

AUTOREFERAT

- 1. *Imię i nazwisko: Paweł Dubiela***
- 2. *Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.***

06.2013	dplom magistra biotechnologii molekularnej, Politechnika Gdańska, Gdańsk, Polska
05.2018	stopień naukowy doktora nauk medycznych, Uniwersytet Medyczny w Wiedniu, Zakład Patofizjologii i Badań nad Alergiami, Wiedeń, Austria

Tytuł rozprawy doktorskiej: Zaawansowane metody analityczne umożliwiające rozwój diagnostyki alergii pokarmowej opartej o komponenty (ang. Refined analytical methods for improved component resolved diagnosis in food allergy)

Promotor: prof. dr hab. Karin Hoffmann-Sommergruber

Nagroda: najlepszy doktorat w dziedzinie alergologii obroniony w 2018 roku. Nagroda im. Prof. M. Obtulowicza przyznana przez Polskie Towarzystwo Alergologiczne.

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

10.2015-01.2016	Stypendium naukowe, Magnetic Resonance Center (CERM), Florencja, Włochy.
02.2016-03.2016	Stypendium naukowe, Uniwersytet w Liege, Liege, Belgia
09.2017	Stypendium naukowe, Uniwersytet w Belgradzie, Belgrad, Serbia
10.2013-02.2018	Praca Doktorska, Uniwersytet Medyczny w Wiedniu, Wiedeń, Austria

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

03.2018 – 12.2020 Staż podoktorski, Uniwersytet Medyczny w Wiedniu, Wiedeń,
Austria

01.2021 - teraz Staż podoktorski, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku,
Białystok, Polska

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.).

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Cykl powiązanych tematycznie publikacji pod tytułem:

„Charakterystyka biochemiczna i molekularna alergenów i testów *in vitro* warunkujących ich przydatność w diagnostyce alergii”

4.2 Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

1. Autorzy: Paweł Dubiela, Stefan Kabasser, Nicolas Smargiasso, Sabine Geiselhart, Merima Bublin, Christine Hafner, Gabriel Mazzucchelli, Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Jug r 6 is the allergenic vicilin present in walnut responsible for IgE cross-reactivities to other tree nuts and seeds.

Czasopismo: Scientific Reports

Szczegóły: 2018; Vol 8, Issue 1, 11366

ISSN: 2045-2322

Impact Factor: 4.011

Punktacja MNiSW: 40.000

DOI: 10.1038/s41598-018-29656-4

Wkład habilitanta: opracowanie koncepcji i założeń pracy badawczej, oczyszczenie i opis biochemiczny nowego alergenu, analiza sekwencji i homologii z białkami pokrewnymi, zgłoszenie nowego alergenu do IUIS, analiza i interpretacja wyników badań immunologicznych i molekularnych, przegląd piśmiennictwa, opracowanie manuskryptu i napisanie artykułu.

2. Autorzy: Paweł Dubiela, Rebecca Del Conte, Francesca Cantini, Tomasz Borowski, Roberta Aina, Christian Radauer, Merima Bublin, Karin Hoffmann-Sommergruber, Stefano Alessandri

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Tytuł oryginału: Impact of lipid binding on the tertiary structure and allergenic potential of Jug r 3, the non-specific lipid transfer protein from walnut.

Czasopismo: Scientific Reports

Szczegóły: 9, 2007 (2019)

Uwagi: These authors have contributed equally to this work: Pawel Dubiela, Rebecca Del Conte, and Francesca Cantini,

ISSN: 2045-2322

Impact Factor: 3.998

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38563-1>

Wkład habilitanta: opracowanie koncepcji i założeń pracy badawczej, oczyszczenie i opis biochemiczny alergenu, analiza i interpretacja wyników badań immunologicznych i molekularnych, wkład w przygotowanie badania strukturalnego i bioinformatyczne. Badanie strukturalne przeprowadzone wspólnie z p. Dr Rebecca Del Conte oraz p. Dr Francesca Cantini. Przegląd piśmiennictwa, opracowanie manuskryptu i napisanie artykułu.

3. Autorzy: Pawel Dubiela, Sabine Dölle-Bierke, Stefanie Aurich, Margitta Worm, Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Component-resolved diagnosis in adult patients with food-dependent anaphylaxis.

Czasopismo: World Allergy Organization Journal

Szczegóły: VOLUME 14, ISSUE 3, 100530, MARCH 01, 2021

Uwagi: Brief communication. These authors have contributed equally to this work: Pawel Dubiela, Sabine Dölle-Bierke

ISSN: 1939-4551

Impact Factor: 5.516

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100530>

Wkład habilitanta: równy wkład z p. Dr Sabine Dölle-Bierke, opracowanie koncepcji i założeń pracy badawczej, analiza retrospektywna danych klinicznych i biochemicznych, zaprojektowanie badań molekularnych i immunologicznych, analiza statystyczna i porównawcza przeprowadzonych metod diagnostycznych w odniesieniu do złotego standardu (test prowokacji przeprowadzony przez p. Dr Sabine Dölle-Bierke). Przegląd piśmiennictwa, opracowanie manuskryptu i napisanie artykułu.

