usunięcia wyrostka na analizowane parametry odpowiedzi zapalnej, co nie było wówczas przedmiotem intensywnych badań.

Na tematykę kolejnego zadania badawczego miała wpływ zaistniała sytuacja epidemiologiczna związana z pojawieniem się wirusa SARS-CoV-2. Skłoniła ona nasz zespół badawczy do przeprowadzenia oceny wpływu pandemii na przebieg i leczenie zapalenia wyrostka robaczkowego w populacji pediatrycznej. Rezultaty tego projektu naukowego zostały opublikowane w pracy pt. **„Impact of the SARS-CoV-2 pandemic on the course and treatment of appendicitis in the pediatric population” (Pawelczyk A., Kowalska M., Tylicka M., Koper-Lenkiewicz OM., Komarowska M., Hermanowicz A., Dębek W., Matuszczak E. *Scientific Reports*. 2021; 11(7): pp, Article ID 23999) (MEiN: 140.000, IF: 4.997)**. Zadanie badawcze miało na celu przeanalizowanie przebiegu oraz wyników leczenia chirurgicznego u dzieci, które były poddawane zabiegowi appendektomii przed pandemią oraz w czasie jej trwania. Grupy badawcze były porównywane pod kątem metody i przebiegu leczenia, czasu hospitalizacji oraz występowania komplikacji. Przeprowadzone obserwacje pozwoliły na wyciągnięcie wniosków, że lęk przed byciem zainfekowanym, ograniczenie i przeorganizowanie dostępu do służby zdrowia opóźniało diagnozę i leczenie z powodu zapalenia wyrostka robaczkowego. Skutkowało to zwiększoną ilością przypadków z komplikacjami, które były poddawane otwartej appendektomii i drenażowi jamy brzusznej. Powyżej wymienione ograniczenia wynikające z sytuacji epidemiologicznej spowodowały u pacjentów leczonych w czasie pandemii zwiększenie ilości zabiegów przeprowadzanych techniką otwartą w stosunku do zabiegów laparoskopowych. Wpłynęło to również na dłuższy czas ich hospitalizacji.

BADANIA W GRUPIE CHŁOPCÓW Z WNĘTROSTWEM

Kolejne realizowane zagadnienia badawcze dotyczyły grupy chłopców przyjętych do Kliniki Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku z powodu planowanego operacyjnego leczenia wnetrostwa.

Praca pt. **“20S proteasome in the blood plasma of boys with cryptorchidism” (Toliczenko-Bernatowicz D., Matuszczak E., Tylicka M., Sankiewicz A., Komarowska M., Gorodkiewicz E., Dębek W., Hermanowicz A. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2018; 41(9): 1103-1106) (MEiN: 15.000, IF: 3.439)** była kontynuacją tematyki badawczej dotyczącej zwiększającej się aktywności chymotrypsynopodobnej i stężenia proteasomów 20S w odpowiedzi na różnego typu stany patologiczne u dzieci. Projekt ten miał na celu oznaczenie stężenia P20S w osoczu chłopców przyjętych w celu planowego leczenia operacyjnego wnetrostwa, czyli wady rozwojowej u noworodków płci męskiej. Jest ona związana z tym, że jądra pozostają w kanale pachwinowym lub jamie brzusznej, a podwyższona temperatura tam panująca działa negatywnie na plemniki i spermatogenezę. Dokładna przyczyna występowania tej wady nie jest znana, ale kwalifikuje się ona do bezwzględnego leczenia ze względu na dalsze ryzyko związane z niepłodnością lub nowotworem jąder. W powyższej pracy wraz z zespołem badawczym wykazaliśmy istotny statystycznie wzrost stężenia proteasomów 20S w osoczu pacjentów z wnetrostwem w porównaniu do chłopców nieposiadających tej wady. Ponadto zaobserwowaliśmy istotną statystycznie różnicę pomiędzy stężeniem P20S w osoczu pacjentów w wieku do dwóch lat względem starszych pacjentów, u których wartość tego parametru była wyższa. Doniesienia naukowe wskazują na rolę systemu ubikwityna-proteasom w patofizjologii wnetrostwa. Potwierdzone eksperymentem podwyższone stężenie proteasomów 20S u chłopców z wnetrostwem może być związane z indukowaną ciepłem apoptozą komórek rozrodczych. Ponadto wyższe stężenie u pacjentów powyżej drugiego roku życia najprawdopodobniej wskazuje na fakt, że apoptoza jest bardziej nasiloną na skutek dłuższego narażenia na podwyższoną temperaturę.

Odnosząc się do wyników wcześniejszego eksperymentu, które wskazują na rolę systemu ubikwityna-proteasom w patofizjologii wnetrostw w kolejnej pracy pt. **„Overexpression of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1 (UCHL1) in boys with cryptorchidism” (Toliczenko-Bernatowicz D., Matuszczak E., Tylicka M., Szymańska B., Komarowska M., Gorodkiewicz E., Debek W., Hermanowicz A. *PLOS ONE*. 2018;13(2): e0191806, 10pp) (MEiN: 40.000, IF: 2.776)** przeanalizowaliśmy zmiany stężenia enzymu deubikwitynującego UCHL1 w osoczu u chłopców z wnetrostwem względem zdrowych chłopców, u których ta wada nie występowała, a którzy zostali przyjęci do Kliniki Chirurgii i Urologii Dziecięcej z powodu planowanej herniotomii. Stężenie karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 zostało oznaczone z wykorzystaniem metody powierzchniowego rezonansu plazmonowego SPRI. Podobnie jak w przypadku eksperymentu, w którym stwierdzono istotny wzrost stężenia proteasomów 20 S u dzieci z wnetrostwem, zaobserwowaliśmy również istotny statystycznie 5-krotny wzrost stężenia UCHL-1 w osoczu pacjentów z grupy badanej względem grupy kontrolnej. Ponadto analogicznie jak w poprzednim eksperymencie dla stężenia P20S, stężenie badanego enzymu deubikwitynującego różniło się istotnie statystycznie u chłopców z wnetrostwem w wieku do 2 lat w porównaniu do pacjentów starszych. Wyższe stężenie tego parametru

zaobserwowano u chłopców starszych. W pracy tej dodatkowo przeanalizowaliśmy poziom markerów diagnostycznych AMH, Inhibiny B oraz INSL3. Badanie AMH u chłopców może być użyte w celu oceny zaburzeń wydzielania androgenów oraz w diagnostyce niewydolności hormonalnej jąder. Mierzalne wartości stężenia AMH u chłopców z obustronnym wnetrostwem są oznaką niezstąpionych jąder. Stężenie AMH, czyli hormonu produkowanego przez komórki Sertoliego płodowych jąder u dzieci z wnetrostwem, nieznacznie wzrosło w porównaniu do grupy kontrolnej. Nieistotny statystycznie wzrost u dzieci z grupy badanej względem grupy kontrolnej zaobserwowaliśmy również w przypadku inhibiny B, która jest również produkowana przez komórki Sertoliego oraz bierze udział w kontrolowaniu spermatogenezy. Mimo doniesień wiążących białko insulinopodobne 3 z patofizjologią wnetrostw, nasz eksperyment nie wykazał, istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem białka INSL 3 u dzieci z wadą niezstąpionych jąder względem dzieci zdrowych. Nie zaobserwowaliśmy również istotnych statystycznie korelacji między tymi parametrami diagnostycznymi, a stężeniem UCHL1 w osoczu chłopców z wnetrostwem. Przeprowadzone badanie wskazuje, że wzrost UCHL1 występuje w warunkach patologicznych, co może być związane z hipertermią brzuszną. Wada niezstąpionych jąder wiąże się z podwyższeniem temperatury, która indukuje apoptozę komórek rozrodczych. Uzyskane w tym eksperymencie wyniki mogą potwierdzać, że stężenie karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 w osoczu wzrasta istotnie w warunkach stresu cieplnego, czego nie można zaobserwować w przypadku pozostałych przebadanych parametrów.

Wyniki dalszych badań dotyczących poszukiwania markerów odpowiedzi na zmiany patofizjologiczne zachodzące u chłopców z wnetrostwem zostały opublikowane w pracy pt. **"Plasma concentration of MMP-1 and MMP-2 in boys with cryptorchidism and its lack of correlation with INSL3 and inhibin B"** (Matuszczak E., Komarowska M., Sankiewicz A., Ołdak Ł., Gorodkiewicz E., Dębek W., Milewski R., Tylicka M., Hermanowicz A. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*. 2019; 79(6): 412-418) (MEiN: 70.000, IF: 1.475). Celem tego projektu badawczego była ocena stężeń metaloproteinazy-1 oraz metaloproteinazy-2 w osoczu chłopców z wnetrostwem oraz skorelowanie ich ze stężeniem inhibiny B oraz białka insulinopodobnego 3. Niezstąpione jądra narażone są na wpływ podwyższonej temperatury panującej w jamie brzusznej, co z kolei wpływa niekorzystnie na jądra i spermatogenezę. Potwierdzeniem powyższej wiedzy mogą być wyniki naszego eksperymentu, w którym zaobserwowaliśmy istotny statystycznie około 2-krotny wzrost stężenia MMP-1 oraz MMP-2 u chłopców z wnetrostwem w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie wykazaliśmy natomiast korelacji między stężeniami tych metaloproteinaz, a stężeniem INSL3 i inhibiny B. Na podstawie przeprowadzonego badania możemy wnioskować, że znaczący wzrost stężenia MMP-1 oraz MMP-2 może być związany z apoptozą komórek rozrodczych w niezstąpionych jądrach w odpowiedzi na stres cieplny, który istotnie nie wpływa na stężenia INSL3 i inhibiny B.

BADANIA W GRUPIE DOROSŁYCH Z CHOROBYMI OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Dostęp do materiału pochodzącego od osób dorosłych, u których zdiagnozowano choroby ośrodkowego układu nerwowego (OUN) pozwolił naszemu zespołowi badawczemu na poszerzenie

badań o eksperymenty prowadzone u dorosłych pacjentów z pierwotnymi guzami mózgu, niepękniętymi tętniakami wewnątrzczaszkowymi czy ze stwardnieniem rozsianym.

Wykorzystując dostępną wiedzę, która sugerowała udział chemokin CXCL8 oraz CCL2 w przebiegu guzów astrocytarnych mózgu i wskazywała na fakt, że niewłaściwe funkcjonowanie proteolizy w proteasomach może być przyczyną powstawania chorób nowotworowych przeprowadziliśmy eksperyment, którego efekty przedstawiliśmy w pracy pt. **"Elevated plasma 20S proteasome chymotrypsin-like activity is correlated with IL-8 levels and associated with an increased risk of death in glial brain tumor patients"** (Koper-Lenkiewicz OM., Kamińska J., Reszeć J., Dymicka-Piekarska V., Ostrowska H., Karpińska M., Matowicka-Karna J., Tylicka M. *PLoS One* 2020;15(9): 18 pp, Article ID 0238406) (MEiN: 100.000; IF: 3.240). Przeprowadzone do tej pory badania wykazały, że chemokiny pełnią funkcję w embriogenezie, organogenezie i angiogenezie. Ponadto udowodniono ich rolę w powstawaniu i progresji nowotworów, patogenezie chorób autoimmunologicznych, czy też chorób układu sercowo-naczyniowego. Doniesienia naukowe wskazują również na ważną rolę proteasomów w prezentacji antygeny. W przypadku nowotworów dysregulacja procesu katalitycznego może przyczyniać się do progresji choroby, oporności na leki oraz do zmian w kontrolnych mechanizmach immunologicznych. Dlatego też celem tej pracy było sprawdzenie hipotezy badawczej, czy zwiększona aktywność chymotrypsynopodobna proteasomów 20S może mieć związek ze stężeniem chemokin CXCL8 i CCL2 u pacjentów z guzami. Grupę badaną stanowili pacjenci z wcześniej nieleczonym pierwotnym glejakiem mózgu, a grupę kontrolną pacjenci z neuralgią nerwu trójdzielnego, u których wykluczono guza ośrodkowego układu nerwowego(OUN). Zarówno pacjenci z grupy badanej jak i grupy kontrolnej byli poddawani leczeniu operacyjnemu w Klinice Neurochirurgii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. W przeprowadzonym eksperymencie oceniliśmy stężenia CXCL8, CCL2, NF-κB1 oraz NF-κB2 w surowicy przy użyciu metody ELISA. Aktywność ChT-L P20S została oznaczona metodą fluorescencyjną. Wyniki eksperymentu wskazywały, że aktywność ChT-L proteasomów 20S u pacjentów z glejakami była istotnie statystycznie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazaliśmy również istnienie dodatniej korelacji między aktywnością chymotrypsynopodobną proteasomów 20S i stężeniem chemokiny CXCL8, natomiast nie zaobserwowaliśmy związku korelacyjnego między ChT-L P20S oraz stężeniami CCL2, NF-κB1, a także NF-κB2. Kolejną obserwacją wynikającą z przeprowadzonego eksperymentu było istnienie związku podwyższonej aktywności chymotrypsynopodobnej proteasomów 20S ze zwiększonym ryzykiem zgonu z powodu guza mózgu w okresie 2-letniej obserwacji. Wyniki przedstawione w pracy mogą sugerować, że podwyższona aktywność ChT-L proteasomów 20S jest związana ze zwiększonym ryzykiem zgonu. Natomiast występowanie dodatniej korelacji pomiędzy aktywnością chymotrypsynopodobną proteasomów 20S a stężeniem chemokiny CXCL8 u pacjentów z guzami glejowymi mózgu może wskazywać na molekularne mechanizmy regulujące biologię guza.

Kontynuując badania dotyczące poszukiwania potencjalnych diagnostycznych markerów u pacjentów z nowotworami mózgu wraz z dr hab.n.med. Olgą Martyną Koper-Lenkiewicz oraz dr n.med. Joanną Kamińską nawiązałyśmy współpracę z prof. Robertem Pawlakiem kierującym Laboratory of Neuronal Plasticity and Behaviour na University of Exeter Medical School w Wielkiej Brytanii. W jej wyniku powstała i została opublikowana publikacja naukowa pt. **„Myelin-associated**

proteins are potential diagnostic markers in primary brain tumor patients” (Koper-Lenkiewicz OM., Milewska AJ., Kamińska J., Sawicki K., Chrzanowski R., Zińczuk J., Reszeć J., Tylicka M., Matuszczak E., Matowicka-Karna J., Mariak Z., Mucha M., Pawlak R., Dymicka-Piekarska V., *Annals of Medicine*. 2021; 53(1): 1710-1721) (MEiN: 100.000, IF: 5.348). Jej celem była ocena stężenia glikoproteiny związanej z mieliną (MAG, *myelin-associated glycoprotein*), mielinowej glikoproteiny oligodentocytów (OMgp, *oligodendrocyte glycoprotein*) oraz Nogo-A w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i surowicy pacjentów z pierwotnymi guzami mózgu. Wyniki przeprowadzonego eksperymentu wskazywały na statystycznie istotnie obniżone stężenia MAG w surowicy oraz Nogo-A w płynie mózgowo-rdzeniowym w grupie badanej w porównaniu do osób bez choroby nowotworowej w obrębie OUN. Ponadto wraz z zespołem badawczym zaobserwowaliśmy, że obniżone stężenie Nogo-A w PMR wiązało się z istotnie niższym prawdopodobieństwem przeżycia. Przeprowadzane badanie sugeruje, że ocena stężenia białek związanych z mieliną może mieć pewne znaczenie w diagnostyce pierwotnych guzów mózgu, a oznaczanie stężenia Nogo-A w płynie mózgowo-rdzeniowym może pozwolić na ocenę rokowań przeżycia pacjentów z pierwotnymi guzami mózgu.

Dalsze rozwijanie tematyki związanej z chorobami nowotworowymi skłoniło nas do przeprowadzenia kolejnego eksperymentu, którego wyniki zostały opublikowane w pracy pt. **„Plasma concentration of Bisphenol A and leptin in patients with meningioma and glioma: a pilot study” (Komarowska M., Chrzanowski R., Tylicka M., Rutkowski R., Mariak Z., Żelazowska-Rutkowska B., Łysoń T., Hermanowicz A., *Advances in Medical Sciences* 2022; 67(2):229-233) (MEiN: 100.000, IF: 2.852).** Celem tego zadania badawczego było oznaczenie stężenia Bisfenolu A (BPA) oraz leptyny w osoczu pacjentów z oponiakami i glejakami. Grupę badaną stanowiło 53 pacjentów przyjętych do Kliniki Neurochirurgii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku ze zdiagnozowanymi pierwotnymi guzami mózgu. Stężenie Bisfenolu A w osoczu oznaczyliśmy z wykorzystaniem techniki analitycznej chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas, a stężenie leptyny metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Bisfenol A jest powszechnie wykorzystywany w produkcji opakowań, które mogą być źródłem tego związku chemicznego w ludzkim organizmie. Analiza stężenia tego parametru jest o tyle ważna, że Bisfenol A powoduje poważne skutki dla zdrowia. Wywołuje on zaburzenia zdrowotne i odgrywa ważną rolę w patogenezie wielu nowotworów, takich jak rak sutka, jajnika, gruczołu krokowego, jelita grubego. Uzyskane w eksperymencie stężenia ocenianych parametrów w osoczu pacjentów z glejakami oraz oponiakami były znacznie podwyższone względem grupy kontrolnej. Co więcej w przeciwieństwie do leptyny, stężenia Bisfenolu A w obu grupach badanych nie różniły się istotnie statystycznie. Nasze wstępne badania wskazują na wzrost stężenia BPA oraz leptyny u pacjentów z pierwotnymi guzami mózgu (glejaki, oponiaki), ale dalsze badania muszą być przeprowadzone, żeby przeanalizować ich wpływ na patogenezę oraz na przebieg kliniczny glejaków i oponiaków. Przedstawiony eksperyment potwierdził, że podwyższone stężenie Bisfenolu A może mieć związek z pierwotnymi guzami mózgu, a wzrost jego stężenia może wynikać z przenikania tego związku do organizmu ludzkiego poprzez układ pokarmowy w wyniku migracji z opakowań plastikowych i puszek lub poprzez układ oddechowy czy skórę.