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

4. Autorzy: Paweł Dubiela, Piotr Humeniuk, MerimaBublin, Carine Metz-Favre , Sébastien Viel, Françoise Bienvenu, Christine Hafner, Gabrielle Pauli, Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Two patients with allergy to celery — Possible role of carbohydrate determinants and difference between seeds and tuber allergenicity

Czasopismo: World Allergy Organization Journal

Szczegóły: Volume 15, Issue 11, November 2022, 100708

Uwagi: Brief communication. These authors have contributed equally to this work: Paweł Dubiela, Piotr Humeniuk

ISSN: 1939-4551

Impact Factor: 5.1

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2022.100708>

Wkład habilitanta: opracowanie koncepcji i założeń pracy badawczej, analiza retrospektywna danych klinicznych, zaprojektowanie badań biochemicznych, immunologicznych, molekularnych. Przeprowadzenie, analiza i interpretacja wyników badań biochemicznych, immunologicznych, molekularnych (badanie RBL przeprowadzone przez p. dr Piotra Humeniuka), analiza piśmiennictwa, opracowanie manuskryptu i napisanie artykułu.

5. Autorzy: Szymon Drygala, Elżbieta Rdzanek, Grzegorz Porebski, Paweł Dubiela

Tytuł oryginału: In Vitro Assays for Diagnosis of Drug-Induced Nonsevere Exanthemas: A Systematic Review and Meta-Analysis

Czasopismo: Journal of Immunology Research

Szczegóły: Volume 2022, Article ID 2386654

e-ISSN: 2314-7156

Impact Factor: 4.1

Punktacja MNiSW: 100.000

DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/2386654>

Wkład habilitanta: autor ostatni, korespondencyjny pracy. Przygotowanie planu pracy zespołu, opracowanie metody ekstrakcji i analizy danych, nadzór nad przestrzeganiem zasad PRISMA, udział w analizie jakościowej zebranych abstraktów. Opracowanie manuskryptu i napisanie artykułu.

Łączny Impact Factor: 22.725

Łączna punktacja MNiSW: 560

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

Wprowadzenie

Alergia stanowi problem zdrowotny o rosnącym znaczeniu dla systemu ochrony zdrowia. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) szacuje, że różnego typu alergie dotyczą od 10% do 40% populacji globalnie (Pawankar i wsp. 2013). Dokładne określenie częstości występowania alergii jest trudne ze względu na brak konsensusu co do parametrów diagnostycznych. Do najtrudniejszych w diagnostyce należą alergie pokarmowe (Begin i wsp. 2013). Wpływ na dane epidemiologiczne ma również kilka czynników zakłócających, takich jak zróżnicowanie geograficzne, wiek i ekspozycja żywieniowa (Sicherer i wsp. 2011). Zgodnie z przeglądem systematycznym dokonany przez Sicherer i wsp. alergia pokarmowa dotyczy od 1%-2%, do 10% populacji. Biorąc pod uwagę kraje wysokorozwinięte, dostępne dane wskazują 5% dorosłych (Nwaru i wsp. 2014) i 8% dzieci (Pajno i wsp. 2018) dotkniętych tym problemem zdrowotnym. Złotym standardem diagnostycznym potwierdzającym alergię pokarmową, pozostaje próba prowokacyjna, niosąca za sobą nie tylko duże ryzyko dla pacjenta, ale stanowiąca również duże wyzwanie dla systemu ochrony zdrowia, ponieważ przeprowadzenie testu jest czasochłonne i kosztowne (Alsaggaf i wsp. 2019). Brak prawidłowej diagnozy może prowadzić do kolejnej ekspozycji na alergen prowadzącej do manifestacji alergii, w tym wstrząsu anafilaktycznego (Cianferoni i wsp. 2012). Dostępne opcje terapeutyczne są bardzo skąpe. Podstawową metodą leczenia jest dieta eliminacyjna polegająca na wykluczeniu z jadłospisu pokarmów alergizujących. Wiele nadziei wiązanych jest z immunoterapią w alergii pokarmowej, gdzie organy regulatorowe w USA (FDA, ang. Food and Drug Administration) oraz Europie (EMA ang. European Medicines Agency) zatwierdziły pierwszą na świecie doustną immunoterapię na orzeszki ziemne (Reinwald 2022 i wsp.). Biorąc pod uwagę brak opcji terapeutycznych oraz dużą niepewność diagnostyczną w odniesieniu do aktualnie stosowanych testów diagnostycznym, oczywistym zdaje się konieczność badań, które doprowadzą do poprawy jakości zestawów diagnostycznych.

Diagnostyka alergii oparta jest o dwa rodzaje testów: *in vivo* (testy skórne oraz prowokacje) oraz *in vitro* (wykrywające swoiste IgE). Najczęściej wykorzystywaną metodą diagnostyczną są testy skórne punktowe (SPT ang. Skin Prick Test). Mimo szeregu zalet, w przypadku uczulenia na pokarm czułość i swoistość tej metody znacznie spada (Uklej-Sokołowska i wsp. 2021). Co więcej, zebrane dane wskazują rozbieżne wartości w odniesieniu do czułości i

swoistości co wykazano w metaanalizie przeprowadzonej przez Soares-Weiser i wsp w 2014 roku dla SPT (≥ 3 mm):

Tabela 1 Podsumowanie czułości i swoistości SPT, zmodyfikowano na podstawie Soares-Weiser i wsp. 2014.