Chęć dalszego pogłębienia wiedzy dotyczącej chorób ośrodkowego układu nerwowego zaowocowała cyklem publikacji, które powstały we współpracy z dr n.med. Joanną Kamińską oraz

dr hab.n.med. Olga Martyną Koper-Lenkiewicz i przedstawiały wyniki badań przeprowadzonych na grupie pacjentów z niepękniętymi tętniakami wewnątrzczaszkowym (*UIA, unruptured brain aneurysm*). W pracy pt. **"Ratio of IL-8 in CSF versus serum is elevated in patients with unruptured brain aneurysm"** (Kamińska J., Łysoń T., Chrzanowski R., Sawicki K., Milewska A., Tylicka M., Zińczuk J., Matowicka-Karna J., Dymicka-Piekarska V., Mariak Z., Koper-Lenkiewicz OM. *Journal of Clinical Medicine* 2020;9(6): 17 pp., Article ID 1761) (MEiN: 140.000, IF: 4.242) wraz z zespołem badawczym oznaczyliśmy stężenie chemokiny CXCL8 (IL-8) i białka chemotaktycznego monocytów 1 (MCP-1/CCL2) w surowicy oraz płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z niepękniętym tętniakiem wewnątrzczaszkowym w porównaniu do pacjentów z grupy kontrolnej. W dostępnej literaturze są jedynie pojedyncze doniesienia dotyczące oceny stężenia IL-8 oraz MCP-1 u pacjentów z tętniakami wewnątrzczaszkowymi. Przeprowadzony eksperyment wykazał, że stężenie IL-8 w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z niepękniętym tętniakiem wewnątrzczaszkowym było istotnie statystycznie wyższe niż w surowicy, co może świadczyć o lokalnej jej syntezie w ośrodkowym układzie nerwowym. Ponadto przedstawione wyniki sugerowały istnienie związku między stężeniem IL-8 w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów, a rozmiarem tętniaka. Może to wskazywać na udział tej chemokiny w powstawaniu i rozwoju tętniaków mózgu. Wskaźnik IL-8 (stężenie IL-8 w płynie mózgowo-rdzeniowym podzielone przez stężenie IL-8 w surowicy) w grupie badanej był istotnie wyższy w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Analiza przydatności diagnostycznej wskazała na umiarkowaną użyteczność zastosowania oceny wskaźnika IL-8 w diagnostyce pacjentów z niepękniętym tętniakiem mózgu.

Kolejnym efektem badań nad markerami niepękniętego tętniaka wewnątrzczaszkowego (*UIA*) była publikacja pt. **"IL-6 Quotient (the ratio of cerebrospinal fluid IL-6 to serum IL-6) as a biomarker of an unruptured intracranial aneurysm"** (Kamińska J., Dymicka-Piekarska V., Chrzanowski R., Sawicki K., Milewska A., Zińczuk J., Tylicka M., Jadeszko M., Mariak Z., Kratz EM., Matowicka-Karna J., Kornhuber J., Lewczuk P., Koper-Lenkiewicz OM., *Journal of Inflammation Research*. 2021; 11(7): 6103-6141) (MEiN: 140.000, IF: 4.631) powstała we współpracy z profesorem Johannes Kornhuber- kierownikiem Department of Psychiatry and Psychotherapy oraz profesorem Piotrem Lewczukiem – kierownikiem Laboratory for Clinical Neurochemistry and Neurochemical Dementia Diagnostics, Universitätsklinikum Erlangen w Niemczech. Biorąc pod uwagę doniesienia literaturowe, które wskazują na ważną rolę interleukiny-6 w powstawaniu, a zwłaszcza progresji tętniaków wewnątrzczaszkowych, oceniono stężenie interleukiny-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w surowicy pacjentów z niepękniętymi tętniakami wewnątrzczaszkowymi. Miało to na celu sprawdzenie hipotezy badawczej, czy IL-6 bierze udział w powstawaniu tętniaków. Przeprowadzony projekt badawczy zawierał również element nowatorski związany z analizą uzyskanych wyników dla interleukiny-6 w zależności od funkcjonalności i integralności bariery krew-PMR oraz integralności bariery krew-mózg u pacjentów z tętniakami. Wyniki tego badania wskazały na znamienny około 2-krotny wzrost IL-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym w porównaniu do surowicy u pacjentów z niepękniętymi tętniakami wewnątrzczaszkowymi. Może to sugerować lokalną syntezę tej interleukiny w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i potwierdzać jej zaangażowanie w powstawanie tętniaków wewnątrzczaszkowych. Podobnie wyliczony współczynnik IL-6 (stężenie IL-6 w płynie mózgowo-

rdzeniowym/stężenie IL-6 w surowicy) był istotnie statystycznie wyższy w grupie badanej w porównaniu do osób bez zmian naczyniowych w obrębie OUN. Istotnym rezultatem przedstawionym w publikacji jest obserwacja o braku zależności stężenia interleukiny-6 w PMR oraz wartości współczynnika IL-6 od funkcjonalności i integralności badanych barier. Dowodzi to, że wzrost stężenia IL-6 w płynie mózgowo-rdzeniowym następuje na skutek formującego się tętniaka i nie ma związku z funkcjonalnością obu barier.

Dalsze badania z tego zakresu zostały podsumowane w opublikowanej pracy pt. **“Canonical NF-KB signaling pathway and GRO- α /CXCR2 axis are activated in unruptured intracranial aneurysm patients”** (Kamińska J., Tylicka M., Dymicka-Piekarska V., Mariak Z., Matowicka-Karna J., Koper-Lenkiewicz OM. *Scientific Reports* 2022; 12 (1): 10 pp, Article ID 21375) (MEiN: 140.000, IF: 4.997). Cel tego eksperymentu wiązał się z oceną roli klasycznego szlaku NF- κ B oraz stężenia GRO- α i jego receptora CXCR2 w powstawaniu tętniaków wewnątrzczaszkowych. Temat ten nie był do tej pory przedmiotem badań naukowych. Aktywacja szlaku NF- κ B wiąże się z przewlekłą odpowiedzią zapalną, co może indukować m.in. chemokiny GRO- α /CXCL1 sprzyjające angiogenezie. Badanie to wykazało istotny wzrost stężenia chemokiny GRO- α i jej receptora CXCR2 w PMR u pacjentów z UIA w porównaniu do osób bez zmian naczyniowych w obrębie OUN. Może to być związane z aktywacją klasycznego szlaku NF- κ B i obniżeniem stężenia NF- κ B p65 w PMR i surowicy u pacjentów z niepękniętymi tętniakami wewnątrzczaszkowymi. Wnioski wyływające z tego badania sugerują, że chemokina GRO- α , jak i jej receptor są syntetyzowane lokalnie, co jest związane z obecnością tętniaka wewnątrzczaszkowego oraz wskazują na potencjalne znaczenie klasycznego szlaku NF- κ B z udziałem podjednostki NF- κ B p65 i osi GRO- α /CXCR2 w powstawaniu tętniaków wewnątrzczaszkowych,

Kolejne zadanie badawcze przeprowadzone we współpracy z Evgenija Homšak – kierownikiem Laboratory for Hormone and Autoimmune Diagnostics University Clinical Centre Maribor oraz Department for Clinical Biochemistry Faculty of Medicine, University in Maribor dotyczyło analizy specyficznych markerów osoczowych u pacjentów, u których zdiagnozowano stwardnienie rozsiane (MS, Multiple Sclerosis). Jego wyniki zostały opublikowane w pracy pt. **“UCHL1, besides leptin and fibronectin, also could be a sensitive marker of the relapsing-remitting type of multiple sclerosis”** (Górska E., Tylicka M., Hermanowicz A., Matuszczak E., Sankiewicz A., Gorodkiewicz E., Hermanowicz J., Karpińska E., Socha K., Kochanowicz J., Jakoniuk M., Kamińska J., Homšak E., Koper-Lenkiewicz OM. *Scientific Reports* 2023; 13, 10 pp., Article ID: 3423) (MEiN: 140.000, IF: 4.997). Celem tego eksperymentu była ocena stężeń UCHL1, leptyny i fibronektyny (FN, fibronectin) w osoczu pacjentów, u których zdiagnozowano rzutowo-remisyjną postać MS (RRMS, relapsin-remitting type of multiple sclerosis) charakteryzującą się pojawianiem nawrotów, ataków czy zaostrzeń MS oraz okresów powrotów do zdrowia. Oznaczenia stężeń badanych parametrów wykonano metodą powierzchniowego rezonansu plazmonowego SPRI. Leptyna może pełnić ważną rolę w patogenezie MS poprzez udział w regulacji odpowiedzi zapalnej. W stwardnieniu rozsianym zapalenie o podłożu autoimmunologicznym prowadzi również do demielinizacji, czyli uszkodzeniu osłonek mielinowych. Niepowodzenia remielinizacji, czyli działań naprawczych mieliny w przebiegu stwardnienia rozsianego, mogą być z kolei związane z ekspresją fibronektyny. Może to wskazywać na istotną rolę tego białka występującego w macierzy pozakomórkowej w patogenezie choroby. Badania nad enzymem

deubikwytynującym karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1 w przebiegu MS nie były do tej pory prowadzone na szeroką skalę. Istnieją natomiast doniesienia, które podkreślają jego znaczenie we właściwym funkcjonowaniu układu nerwowego. Ponadto UCHL1 odgrywa ważną rolę w procesach naprawczych uszkodzonych aksonów i neuronów oraz w reakcjach zapalnych. Na podstawie przeprowadzonego zadania badawczego zaobserwowaliśmy, że zarówno stężenia leptyny, fibronektyny, jaki i UCHL1 w osoczu pacjentów z RRMS były istotnie statystycznie podwyższone w porównaniu do grupy kontrolnej, przy czym największy wzrost dotyczył stężenia karboksy-terminalnej hydrolazy ubikwityny L1. Zbadane parametry nie korelowały z wiekiem pacjentów, z liczbą lat, które minęły od pierwszych objawów, z liczbą lat od zdiagnozowania choroby, z liczbą rzutów w przeciągu 24 miesięcy obserwacji czy ze skalą niewydolności ruchowej Kurtzkiego (EDSS). Na tej podstawie wyciągnęliśmy wnioski, że nie tylko leptyna i fibronektyna, ale również UCHL1 w osoczu może być obiecującym markerem rzutowo-remisyjnej postaci stwardnienia rozsianego. Co więcej przeprowadzona ocena mocy diagnostycznej wskazała, że spośród przebadanych markerów, UCHL1 jest najbardziej czułym markerem pozwalającym różnicować pacjentów ze zdiagnozowanym stwardnieniem rozsianym względem pacjentów, u których nie zdiagnozowano tej choroby.

POZOSTAŁE BADANIA

Ze względu na istnienie coraz większej liczby dowodów wskazujących na udział metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (*MMPs, matrix metalloproteinases*) i ich tkankowych inhibitorów (*TIMPs, tissue inhibitor of metalloproteinases*) w procesach uszkodzenia i przebudowy tkanek w kolejnym projekcie badawczym wraz z zespołem badawczym oceniliśmy stężenia tych białek. Celem pracy pt. ***”Levels of selected matrix metalloproteinases - MMP-1, MMP-2 and fibronectin in the saliva of patients planned for endodontic treatment or surgical extraction“*** (*Matuszczak E., Cwalina I., Tylicka M., Wawrzyn K., Nowosielska M., Sankiewicz A., Ołdak Ł., Gorodkiewicz E., Hermanowicz A. Journal of Clinical Medicine 2020; 9 (12): 11 pp., Article ID: 3971) (MEiN: 140.000, IF: 4.242)* było oznaczenie stężeń MMP-1, MMP-2 oraz fibronektyny (*FN, fibronectin*) u pacjentów z próchnicą zębiny kierowanych do leczenia kanałowego bądź usunięcia zęba. Leczenie endodontyczne, zwane również leczeniem kanałowym jest zabiegiem skomplikowanym i obciążonym pewnym ryzykiem niepowodzenia. W niektórych sytuacjach leczenie kanałowe jest niewystarczające, a jedynym rozwiązaniem pozostaje ekstrakcja, czyli chirurgiczne usunięcie zęba. Do leczenia endodontycznego nie kwalifikują się zęby z nieodwracalnym zapaleniem miazgi i tkanek twardych. Konieczność chirurgicznej ekstrakcji zęba może także wynikać z niedrożności kanałów lub niedostatecznej ilości tkanek zęba do jego odbudowy po leczeniu endodontycznym. Stężenia MMP-1, MMP-2 oraz fibronektyny zostały oznaczone w ślinie pacjentów kierowanych do leczenia kanałowego oraz w ślinie pacjentów, u których przeprowadzany był zabieg ekstrakcji chirurgicznej. Próbkę materiału biologicznego były pobierane na 15 minut przed i po planowanej procedurze leczenia. W przeprowadzonym eksperymencie wraz z zespołem badawczym zaobserwowaliśmy istotny statystycznie wzrost stężeń MMP-1, MMP-2 oraz fibronektyny w ślinie pacjentów kierowanych do

leczenia endodontycznego oraz chirurgicznej ekstrakcji w porównaniu do grupy kontrolnej. Jednakże porównując stężenia tych parametrów przed i po leczeniu endodontycznym oraz przed i po chirurgicznej ekstrakcji zęba, stężenie MMP-1 w ślinie nie zmieniło się istotnie statystycznie. W przypadku MMP-2 wykazaliśmy istotne statystycznie obniżenie stężenia tego parametru zarówno w przypadku zastosowania jednego, jak i drugiego zabiegu stomatologicznego. Wyniki uzyskane dla fibronektyny wskazywały natomiast na istotny statystycznie wzrost jej stężenia w ślinie pacjentów, u których została przeprowadzona chirurgiczna ekstrakcja. Zwiększone stężenie FN może być związane z faktem, że chirurgiczne usunięcie zęba jest bardziej inwazyjną metodą leczenia, a białko to uczestniczy w tkankowych procesach naprawczych. Nie zaobserwowaliśmy żadnej istotnej korelacji pomiędzy stężeniami MMP-1 i MMP-2 w ślinie pacjentów przed zabiegiem stomatologicznym. Natomiast po zabiegu uzyskaliśmy średnią, dodatnią korelację pomiędzy stężeniami badanych metaloproteinaz. Z naszych obserwacji wynika, że wzrost stężenia metaloproteinazy-1 oraz metaloproteinazy-2 w ślinie może być związany z próchnicą zębiny, a wzrost stężenia fibronektyny może wynikać z uszkodzenia tkanki na skutek chirurgicznej ekstrakcji oraz rozpoczynających się procesów naprawczych. Przeprowadzone badanie wskazują na fakt, że MMP-1, MMP-2 i fibronektyny w ślinie mogą być wskaźnikami stanu jamy ustnej, który może sygnalizować toczące się w organizmie stany zapalne czy choroby.

W wyniku podjętej współpracy z Zakładem Patofizjologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy powstały 2 prace oryginalne:

- **“TF and TFPI in myeloproliferative neoplasms - a preliminary study” (Gadomska G., Stankowska K., Ruszkowska-Ciastek B., Boińska J., Ślusarz R., Tylicka M., Rość D. *Folia Medica Copernicana* 2014; 2(1):31-36);**
- **“VEGF-A, sVEGFR-1, and sVEGFR-2 in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms” (Gadomska G., Stankowska K., Boińska J., Ślusarz R., Tylicka M., Michalska M, Jachalska A, Rość D. *Medicina* 2017; 53(1):34-39) (MEiN: 20.000, IF: 1.429).**

Długoletnia współpraca z Kliniką Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku zaowocowała licznymi powyżej opisanymi publikacjami naukowymi. Oprócz tych wyżej wymienionych opublikowana została również praca oryginalna pt. **“Spontaneous pneumothorax in children - management, results, and review of the literature” (Matuszczak E., Dębek W., Hermanowicz A., Tylicka M. *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska* 2015; 12(4):322-327) (MEiN: 14.000)** oraz opis przypadku pt. **“Treatment of problematic infantile hemangiomas with propranolol: a series of 40 cases and review of the literature” (Oksiuta M., Matuszczak E., Dębek W., Dzienis-Koronkiewicz E., Hermanowicz A., Tylicka M. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2014; 68: 1138-1144) (MEiN: 15.000, IF: 0.573).**

Wyniki zadania badawczego realizowanego w Zakładzie Biofizyki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku opublikowane zostały w pracy pt. **“The effects of extended nitric oxide release on**

responses of the human non-pregnant myometrium to endothelin-1 or vasopressin” (Modzelewska B., Jóźwik M., Jóźwik Ma., Tylicka M., Kleszczewski T. *Pharmological Reports* 2019; 71(5): 892-898 (MEiN: 100.000, IF: 2.754).