Pokarm	liczba zebranych badań	Liczba pacjentów w zebranych badaniach	Czułość % (95% CI)	Swoistość % (95% CI)
Mleko	5	587	87.9 (75.6, 94.4)	67.5 (56.0, 77.2)
Pszenica	5	350	72.6 (55.7, 84.8)	73.3 (47.9, 89.1)
Soja	4	366	55.0 (33.2, 75.0)	68.0 (52.4, 80.3)
Orzeszki ziemne	5	499	94.7 (87.9, 97.8)	61.0 (46.6, 73.6)

Drugą metodą diagnostyczną *in vivo* są próby prowokacyjne, stosowane przede wszystkim w diagnostyce nadwrażliwości na leki oraz w alergii pokarmowej. Mimo skomplikowania i dużego ryzyka związanego z tą metodą, doustne próby prowokacyjne pozostają jedyną metodą umożliwiającą ocenę występowania objawów klinicznych u pacjentów uczulonych na pokarm. Stąd też, podwójnie zaślepiena próba prowokacji kontrolowana placebo pozostaje złotym standardem w diagnostyce alergii pokarmowej (Ballmer-Weber i wsp. 2018).

Alternatywą dla testów skórnych jest testowanie *in vitro*. Wszystkie dostępne metody opierają się o wykrycie specyficznych dla alergenu przeciwciał IgE (sIgE). Najczęściej stosowanymi testami są ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay), ImmunoCAP, ImmunoCAP ISAC lub Alex Polycheck. Testy *in vitro* stały się podstawą diagnostyki w oparciu o komponenty (CRD ang. component resolved diagnosis). Testowanie pojedynczych alergenów przynosi szereg informacji – prócz informacji jaki alergen powoduje uczulenie, także czy istnieją potencjalne reakcje krzyżowe, jakie jest ryzyko ciężkich reakcji alergicznych.

Niestety, metodologia w przypadku alergii pokarmowych nie jest pozbawiona wad. Aby wynik był wiarygodny, konieczne są wystandaryzowane procedury interpretacji wyników. Co więcej, testowane alergeny muszą mieć ustalone znaczenie w procesie chorobowym, a ich jakość (struktura trzeciorzędowa mimo sieciowania na macierzy) zadowalająca (Matricardi i wsp. 2016). Analizując czułość i swoistość SPT przedstawione w Tabeli 1, warto je porównać

z badaniami w oparciu o sIgE, które wskazują rozbieżne wartości w zależności od alergizującego pokarmu.

Tabela 2 Podsumowanie czułości i swoistości testów w oparciu o sIgE, zmodyfikowano na podstawie Soares-Weiser i wsp. 2014.

Pokarm	Ilość zebranych badań	Ilość pacjentów w zebranych badaniach	Czułość % (95% CI)	Swoistość % (95% CI)
Mleko	5	831	87.3 (75.2, 93.9)	47.7 (36.4, 59.2)
Pszenica	5	408	83.2 (69.0, 91.7)	42.7 (19.8, 69.1)
Soja	4	404	82.9 (63.8, 93.0)	38.0 (24.2, 54.0)
Orzeszki ziemne	5	817	96.3 (91.6, 98.4)	59.3 (45.4, 72.0)

Z uwagi na sposób rozpoznawania epitopów - IgE wiążą epitopy liniowe (wynikające z sekwencji aminokwasowej tj. pierwszorzędowej białka), jak i konformacyjne (strukturalne), zarówno struktura pierwszo- jak i trzeciorzędowa wydają się być kluczowymi elementami jakości alergenów stosowanych w diagnostyce (Pomes i wsp. 2010). Prócz struktury, elementem determinującym alergiczność białka jest profil glikozylacji (Altmann i wsp. 2016). Około 15% działań niepożądanych leków to reakcje nadwrażliwości na leki (Hunziker 2002). Z uwagi na zróżnicowany przebieg, reakcje te zostały podzielone na natychmiastowe (do 6 godzin od zastosowania leku) oraz opóźnione (zwykle kilka dni po kontakcie z lekiem). Z uwagi na swój charakter, reakcje opóźnione stanowią duże problem diagnostyczny. Tak jak w przypadku alergii pokarmowych, aby znaleźć przyczynę nadwrażliwości stosuje się testy *in vivo* oraz *in vitro*. Testy *in vivo* obejmują testy płatkowe, testy śródskórne oraz prowokacje doustne (Jaworska i wsp. 2019).

Testy *in vitro* stosowane są u pacjentów z ujemnymi lub niejednoznacznymi wynikami testów skórnych, a także przy przeciwwskazaniach do testów prowokacji. Mają one zastosowanie w identyfikacji krzyżowych reakcji pomiędzy lekami tej samej grupy (Mayorga i wsp. 2019). Wśród nich wymienić należy: test transformacji limfocytów (LTT), oraz pomiar cytokin (IL-4, IL-5, INF-gamma) lub cytotoksyczności (granzym B i granulizyna) za pomocą testów ELISA i ELISpot. Wszystkie te metody cechuje różna czułość i swoistość, brak jest standaryzacji, co prowadzić może do niepoprawnej interpretacji (Mayorga i wsp. 2016)

Mimo, że reakcje opóźnione są najczęstszymi reakcjami polekowymi, opracowania wtórne dotyczące diagnostyki o charakterze przeglądów systematycznych są bardzo rzadkie, brak jest też metaanaliz, które mogłyby uporządkować wiedzę na temat stosowanych testów. Utrudnia to praktykom wybór odpowiedniego testu do określonej grupy leków, od której zależna jest czułość i swoistość (Mayorga i wsp. 2019)

Szczegółowe cele naukowe

1. Analiza dostępnych komercyjnie metod diagnostycznych *in vitro* i porównanie ich ze złotym standardem diagnostycznym (próba prowokacji).
2. Analiza proteomiczna, biochemiczna i immunologiczna wybranych alergenów.
3. Wpływ wybranych ligandów (lipidowych) oraz modyfikacji post-translacyjnych (glikozylacji) na strukturę oraz immunogenność alergenów, a co za tym idzie, czułość testów *in vitro*.
4. Zebranie w meta-analizę wszystkich dostępnych danych na temat testów *in vitro* opóźnionych reakcji polekowych w celu zidentyfikowania wartości diagnostycznej stosowanych metod.