Jestem także współautorem dwóch, poza wymienioną w głównym osiągnięciu, prac przeglądowych:

- **„Significance of increased and reduced proteasome activity in the pathomechanism of selected disorders” (Tylicka M., Matuszczak E., Karpińska M., Debek W. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2016; 70: 448-458 (MEiN: 15.000, IF: 0.690);**
- **“Access to gastrointestinal tract for enteral feeding of the children” (Matuszczak E., Tylicka M., Komarowska M., Hermanowicz A., Dębek W. *World Journal of Surgery and Surgical Research* 2020; 3(2): Article ID: 1234) (MEiN: 5.000).**

Podsumowując opisane wyżej prace niewchodzące w skład głównego osiągnięcia naukowego mogę stwierdzić, że w większości koncentrują się one na ocenie wybranych markerów odpowiedzi zapalnej oraz uszkodzenia tkanki w reakcji na różnego typu stany patologiczne w populacji pediatrycznej oraz u pacjentów dorosłych. O ile eksperymenty wchodzące w zakres głównego osiągnięcia dotyczyły badania markerów w odpowiedzi na różnego typu urazy, w tym operacyjne, o tyle prace naukowe wykraczające poza to osiągnięcie stanowią poszerzenie tej tematyki. Dotyczą one nie tylko dzieci, ale również obejmują swoim zakresem pacjentów dorosłych. Wybrane markery były oceniane w grupie dzieci z urazami termicznymi, z urazami głowy, z zapaleniem wyrostka robaczkowego, z wnetrostwem oraz u dorosłych z chorobami nowotworowymi, z niepełkniętymi tętniakami wewnątrzczaszkowymi czy ze zdiagnozowaną postacią rzutowo-remisyjną stwardnienia rozsianego.

W najbliższych planach mam dalsze rozwijanie tematyki swoich badań naukowych i realizację 3 zadań badawczych (jednego jako kierownik oraz dwóch jako współwykonawca) związanych z oceną stężeń wybranych białek odpowiedzi zapalnej oraz związanych z uszkodzeniem tkanek u dzieci leczonych w powodu urazów narządu ruchu, z oceną ekspresji wybranych zapalnych biomarkerów genomowych u chorych z niepełkniętymi tętniakami mózgu oraz z oceną aktywacji szlaku NF- κ B i statusu immunologicznego u pacjentów z glejakami. Ponadto swoje działania naukowe poszerzyłam o podjęcie współpracy z prof. dr hab. Joanną Karpińską oraz dr Urszulą Kotowską z Pracowni Chemii Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku, która mam nadzieję w najbliższym czasie zaowocuje opublikowaniem prac przedstawiających rezultaty prowadzonych badań w zakresie oceny jakości wód zbiorników wodnych poprzez zbadanie m.in. takich parametrów jak stężenie bisfenoli oraz benzotriazoli.

C. Współpraca z innymi jednostkami naukowymi (Załączniki nr 3a-e)

Badania naukowe realizowałam/realizuję we współpracy z jednostkami:

a) krajowymi

- Uniwersytet Medyczny w Białymstoku/ Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku: Zakład Biologii, Zakład Bromatologii, Zakład Farmacji Klinicznej, Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej, Zakład Statystyki i Informatyki Medycznej, Zakład Patomorfologii Lekarskiej, Klinika Neurochirurgii, Zakład Neurologii Inwazyjnej, Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej;
- Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny (UDSK) w Białymstoku: Klinika Chirurgii i Urologii Dziecięcej; Klinika Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej; Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii, Żywienia, Alergologii i Pulmonologii;
- Uniwersytet w Białymstoku: Pracownia Bioanalizy, Pracownia Chemii Środowiska;
- Collegium Medicum im. Ludwika Rydgiera w Bydgoszczy: Zakład Patofizjologii;
- Wrocławski Uniwersytet Medyczny: Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej.

b) zagranicznymi

- Universitätsklinikum Erlangen: Laboratory for Clinical Neurochemistry and Neurochemical Dementia Diagnostics, Department of Psychiatry and Psychotherapy;
- University of Exeter Medical School: Institute of Biomedical and Clinical Science, Hatherly Laboratories, Exeter, United Kingdom;
- University in Maribor: Department for Clinical Biochemistry;
- University Clinical Centre Maribor: Laboratory for Hormone and Autoimmune Diagnostics.

Poza aktywnością w jednostce macierzystej, podejmowałam również współpracę z innymi krajowymi oraz międzynarodowymi jednostkami naukowymi.

W wyniku podjętej jeszcze przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora współpracy z Zakładem Patofizjologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydgiera w Bydgoszczy powstały 2 prace oryginalne, które zostały opublikowane już po uzyskaniu przeze mnie stopnia naukowego doktora:

1) "TF and TFPI in myeloproliferative neoplasms - a preliminary study" (Gadomska G., Stankowska K., Ruszkowska-Ciastek B., Boińska J., Ślusarz R., Tylicka M., Rość D. *Folia Medica Copernicana*

2014; 2(1):31-36);

2) "VEGF-A, sVEGFR-1, and sVEGFR-2 in BCR-ABL negative myeloproliferative neoplasms" (Gadomska G., Stankowska K., Boińska J., Ślusarz R., Tylicka M., Michalska M, Jachalska A, Rość D. *Medicina-Lithuania* 2017; 53(1):34-39); **IF=1.429; MEiN=20.000.**

W 2016 roku rozpoczęłam współpracę z prof. dr hab. Ewą Gorodkiewicz z Pracowni Bioanalizy Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku. Nasze badania koncentrowały się na poszukiwaniu markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia w różnych stanach patologicznych, między innymi u dzieci z urazami oparzeniowymi, u dzieci z zapaleniem wyrostka robaczkowego, u chłopców z wnetrostwem, u dorosłych pacjentów leczonych endodontycznie oraz poddawanych ekstrakcji chirurgicznej, czy dorosłych, u których zdiagnozowano rzutowo-remisyjną postać stwardnienia rozsianego. W przeprowadzanych badaniach poddawaliśmy ocenie między innymi stężenie proteasomów 20S, stężenie UCHL1, stężenie metaloproteiny-2 i metaloproteiny-1, stężenie lamininy-5, stężenie kolagenu IV, stężenie katepsyny B, stężenie leptyny i fibronektyny. Efektem naszej współpracy są poniżej wymienione publikacje naukowe:

1) "Application of SPR imaging biosensor for the measurement of 20S proteasomes in blood plasma of children with thermal injury" (Matuszczak E, Tylicka M, Hermanowicz A, Dębek W, Sankiewicz A, Gorodkiewicz E. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 2016;46(4): 407-411); **IF=0.727; MEiN=15.000;**

2) "Overexpression of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCHL1) in serum of children after thermal injury" (Matuszczak E, Tylicka M, Dębek W, Sankiewicz A, Gorodkiewicz E, Hermanowicz A. *Advances in Medical Sciences* 2017; 62(1): 83-86); **IF=2.064; MEiN=15.000;**

3) "Matrix metalloproteinase-2 and its correlation with 2 basal membrane components laminin-5 and collagen type IV in paediatric burn patients measured with Surface Plasmon Resonance Imaging (SPRI) biosensors" (Weremijewicz A, Matuszczak E, Sankiewicz A, Tylicka M, Komarowska M, Tokarzewicz A, Dębek W, Gorodkiewicz E, Hermanowicz A. *Burns* 2018; 44(4): 931-940); **IF=2.247; MEiN=25.000;**

4) "Concentration of UHCL1 in the serum of children with acute appendicitis, before and after surgery, and its correlation with CRP and prealbumin" (Matuszczak E, Tylicka M, Dębek W, Tokarzewicz A, Gorodkiewicz E, Hermanowicz A. *Journal of Investigative Surgery* 2018; 31(2): 136-141); **IF=1.642; MEiN=20.000;**

5) „Concentration of proteasome in the blood plasma of children with acute appendicitis, before and after surgery, and its correlation with CRP" (Matuszczak E, Tylicka M, Debek W, Sankiewicz A, Gorodkiewicz E, Hermanowicz A. *World Journal of Surgery* 2018; 42 (7): 2259-2264); **IF=2.768; MEiN=35.000;**

6) "Determination of the concentration of cathepsin B by SPRI biosensor in children with appendicitis, and its correlation with proteasomes" (Matuszczak E, Komarowska M, Tylicka M, Dębek W, Gorodkiewicz E, Tokarzewicz A, Sankiewicz A, Hermanowicz A. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2018; 27(11):1529-1534); **IF=1.227; MEiN=15.000;**

- 7) **“20S proteasome in the blood plasma of boys with cryptorchidism”** (Toliczenko-Bernatowicz D., Matuszczak E., Tylicka M., Sankiewicz A., Komarowska M., Gorodkiewicz E., Dębek W., Hermanowicz A. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2018; 41(9): 1103-1106); **IF=3.439; MEiN=15.000;**
- 8) **„Overexpression of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 1 (UCHL1) in boys with cryptorchidism”** (Toliczenko-Bernatowicz D., Matuszczak E., Tylicka M., Szymańska B., Komarowska M., Gorodkiewicz E., Debek W., Hermanowicz A. *PLOS ONE*. 2018;13(2): 1-10); **IF=2.776; MEiN=40.000;**
- 9) **“Plasma concentration of MMP-1 and MMP-2 in boys with cryptorchidism and its lack of correlation with INSL3 and inhibin B”** (Matuszczak E., Komarowska M., Sankiewicz A., Ołdak Ł., Gorodkiewicz E., Dębek W., Milewski R., Tylicka M., Hermanowicz A. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*. 2019; 79(6): 412-418); **IF=1.475; MEiN=70.000;**
- 10) **“Levels of selected matrix metalloproteinases - MMP-1, MMP-2 and fibronectin in the saliva of patients planned for endodontic treatment or surgical extraction”** (Matuszczak E., Cwalina I., Tylicka M., Wawrzyn K., Nowosielska M., Sankiewicz A., Ołdak Ł., Gorodkiewicz E., Hermanowicz A. *Journal of Clinical Medicine* 2020; 9 (12): 1-12); **IF=4.242; MEiN=140.000;**
- 11) **“UCHL1, besides leptin and fibronectin, also could be a sensitive marker of the relapsing-remitting type of multiple sclerosis”** (Górska E., Tylicka M., Hermanowicz A., Matuszczak E., Sankiewicz A., Gorodkiewicz E., Hermanowicz J., Karpińska E., Socha K., Kochanowicz J., Jakoniuk M., Kamińska J., Homšak E., Koper-Lenkiewicz OM. *Scientific Reports* 2023; 13, 10 pp., Article ID: 3423); **IF=4.997; MEiN=140.000.**

W ramach współpracy z dr hab. n. med. Ewą Marią Kratz – kierownikiem Katedry Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu oraz profesorem Piotrem Lewczukiem – kierownikiem Laboratory for Clinical Neurochemistry and Neurochemical Dementia Diagnostics, Universitätsklinikum Erlangen w Niemczech zostały przeprowadzone badania, których efektem była opublikowana praca oryginalna pt. **“IL-6 Quotient (the ratio of cerebrospinal fluid IL-6 to serum IL-6) as a biomarker of an unruptured intracranial aneurysm”** (Kamińska J., Dymicka-Piekarska V., Chrzanowski R., Sawicki K., Milewska A., Zińczuk J., Tylicka M., Jadeszko M., Mariak Z., Kratz EM., Matowicka-Karna J., Kornhuber J., Lewczuk P., Koper-Lenkiewicz OM., *Journal of Inflammation Research*. 2021; 11(7): 6103-6141); **IF=4.631; MEiN=140.000.**

W ramach poszerzania działalności naukowej współpracowałam również z profesorem Robertem Pawlakiem kierującym Laboratory of Neuronal Plasticity and Behaviour na University of Exeter Medical School w Wielkiej Brytanii, w wyniku której opublikowany został artykuł pt. **„Myelin-associated proteins are potential diagnostic markers in primary brain tumor patients”** (Koper-Lenkiewicz OM., Milewska AJ., Kamińska J., Sawicki K., Chrzanowski R., Zińczuk J., Reszeć J., Tylicka M., Matuszczak E., Matowicka-Karna J., Mariak Z., Mucha M., Pawlak R., Dymicka-Piekarska V., *Annals of Medicine*. 2021; 53(1): 1710-1721); **IF=5.348; MEiN=100.000.**

W ostatnim czasie współpracowałam również z profesorem Evgeniją Homšak z University in

Maribor w Słowenii poszukując osoczowych markerów rzutowo-remisyjnej postaci stwardnienia rozsianego, a wyniki współpracy zostały przedstawione w pracy pt. **“UCHL1, besides leptin and fibronectin, also could be a sensitive marker of the relapsing-remitting type of multiple sclerosis”** (Górska E., Tylicka M., Hermanowicz A., Matuszczak E., Sankiewicz A., Gorodkiewicz E., Hermanowicz J., Karpińska E., Socha K., Kochanowicz J., Jakoniuk M., Kamińska J., **Homšak E.**, Koper-Lenkiewicz OM. *Scientific Reports* 2023; 13, 10 pp., Article ID: 3423); **IF=4.997; MEiN=140.000.**

W 2022 r. podjęłam się współpracy z prof. dr hab. Joanną Karpińską oraz dr Urszulą Kotowską z Pracowni Chemii Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku, w wyniku której obecnie realizowane są badania, które mam nadzieję zostaną w najbliższej przyszłości przedstawione w postaci publikacji naukowej przedstawiającej rezultaty prowadzonych badań w zakresie oceny jakości wód zbiorników wodnych poprzez zbadanie m.in. stężenia bisfenoli oraz benzotriazoli.

D. Publikacja rozdziałów w monografiach naukowych

- 1) **“PAI-1 and some other fibrinolytic parameters in diabetes mellitus type 2 with nephropathy and without vascular complications”** (Iwan- Zietek I., Rość D., Wernik T., Ruprecht Z., Bielis L., Kulwas A., Bielis R., Gadomska G., **Ciszyńska M.** *Wellness and support in good health and sickness. Red. Henryk Wiktor. Lublin : NeuroCentrum, 2009, s. 141-151*);
- 2) **“Połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej i wstrzykowej analizy przepływowej z detekcją chemiluminescencyjną”** (Nalewajko-Sieliwoniuk E., Wołyniec E., **Ciszyńska M.**, Kojło A. *Analiza przepływowa: metody i zastosowania. T. 3. Red. Paweł Kościelniak, Marek Trojanowicz. Kraków : Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, 2012: 141-158*).

E. Wystąpienia na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych

W moim dorobku znajduje się 11 wystąpień naukowych, w tym 7 prezentowanych na konferencjach krajowych oraz 4 na konferencjach międzynarodowych.

Konferencje krajowe:

- 1) Nalewajko-Sieliwoniuk E., Wołyniec E., **Ciszyńska M.**, Kojło A., Determination of catechins in tea extracts by flow unit with chemiluminescence detection coupled to HPLC system. IX Środowiskowa Konferencja Chemików. Ogólnopolskie Mikrosymposium Chemików “Chemia-przyszłość zaczyna się dziś”, Białystok, 20-21.05.2010 (sesja plakatowa).
- 2) Matuszczak E. Dębek W., **Ciszyńska M.**, Chomicz A. Oparzenia rąk-postępowanie i wyniki

leczenia. Jednodniowe Sympozjum Sekcji Chirurgii Urazowej i Medycyny Ratunkowej Polskiego Towarzystwa Chirurgów Dziecięcych "Urazy kończyny górnej", Wrocław, 19 listopada 2010 (wykład plenarny).

- 3) **Tylicka M.**, Dębek W., Matuszczak E. Proteasome blood activity as a marker of burn severity in children. XIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Chirurgów Dziecięcych, Serwy, 13-15.09.2012 (wykład plenarny).
- 4) Karpińska M., Kapała J., Bielawska A., Kulesza G., **Tylicka M.**, Mnich Z. Radioactivity of natural medicinal preparations with peat mud available in retail trade used externally. Polish Biophysical Society : Ryn, 28 June-01 July, 2016 (sesja plakatowa).
- 5) **Tylicka M.**, Matuszczak E., Karpińska M, Dębek W., Cisyński M., Plasma protein level after proteasome activation due to thermal injury. Polish Biophysical Society : Ryn, 28 June-01 July, 2016 (sesja plakatowa).
- 6) Matuszczak E., Szymańska B., Gorodkiewicz E., Komarowska M., **Tylicka M.**, Toliczenko-Bernatowicz D., Hermanowicz A., Dębek W. Stężenie C - terminalnej hydroksylazy ubikwityny (UCHL1) u chłopców z wnetrostwem. II Sympozjum " Chirurgia gonad u dzieci" Białystok 17-18.05.2018 (wykład plenarny).
- 7) Matuszczak E., Weremijewicz A., Hermanowicz A., **Tylicka M.**, Dębek W. Ocena skuteczności skojarzonej terapii pulsacyjnym laserem barwnikowym (PDL) i ablacyjnym laserem frakcyjnym CO₂ w leczeniu przerostowych blizn pooparzeniowych. XVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chirurgów Dziecięcych, Poznań, 15-17.09.2022 (wykład plenarny).