Omówienie publikacji oraz osiągniętych wyników

Publikacja 1. Jug r 6 is the allergenic vicilin present in walnut responsible for IgE cross-reactivities to other tree nuts and seeds.

W latach 90 odkryto i scharakteryzowano większość najważniejszych alergenów pokarmowych. Złotym standardem odkrywania sekwencji aminokwasowej (struktury pierwszorzędowej białka) alergenów było klonowanie cDNA z łatwo dostępnego materiału biologicznego. Pewną trudność stanowiły orzechy z uwagi na dużą zawartość tłuszczów. Ich ekstrakcja powodowała niszczenie RNA, a co za tym idzie uniemożliwiała ekspresję pożądaných białek. Rozwiązaniem tego problemu stała się metoda klonowania cDNA z materiału, który nie zawierał dużej ilości lipidów – liści/linii embrionalnych. Tak scharakteryzowany został Jug r 2 – jeden z głównych alergenów z orzecha włoskiego. Białko należące do rodziny 7S wicylin zostało otrzymane po raz pierwszy w 1999 roku przez Teuber i wsp. jako rekombinowane białko fuzyjne otrzymane w systemie ekspresji *E. coli* BL21. Białko zostało rozpoznane przez 9 z 15 (60%) testowanych surowic alergików w teście IgE - western blot co spowodowało przyznanie statusu głównego alergenu (ang. major allergen) i nadanie nazwy – Jug r 2. Autorzy porównali sekwencje nowoodkrytego alergenu z homologami - Ara h 1 z orzechów ziemnych oraz wicyliną z kakao wykazując podobieństwo sekwencji na poziomie ok 70%. Mimo to, białko nie wykazywało reakcji krzyżowych z

testowanymi alergenami. Odkrycie zaowocowało włączeniem rekombinowanego alergenu do panelu testów molekularnych, gdy te zostały opracowane (ImmunoCAP ISAC) chociaż naturalny alergen nigdy nie został opisany, nigdy nie został też opisany marker reakcji krzyżowych dla alergii na orzechy drzewne. Wyjściowym założeniem naszej pracy było:

- scharakteryzowanie naturalnego białka Jug r 2 pochodzącego z orzechów oraz porównanie jego właściwości do białka rekombinowanego (rJug r 2) otrzymanego w systemie ekspresji

Pichia pastoris

- wyjaśnienie jaki alergen mógłby być markerem reakcji krzyżowych dla alergii na orzechy drzewne

Badania rozpoczęto od ekstrakcji całego proteomu z orzechów i oddzieleniu go od tłuszczów.

Następnie wicyliny z orzecha włoskiego zostały oczyszczone metodami chromatografii cieczowej zgodnie z opisanym w literaturze protokołem. Do badania włączonych zostało 77 pacjentów z potwierdzoną historią alergii na orzechy włoskie oraz dodatnim testem skórnym (bąbel po SPT \geq 3mm), których surowice zostały wykorzystane. Oczyszczona frakcja wicylin, która w teście IgE- western blot oraz IgE-ELISA została rozpoznana przez przeciwciała została wysłana do sekwencjonowania za pomocą metody LC-MS/MS oraz ESI-QTOF.

Zidentyfikowane zostało białko należące do rodziny 7S wicylin i masie 48,829 Da o sekwencji pokrywającej się z Jug r 2 tylko w 44%. Białko to zostało zgłoszone do WHO/IUIS Allergen Nomenclature Committee oraz otrzymało status nowego alergenu o nazwie Jug r 6 (<http://allergen.org/viewallergen.php?aid=895>). Jego sekwencja została zdeponowana w odpowiednich bazach danych (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A2I4E5L6>). Białko zostało szczegółowo scharakteryzowane na poziomie molekularnym. W postaci natywnej jest trimerem, podobnie jak jego odpowiedniki z blisko spokrewnionych roślin (np. orzech laskowy). Jego struktura drugorzędowa została zbadana za pomocą dichroizmu kołowego oraz analizy *in silico* i wykazała obecność 16% β -katek oraz 41% α -helis. Białko charakteryzuje umiarkowana stabilność termiczna i brak możliwości powrotu do struktury trzeciorzędowej po podgrzaniu do 95 °C. Alergen ulegał również degradacji w trakcie symulacji trawienia w przewodzie pokarmowym. Powstałe peptydy nie były rozpoznawane przez IgE pochodzące z surowic alergików w eksperymencie western blot.

Sekwencja Jug r 6, co spodziewane, znajduje się bliżej ewolucyjnie swoich odpowiedników z orzecha laskowego czy sezamu niż orzecha ziemnego. Odwrotnie niż w przypadku wcześniej scharakteryzowanego Jug r 2. Poziom identyczności sekwencji pomiędzy białkami przedstawiono w tabeli nr 3.

Tabela 3. Identyczność sekwencyjna pomiędzy wicylinami z poszczególnych roślin.

Zaadoptowano z Dubiela i wsp. 2018.

Organism	Allergen (Uniprot acc. no)	Jug r 6	Jug r 2
<i>Juglans regia</i>	Jug r 2 (Q9SEW4)	44%	100%
<i>Corylus avellana</i>	Cor a 11 (Q8S4P9)	72%	47%
<i>Sesamum indicum</i>	Ses i 3 (Q9AUD0)	60%	43%
<i>Pistacia vera</i>	Pis v 3 (B4X640)	54%	38%
<i>Arachis hypogaea</i>	Ara h 1 (E5G076)	27%	31%

Spośród 77 surowic od pacjentów z alergią na orzechy włoskie, n = 20 (26%) zawierało IgE rozpoznające Jug r 6 w teście IgE-ELISA. W tym samym eksperymencie Jug r 6 poddany obróbce cieplnej wciąż był wiązany przez IgE alergików. Alergen poddany symulacji trawienia pokarmowego wiązał mniejszą ilość IgE (różnica istotna statystycznie). Wykonane badania potwierdziły obecność epitopów konformacyjnych oraz liniowych.

Możliwość wykorzystania Jug r 6 jako markera reakcji krzyżowych dla alergii na orzechy drzewne została sprawdzona w teście inhibycyjnym IgE – ELISA. Do tego celu płytki opłaszczony testowanym alergenem – rJug r 2 lub Jug r 6 testowane były z surowicami pacjentów, które poddane zostały pre-inkubacji z ekstraktem z orzecha laskowego, pistacji, sezamu oraz Cor a 11 (wicylina z orzecha laskowego). Najwyższy poziom reakcji krzyżowych wykazano dla Jug r 6 oraz nCor a 11 (w zależności od testowanej surowicy od 59-97% inhibicji sygnału zależnego od wiązania IgE). Reakcje krzyżowe zmierzone dla rJug r 2 i testowanych molekuł były wyraźnie niższe. Wyniki te odpowiadają homologii sekwencji białkowej i stanowią dowód na odkrycie potencjalnego markera dla reakcji krzyżowych dla alergii na orzechy drzewne.

Podsumowując:

- zidentyfikowano nowy alergen z orzecha włoskiego - Jug r 6 rozpoznawany przez 26% alergików z badanej kohorty.
- nasze dane dostarczają dowodów, że Jug 6 jest bliższym niż Jug r 2 homologiem dla wicylin pochodzących z innych orzechów drzewnych - Cor a 11, Ses i 3 i Pis v 3 i dlatego jest kandydatem do testów jako marker reakcji krzyżowych dla alergii na orzechy drzewne w diagnostyce opartej o komponenty.

- zastosowane wysokoczule badanie proteomiczne nie wykazało obecności Jug r 2 w badanym materiale (orzech). Być może jest to białko nieobecne/obecne w niewielkiej ilości w orzechów i dlatego nie powinno być stosowane jako marker alergii na orzechy włoskie. Stanowi to istotne odkrycie dla diagnostyki komponentowej, dla których część białek zostało odkrytych tak jak Jug r 2 (klonowanie cDNA z łatwo dostępnego materiału, niekoniecznie tego który jest spożywany przez pacjentów).

Publikacja 2. Impact of lipid binding on the tertiary structure and allergenic potential of Jug r 3, the non-specific lipid transfer protein from walnut.

Grupa białek należących do rodziny nsLTP (ang. Non specific lipid transfer protein) po raz pierwszy została opisana w latach 80tych przez Kadera i wsp. którzy wskazali ich szczególne właściwości biochemiczne – nieswoiste wiązanie lipidów, które umożliwia ich transport wewnątrzkomórkowy. Najważniejszą cechą strukturalną pozwalającą na ten proces jest obecność hydrofobowego tunelu wewnątrz białka umożliwiającego związanie lipidu. Prócz swej biologicznej funkcji nsLTP znane są również jako ważne alergeny pokarmowe. Pierwszym scharakteryzowanym i opisanym alergenem z rodziny nsLTP był Pru p 3 z brzoskwini będący jednym z najważniejszych alergenów pokarmowych w krajach śródziemnomorskich.

Prace naszej grupy badawczej wskazały jako pierwsze, że nsLTP wiążą lipidy w sposób selektywny, a ich wiązanie ma znaczenie w procesie alergii, z uwagi na ekspozycje dodatkowych epitopów (Dubiela i wsp. 2017, Aina i wsp 2019). Wszystkie przedstawione dowody opierały się jednak o modelowanie *in silico* struktury białka, a co za tym idzie nie było jednoznacznego dowodu na zmiany konformacyjne pod wpływem związania ligandu. Celem publikacji nr 2 było jednoznaczne wykazanie za pomocą NMR (ang. Nuclear magnetic resonance) zmian strukturalnych w Jug r 3 (nsLTP z orzecha włoskiego) prowadzących do ekspozycji epitopu zwiększającego ilość wiązanych IgE pochodzących z surowic alergików. W trakcie badań wyprodukowano w systemie ekspresji *Pichia pastoris* rJug r 3 oraz rJug r 3 znakowane izotopami (¹⁴C oraz ¹⁵N). Rekombinowane białka scharakteryzowano za pomocą LC-MS/MS oraz dichroizmu kołowego wykazując oczekiwaną masę oraz α -helikalną strukturę typową dla nsLTP. Badanie interakcji z lipidowymi ligandami (kwasem oleinowym, stearynowym oraz laurynowym) za pomocą kompetycyjnej metody z zastosowaniem sondy fluorescencyjnej (kwas 8-anilino-1-naftalenosulfonowy) – wykazały, że tylko kwas oleinowy jest wiązany przez hydrofobową kieszeń rJug r 3. Wyniki tego eksperymentu zostały