Konferencje międzynarodowe:

- 1) Nalewajko-Sieliwoniuk E., Wołyniec E., **Ciszyńska M.**, Kojło A. Determination of catechines in tea extracts by flow unit with chemiluminescence detection coupled to HPLC system. Flow Analysis Conferences XI, Pollensa, Mallorca, Spain, September 14-18, 2009 (sesja plakatowa).
- 2) Rość D., Iwan-Ziętek I., Michalska M., Gniłka W., Dąbrowiecki S., Góralczyk K., Sumińska-Jasińska K., **Ciszyńska M.**, Gadomska G., Zastawna E., Koprowska E. Vascular endothelium activation in morbid obesity. 21st International Congress on Thrombosis, The Start of a New Era for Antithrombotic Agents, Milan, Italy, July 6-9, 2010 (sesja plakatowa).

- 3) Matuszczak E., **Tylicka M.**, Hermanowicz A., Dębek W. Proteasome serum activity in moderate scald burns in children. 14th Congress of the European Paediatric Surgeons' Association, Leipzig, 5-8 June 2013 (*sesja plakatowa*).
- 4) Matuszczak E., **Tylicka M.**, Dębek W., Hermanowicz A., Ostrowska H. Circulating proteasome activity following mild traumatic brain injury in children. EUPSA 2014. European Paediatric Surgeons' Association, 15th Congress of the European Paediatric Surgeons' Association Dublin, Ireland, 18-21st June 2014 (*sesja plakatowa*).

F. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach

2009-2013- Polskie Towarzystwo Chirurgów Dziecięcych, członek

2020-obecnie- Polskie Towarzystwa Biofizyczne, członek

G. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach

2022- do chwili obecnej - Guest Editor numeru specjalnego pt. "*The Role of Chemokines and Their Receptors in the Disease State*" w czasopiśmie *Life* (IF=3.253; MEiN=70.000).

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

W ramach swojej działalności naukowej podjęłam się również 7 recenzji prac w wymienionych poniżej czasopismach międzynarodowych (*punktacja na rok wykonywania recenzji*):

2019- *Scandinavian Journal of Clinical&Laboratory Investigation*, Taylor&Francis (IF=1.475; MEiN=70.000); (1 recenzja)

2021- *BioMed Research International, Hindawi* (IF=3.03; MEiN=70.000); (2 recenzje)

2021 oraz 2022- *Scientific Reports, Nature* (IF=4.997; MEiN=140.000); (2 recenzje)

2022 oraz 2023- *Cardiology Research and Practice, Hindawi* (IF=1.990, MEiN=100); (2 recenzje)

I. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9

Od 2011 roku podejmowałam się realizacji projektów naukowych finansowanych w ramach środków Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W 5 z nich pełniłam funkcję kierownika, natomiast pozostałe 14 realizowałam jako współwykonawca. Poniżej znajduje się zestawienie projektów w zależności od pełnionej funkcji (*Załącznik nr 3f*).

Projekty naukowe realizowane jako kierownik:

2011 rok- grant statutowy nr 114-36925L- *„Aktywność i stężenie proteasomów we krwi dzieci leczonych z powodu urazów”*

2015 rok- grant statutowy nr 154-16686L- *„Aktywność proteasomów u dzieci operowanych metodami laparotomii i laparoskopii”*

2017 rok- grant statutowy nr N/ST/MN/17/001/1116- *„Ocena aktywności proteasomów u dzieci operowanych chirurgicznie”*

2018 rok-grant statutowy nr N/ST/MN/18/001/1116- *„Ocena stężeń wybranych białek zapalnych oraz związanych z uszkodzeniem u dzieci leczonych z powodu urazów narządu ruchu”*

2023 rok- grant statutowy nr B.SUB.23.314- *„Ocena stężeń wybranych białek zapalnych oraz związanych z uszkodzeniem u dzieci leczonych z powodu urazów narządu ruchu”*

Projekty naukowe realizowane jako współwykonawca:

2011 rok - grant statutowy nr 113-36946L- kierownik projektu: prof. dr hab. Wojciech Dębek- *„Ocena ekspresji czynnika indukowanego przez hipoksję (HIF-1 alfa) w modelu doświadczalnym włóknienia wątroby”*

2011 rok - grant statutowy nr 113-36688L-kierownik projektu: dr hab. Ewa Matuszczak- *„Aktywność proteasomu jako wykładnik stanu zapalnego w chorobie oparzeniowej u dzieci. Miejscowe stężenie proteasomu i czynników stanu zapalnego w ranie w przebiegu choroby oparzeniowej”*

2012 rok - grant statutowy nr 123-43752L- kierownik projektu: prof. dr hab. Dariusz Lebensztejn- *„Ocena aktywności metaloproteinaz (MMP-2 i 9) i ekspresji tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMP-1,2 i 3) w modelu doświadczalnym włóknienia wątroby”*

2016 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/16/001/1116- kierownik projektu: dr hab. Maria Karpińska- „Ocena dawki efektywnej otrzymywanej przez pacjentów podczas zabiegów z wykorzystaniem borowiny pochodzącej ze złoza w Podsokółdzie”

2017 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/17/001/1116- kierownik projektu: dr hab. Tomasz Kleszczewski- „Wpływ tlenu azotu na skurcz wywołany peptydami działającymi na receptory błonowe komórek mięśni gładkich macicy ludzkiej (endotelina 1, wazopresyna, oksytocyna). Badania w warunkach *in vitro*”

2018 rok - grant statutowy nr N/ST/ZB/18/001/1187-kierownik projektu: dr Tomasz Guszczyn- „Ocena stężenia wybranych chemokin u dzieci leczonych metodą repozycji z powodu złamań kończyn górnych”

2019 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/19/003/1136- kierownik projektu: dr hab. Adam Hermanowicz- „Ocena stężenia wybranych białek jako potencjalnych biomarkerów pourazowego uszkodzenia mózgu u dzieci”

2019 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/19/001/1136- kierownik projektu: dr hab. Ewa Matuszczak- „Ocena wyników leczenia naczyń wczesnodziecięcych przy pomocy lasera PDL (Pulsed Dye Laser) oraz zachowawczego leczenia naczyń wczesnodziecięcych Propranololem, w korelacji ze stężeniem wybranych czynników wzrostu i chemokin w osoczu krwi”

2020 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/20/001/1136- kierownik projektu: dr hab. Ewa Matuszczak- „Ocena wyników leczenia blizn poparzeniowych przy pomocy lasera CO₂ i lasera PDL w korelacji z osoczym stężeniem kolagenu, wybranych czynników wzrostu i wybranych chemokin”

2021 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/21/001/1136-kierownik projektu: dr hab. Ewa Matuszczak- „Surowicze markery nerkozy lub apoptozy komórek germinalnych u chłopców z wnetrostwem”

2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/002/2209-kierownik projektu: dr Joanna Kamińska- „Ocena wybranych cytokin hematopoetycznych u chorych z niepełkniętymi tętniakami mózgu”

2022 rok - grant statutowy nr SUB/1/DN/22/003/2209-kierownik projektu: dr hab. Olga Koper-Lenkiewicz- „Ocena wybranych parametrów stresu nitrozacyjnego w pierwotnych nowotworach mózgu”

2023 rok – grant statutowy nr B.SUB.23.382-kierownik projektu: dr Joanna Kamińska- „Ocena ekspresji wybranych zapalnych biomarkerów genomowych u chorych z niepełkniętymi tętniakami mózgu”

2023 rok - grant statutowy nr B.SUB. 23.384-kierownik projektu: dr hab. Olga Koper-Lenkiewicz-

„Ocena aktywacji szlaku NF- κ B i statusu immunologicznego u pacjentów z glejakami”

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

A. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych

W latach 2009-2013 byłam uczestnikiem studiów doktoranckich w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, w trakcie których prowadziłam ćwiczenia dla studentów kierunku lekarskiego dotyczące patobiochemii rany oparzeniowej.