potwierdzone metodą NMR WATER-LOGSY (ang. Water-Ligand Observed via Gradient Spectroscopy). Inwersja sygnału na widmie ^1H w przypadku dodania rJug r 3 do kwasu oleinowego i brak zmiany sygnału w przypadku dodania kwasu stearynowego świadczą o wybiórczej interakcji rJug r 3 – kwas oleinowy przy braku wiązania rJug r 3 z kwasem stearynowym.

Spektrum radioizotopowo znakowanego rJug r 3 zostało rozwiązane za pomocą metody NMR ^1H - ^{15}N HSQC, a następnie stopniowo dodawano kwas oleinowy, aż do stosunku molowego 1:6 (białko:ligand). Zaobserwowano subtelne zmiany strukturalne, które wyjaśniono za pomocą modelowania molekularnego. Największe zmiany strukturalne dotknęły region pętli C-końca białka, które w trakcie wiązania ligandu eksponowana jest na zewnątrz „otwierając” nieco strukturę białka. Mimo, niewielkich zmian strukturalnych, eksperyment IgE-ELISA z wykorzystaniem surowic pacjentów z alergią na orzechy włoskie wykazał, że kompleks rJug r 3-kwas oleinowy wiąże statystycznie istotnie więcej IgE niż sam rJug r 3. Wskazuje to na ekspozycję dodatkowego epitopu mającego znaczenie w procesie alergii (surowica pacjentów zawierała IgE anty-eksponowany w trakcie wiązania ligandu epitop).

Podsumowując:

- scharakteryzowano strukturalnie (struktura drugo i trzecio-rzędowa) nsLTP z orzecha włoskiego Jug r 3
- wykazano różnice w powinowactwie do wiązania lipidowych ligandów dla Jug r 3 – alergen wiąże kwas oleinowy, nie wiąże natomiast kwasu stearynowego czy laurynowego. Stanowi to ciekawe odkrycie biorąc pod uwagę nazwę rodziny białek, do których należy Jug r 3 (non specific lipid transfer protein) że:
- interakcja z kwasem oleinowym powoduje zmiany w strukturze trzeciorzędowej Jug r 3
- interakcje pomiędzy Jug r 3 i kwasem oleinowym prowadzące do zmian w strukturze trzeciorzędowej zmieniają potencjał alergenu do wiązania IgE poprzez ekspozycję dodatkowego epitopu rozpoznawanego przez przeciwciała pochodzące z surowicy alergików.

Publikacja 3. Component-resolved diagnosis in adult patients with food-dependent anaphylaxis.

Mimo rosnącej liczby publikacji wskazujących na istotność diagnostyki opartej o komponenty (ang. Component resolved diagnosis) przeprowadzony przez naszą grupą badawczą przegląd literatury nie zidentyfikował żadnej wskazującej na heterogenną populację pacjentów z anafilaksją pokarmową, którzy zostaliby przeanalizowani bez wcześniejszego dopasowania do konkretnej alergii (np. orzechów ziemnych). Celem badania było retrospektywne badanie

54 pacjentów z epizodem anafilaksji pokarmowej w oparciu o wszelkie dostępne metody diagnostyczne *in vitro* i porównanie wyników testowania z kliniczną diagnozą alergii opartą o:

- podwójnie zaślepioną próbę prowokacyjną (29 pacjentów) lub jednoznaczną historię anafilaksji wspartą wywiadem klinicznym i testem skórnym (SPT; 25 pacjentów).

Surowice wszystkich pacjentów zostały przebadane za pomocą ImmunoCAP oraz ImmunoCAP ISAC (112 alergenów). Zastosowane metody diagnostyczne *in vivo* oraz *in vitro* zostały porównane w odniesieniu do wspólności uzyskanych wyników.

Spośród 54 pacjentów, u 2 stwierdzono anafilaksje wywołaną owocami morza, natomiast 52 miało alergię na pokarmy pochodzenia roślinnego. Najczęstszą przyczyną anafilaksji była pszenica ($n = 21$), oraz orzechy drzewne ($n = 4$), seler ($n = 4$), soja ($n = 4$). Dla 12 przypadków nie udało się wykryć jednoznacznej przyczyny epizodu anafilaksji mimo pewności co do pochodzenia roślinnego pokarmu. U większości pacjentów wystąpiły objawy krążeniowe ($n = 44$), zaburzenia oddychania ($n = 42$), obrzęk naczynioruchowy i rumień ($n = 17$). Objawy ze strony przewodu pokarmowego odnotowano tylko w 5 przypadkach.

Porównanie diagnozy klinicznej i wyników uzyskanych przez ImmunoCAP-ISAC były w umiarkowanej zgodności (52% zgodności, kappa 0,524, $p < 0,05$). Najwyższą czułość mikromacierzy zaobserwowano dla selera, jak również dla orzechów drzewnych (75% zgodności, kappa 0,550, $p < 0,05$). Zastosowanie ImmunoCAP-ISAC w odniesieniu do anafilaksji wywołanej pszenicą uzyskano średnią czułość (52% zgodności, kappa 0,524, $p < 0,05$), podobnie jak dla alergii na soję, jabłko czy owoce morza (50% zgodności, brak możliwości wyznaczenia innych parametrów statystycznych).

Wyniki uzyskane przez SPT i ImmunoCAP-ISAC wykazały znaczną czułość testu z zastosowaniem mikromacierzy. Wśród 54 badanych surowic, 36 było w dobrej zgodności z wynikami uzyskanymi przez SPT (69% zgodności, kappa 0,667, $p < 0,05$). Najwyższy procent korelacji dotyczył orzechów drzewnych (orzech włoski, laskowy i nerkowiec; 100% zgodności, kappa 1,000, $p < 0,05$), a następnie selera i soi (75% zgodności, kappa 0,550, $p < 0,05$), oraz pszenicy (67% zgodności, kappa 0,667, $p < 0,05$).

Porównując wyniki uzyskane za pomocą ImmunoCAP oraz ImunoCAP-ISAC, zgodność dla obu testów uzyskano dla 41 z 54 próbek surowicy (76% zgodności, kappa 0,759, $p < 0,05$).

Tak jak w przypadku SPT, najwyższy procent korelacji stwierdzono dla orzechów drzewnych (włoskich, laskowych i nerkowca), selera i soi (100% zgodności, kappa 1,000, $p < 0,05$), a następnie „owoców morza” (50% zgodności, brak możliwości wyznaczenia innych

parametrów statystycznych). Co ciekawe, najniższą korelację zaobserwowano dla alergii na pszenicę (48% zgodności, kappa 0,476, $p < 0,05$).

Na podstawie danych z ImmunoCAP-ISAC zauważono, że większość pacjentów ($n = 35$) miała swoiste IgE skierowane przeciwko więcej niż jednemu alergenowi, w tym alergenom wziewnym, natomiast 6 pacjentów miało IgE skierowane przeciwko tylko jednemu alergenowi. Trzydzieści surowic badanych w ImmunoCAP-ISAC wykazało sIgE skierowane przeciwko alergenom pokarmowym, a 2 surowice miały IgE anty-CCD. W 22 surowicach nie wykryto IgE specyficznych dla żadnych alergenów pokarmowych obecnych na panelu ImmunoCAP-ISAC. Spośród tych pacjentów na podstawie diagnozy klinicznej pacjentów przyporządkowano do następujących grup: 8 chorych miało alergię na pszenicę, 2 anafilaksję wywołaną soją, a $n = 1$ miało alergię na każde z wymienionych: jabłko, nerkowiec, seler, chrzan i owoce morza. Ponadto w przypadku 7 pacjentów czynnik wywołujący był nieznanymi i testy *in vitro* nie pomogły w jego ustaleniu. Może to wynikać albo z niskiej czułości testu, albo świadczyć o tym, że wciąż brakuje odpowiednich alergenów pokarmowych w diagnostyce *in vitro*.

Podsumowując:

- zebrano kohortę 54 pacjentów z anafilaksją pokarmową
- u 29 pacjentów przeprowadzono podwójnie zaślepioną, kontrolowaną placebo prowokację pokarmową
- diagnoza kliniczna w oparciu o podwójnie zaślepioną próbę prowokacyjną lub historię anafilaksji wspartą SPT została porównana z dostępnymi metodami diagnostycznymi *in vitro*
- wszystkie zastosowane metody *in vitro* miały pewną wartość diagnostyczną, nie miały jednak wystarczającej czułości i specyficzności, aby uznać je za wystarczające do przeprowadzenia jednoznacznej diagnozy dla przebadanych próbek

Publikacja 4. Two patients with allergy to celery — Possible role of carbohydrate determinants and difference between seeds and tuber allergenicity

Reakcje alergiczne po spożyciu bulwy selera są jedną z istotnych przyczyn alergii pokarmowych, szczególnie w krajach Europy Środkowej, takich jak Niemcy, Francja i Szwajcaria. Szwajcarskie badanie z udziałem 402 pacjentów z alergią pokarmową wykazało obecność IgE skierowane przeciw alergenom obecnym w selerze u 42% pacjentów. Pacjenci cierpiący na alergię na pyłek brzozy mogą rozwinąć objawy po spożyciu selera z powodu reaktywności krzyżowej IgE między Api g 1 i głównym alergenem pyłku brzozy, Bet v 1.

Oba alergeny mają odpowiednio 40% identyczności sekwencji aminokwasowej i 60% podobieństwa. Jest to dobrze opisany przykład zespołu alergii pyłkowo-pokarmowej i wyjaśnia, dlaczego ponad 70% pacjentów uczulonych na pyłek brzozy ma niepożądane reakcje po spożyciu niektórych owoców, warzyw i orzechów. Natomiast informacje na temat analogicznego zespołu dla bylicy są skąpe. Jak dotąd, nie zidentyfikowano jeszcze alergenu odpowiadającego za jego reakcje krzyżowe z selerem.

Wykazano, że naturalna postać Api g 5 jest w stanie indukować aktywację bazofilów w przeciwieństwie do swojej formy deglikozylowanej. Przeciwciała anty-CCD (ang. cross-reactive carbohydrate determinants) wykryto u 38% pacjentów z alergią na seler. Wzory glikozylacji obecne na białkach są znane jako silne komponenty wiążące IgE, ale ich zdolność do wywoływania objawów alergicznych została zakwestionowana. Wiadomo natomiast, że mogą powodować dodatnie testy komponentowe na wiele alergenów, należących do różnych roślin i owadów w sytuacji, gdy alergeny te mają na swojej powierzchni podobne wzory glikozylacji.