Od początku mojej kariery zawodowej i naukowej byłam zatrudniona w Zakładzie Biofizyki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku na etacie starszego technika, a następnie specjalisty naukowo-technicznego. Moja działalność była wówczas związana z przygotowywaniem ćwiczeń (przygotowywanie niezbędnych odczynników chemicznych i szkła laboratoryjnego, kontrolowanie używanych przyrządów pomiarowych), które były prowadzone przez naszą jednostkę. Brałam również aktywny udział w zadaniach badawczych realizowanych przez pracowników Zakładu Biofizyki. W tym czasie prowadziłam również swoją działalność naukową, której efektem są wyżej przedstawione opublikowane prace. Na etacie specjalisty naukowo-technicznego prowadziłam ćwiczenia z biofizyki dla studentów I roku Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim (kierunek: Lekarsko-Dentystyczny) oraz dla studentów I roku Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej (kierunek: Analityka Medyczna). Ponadto od 2016 roku prowadziłam kursy przygotowujące z fizyki dla studentów anglojęzycznych starających się o zakwalifikowanie na studia na kierunek Lekarski Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Od października 2022 roku jestem zatrudniona na etacie adiunkta badawczo-dydaktycznego w Zakładzie Biofizyki, co jest związane z szerszym zaangażowaniem w proces dydaktyczny. Dlatego też od bieżącego roku akademickiego prowadzę zajęcia dydaktyczne z biofizyki (ćwiczenia, zajęcia fakultatywne) dla studentów I roku Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim (kierunek: Lekarski, Lekarsko-Dentystyczny), I roku Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej (kierunek: Analityka Medyczna) oraz I roku Wydziału Nauk o Zdrowiu (kierunek: Fizjoterapia, Elektroradiologia). Przygotowuje i oceniam sprawdziany weryfikujące wiedzę studentów. Kontynuuję również prowadzenie kursów przygotowujących dla studentów anglojęzycznych starających się o zakwalifikowanie na kierunek lekarski na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku.

Od 2022 roku jestem opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Biofizyki i Inżynierii Medycznej przy Zakładzie Biofizyki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, którego profil naukowy obejmuje badania nad interfejsem mózg-komputer (BCI), farmakodynamiką środków rozkurczowych, czynnością skurczową mięśni gładkich *in vitro*, markerami odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanek oraz badania z zakresu inżynierii medycznej, badania konduktometryczne i audiometryczne. W roku akademickim 2021/2022 Koło Naukowe wykazało się aktywnością związaną z wygłoszeniem referatu na konferencji zorganizowanej przez *Students' Scientific Society Belarusian State Medical University*

w Mińsku. Opublikowane zostały również dwie prace naukowe w punktowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. W ramach działań popularyzujących naukę koordynowałam przygotowanie prezentacji dotyczących zagadnień interfejsu mózg-komputer oraz elektrokardiografii, które były przedstawiane przez studentów Koła Naukowego Biofizyki i Inżynierii Medycznej podczas Festiwalu „Noc Naukowców” w 2022 roku.

Podjęmowałam się również innych działań mających na celu popularyzację nauki. Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych brałam udział w prezentacji doświadczeń z zakresu ciekawej i praktycznej chemii uczniom szkół gimnazjalnych i licealnych miasta Białegostoku i okolic w ramach III Podlaskiego Festiwalu Nauki i Sztuki (2005 r.) oraz w organizacji pokazu doświadczeń z zakresu ciekawej i efektownej chemii dzieciom z *Fundacji Cordis z Augustowa* (2006 r.). W latach 2009-2010, jako Doktorantka w Klinice Chirurgii Dziecięcej, pisałam artykuły o tematyce naukowej do miesięcznika pt. „*Medyk Białostocki*”, wydawanego przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku. Od 2022 roku podjęłam się pisania artykułów o tematyce popularnonaukowej w ramach prowadzonej przeze mnie sekcji „felieton naukowy” w wyżej wymienionym miesięczniku.

W latach 2018-2019 w Zakładzie Biofizyki, w którym jestem zatrudniona zorganizowałam „*Labarotarium Analizy Biomarkerów*”, które pozwoliło mi na intensywniejszy rozwój naukowy oraz na poszerzenie zakresu prowadzonych badań. Możliwe to było dzięki wyposażeniu pracowni we fluorescencyjny czytnik mikroplątek *FLUOstar Omega*. Dostępność specjalistycznego sprzętu wpłynęła na intensyfikację prowadzonych przeze mnie eksperymentów oraz pozwoliła na badanie wielu różnych markerów, których stężenia wzrastają w odpowiedzi zapalnej lub w wyniku uszkodzenia tkanek w różnych stanach patologicznych, w tym w różnego typu urazach. W najbliższej przyszłości planuje przeprowadzić badania pod kątem poszukiwania markerów odpowiedzi zapalnej i uszkodzenia tkanki u dzieci z różnego rodzaju urazami narządów ruchu czy u pacjentów z nowotworami tarczycy.

W 2022 roku zostałam powołana, jako przedstawiciel nauczycieli akademickich, do Zespołu do spraw Zapewnienia i Doskonalenia Jakości Kształcenia na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

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

W trakcie swojej działalności naukowej uczestniczyłam w kursach, szkoleniach oraz konferencjach. W roku 2010 jako doktorantka Kliniki Chirurgii Dziecięcej ukończyłam kurs „*Biostatystyka*”, który był realizowany w ramach projektu „Wyższa jakość kształcenia kluczem do rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku”. Ponadto w tym samym roku brałam udział w konferencji pt. „*Rola badania płynu mózgowo-rdzeniowego w diagnostyce chorób układu nerwowego-historia, terażniejszość i przyszłość*” zorganizowanej przez Klinikę Neurologii oraz Zakład Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W maju 2010 roku uczestniczyłam w spotkaniu *II International Meeting „Surgery and Pathology”* organizowanym przez Klinikę Chirurgii Dziecięcej. W 2014 roku brałam udział w szkoleniu „*Elementy dobrego wniosku w Horizon 2020 konkursy 2015*” zorganizowanym przez Krajowy Punkt Kontaktowy Programów Badawczych UE Instytutu podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk. W latach 2013-2014 byłam

uczestniczką cyklu wykładów pt. *"Komercjalizacja w pigułce"*, które były zorganizowane w ramach projektu „UMB na ścieżce innowacyjnego rozwoju” współfinansowanego z programu „Kreator innowacyjności-wsparcie innowacyjnej przedsiębiorczości akademickiej” ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.

W celu udoskonalenia swoich umiejętności językowych z zakresu posługiwania się językiem angielskim, co ma istotne znaczenie w prowadzeniu dydaktyki ze studentami anglojęzycznymi oraz w przypadku pisania prac naukowych do czasopism o zasięgu międzynarodowym, uczestniczyłam w kursie języka angielskiego, który został przeze mnie zakończony uzyskaniem certyfikatu The European Language certificate TELC B2.

W czasie swojej działalności naukowej otrzymałam Nagrodę Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku za osiągnięcie naukowe w 2013 roku. Niestety w dalszych latach ze względu na etat, na którym pracowałam do września 2022 roku, nie byłam uprawniona do otrzymywania indywidualnych nagród naukowych. Prace publikowane w latach 2014-2021, w których byłam pierwszym lub drugim równorzędnym autorem oraz współautorem, były zgłaszane do Nagród Naukowych Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz nagradzane jako osiągnięcie naukowe.

W 2018 roku złożyłam wniosek o finansowanie działania naukowego pt. *"Aktywność proteasomów a stężenie wybranych czynników stymulujących angiogenezę oraz hamujących odporność immunologiczną w przebiegu nowotworów pierwotnych ośrodkowego układu nerwowego"* do konkursu Narodowego Centrum Nauki MINIATURA 2. Obecnie jestem w trakcie przygotowywania wniosku we współpracy z Kliniki Ortopedii i Traumatologii Dziecięcej Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku, który planujemy złożyć do konkursu Narodowego Centrum Nauki OPUS.

W dalszej części autoreferatu znajdują się załączniki:

- potwierdzenie wykazania się istotną aktywnością naukową realizowaną poza jednostką macierzystą poświadczone przez Prorektora ds. Nauki i Rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (*Załącznik nr 3a*),
- potwierdzenie współpracy naukowej z prof. P. Lewczukiem oraz z Universitätsklinikum Erlangen: Laboratory for Clinical Neurochemistry and Neurochemical Dementia Diagnostics, Department of Psychiatry and Psychotherapy (*Załącznik nr 3b*),
- potwierdzenie współpracy naukowej z prof. E. Homšak kierownikiem Laboratory for Hormone and Autoimmune Diagnostics, University Clinical Centre Maribor oraz kierownikiem Department for Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, University in Maribor (*Załącznik nr 3c*),
- potwierdzenie współpracy naukowej z prof. E. Gorodkiewicz, kierownikiem Pracowni Bioanalizy na Wydziale Chemii Uniwersytetu w Białymstoku (*Załącznik nr 3d*),
- potwierdzenie podjęcia współpracy naukowej z prof. J. Karpińską oraz dr Urszulą Kotowską z Pracowni Chemii Środowiska Uniwersytetu w Białymstoku (*Załącznik nr 3e*),
- potwierdzenie o udziale w projektach prac statutowych poświadczone przez Prorektora ds. Nauki i Rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (*Załącznik nr 3f*),

- potwierdzenie złożenia jako kierownik projektu aplikacji grantowej do konkursu Narodowego Centrum Nauki poświadczony przez Prorektora ds. Nauki i Rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (Załącznik nr 3g).

Marzena Tylicka