Mimo zidentyfikowania szeregu alergenów z selera, które są powszechnie stosowane w testach diagnostycznych *in vitro*, wydaje się, że panel alergenów selera pozostaje niekompletny. W publikacji nr 4 opisano 2 pacjentów, u których wystąpiły objawy kliniczne po spożyciu bulwy selera. Badanie surowic od pacjentów uczulonych na seler pozwoliło na analizę znaczenia przeciwciał IgE skierowanych przeciwko CCD, które mogą mieć wpływ na reakcje alergiczne. Zbadano również ich możliwy wpływ na reakcje krzyżowe pomiędzy alergenami pochodzącymi z bylicy i selera. Przeanalizowano też proteom bulwy i nasion selera pod kątem profilu alergenów.

Pacjent nr 1 (64-letni mężczyzna) cierpiał na pyłkovicę i alergię na pietruszkę oraz prezentował objawy alergii zarówno po spożyciu surowego (pokrzywka), jak i gotowanego selera (zespół anafilaksji jamy ustnej). Testy skórne (SPT) były dodatnie na surowy/gotowany seler, pietruszkę, surową marchew, mniszek, koper włoski, kminek, bylicę, ambrozię, trawę i pyłek brzozy. Testy ImmunoCAP były dodatnie odpowiednio dla ambrozji (19,6 kU/l), bylicy (19,7 kU/l) i Art v 1 (15,2 kU/l).

Pacjentka numer 2 (55-letnia kobieta) również doświadczyła pokrzywki po spożyciu surowego selera, ale nie zgłaszała żadnych objawów na gotowany seler. Pacjentka cierpiała również z powodu pyłkowicy oraz zespołu anafilaksji jamy ustnej po spożyciu surowej marchewki. Testy SPT były dodatnie dla surowego selera, bylicy, pyłku traw i brzozy.

ImmunoCAP był dodatni odpowiednio dla Art v 1 (1,52 kU/l), Api g 1 (1,40 kU/l) i Phl p 1 (80 kU/l).

Surowice pacjentów były badane metodą ImmunoCAP-ISAC (112 alergenów). W surowicy pacjenta numer 1 przeważały swoiste IgE skierowane przeciwko alergenom glikozylowanym (CCD). Surowica pacjenta numer 2 zawierała przeciwciała IgE przeciwko homologom Bet v 1 (Bet v 1, Aln g 1, Mal d 1, Cor a 1, i Api g 1), alergenom pyłku traw, takim jak Cyn d 1, i głównemu alergenowi bylicy, Art v 1.

Przeprowadzone testy immunologiczne dostarczyły ciekawych informacji na temat możliwych przyczyn alergii. Immunobloty IgE wykonane z ekstraktu z nasion selera miały podobny wzór podczas badania obu surowic. Specyficzne przeciwciała IgE wiązały się z 2 białkami o masie odpowiednio 55 kDa i 90 kDa. Inhibicja glikozylowanymi białkami, odpowiednio peroksydazą chrzanową (HRP) i nApi g 5 (n-naturalny), całkowicie zablokowała wiązanie IgE. Natomiast preinkubacja surowic z rApi g 1 (r-rekombinowany) nie miała wpływu na wzór rozpoznawania IgE.

Ekstrakt z bulwy selera zawierał tylko jedno białko o wysokiej masie cząsteczkowej (65 kDa) rozpoznawane przez IgE z surowicy pacjenta numer 1, a inkubacja z HRP i Api g 5, blokowała tę zdolność wiązania, podczas gdy inhibicja z rApi g 1 nie miała wpływu na tę interakcję. Surowica od pacjenta numer 2 zawierała IgE rozpoznające białko o masie cząsteczkowej około 15 kDa, które było hamowane przez preinkubację rApi g 1. Wynik ten był zgodny z danymi z analizy ImmunoCAP-ISAC. Blokowanie za pomocą HRP i nApi g 5 nie wpływało na IgE przeciwko rApi g 1. Wyniki analiz zostały potwierdzone w eksperymentach inhibicyjnej ELISA.

Najciekawsze wyniki dostarczył test komórkowy symulujący degranulację mastocytów w trakcie ekspozycji na alergeny. Do tego celu użyto testu z linią komórkową RBL (ang. Rat basophil leukemia), w którym mierzy się ilość lucyferazy po ekspozycji komórek na określony alergen. Surowica nr 1 indukowała wysoką odpowiedź bazofilów po stymulacji HRP, wyrażoną ponad 10-krotnym wzrostem sygnału. nApi g 5 indukował ponad dwukrotny wzrost. Ekstrakty z bulwy i nasion selera indukowały podobne odpowiedzi (około trzykrotny wzrost). Niską aktywację obserwowano po inkubacji odpowiednio z rBet v 1 i rApi g 1 i była ona zgodna z niskim poziomem przeciwciał anty Bet v 1 i anty Api g 1 w ImmunoCAP-ISAC. Badanie komórek RBL wykonane z surowicą nr 2 potwierdziło obserwowane wcześniej ogólnie niższe poziomy swoistych IgE i spowodowało niższe wartości aktywacji bazofilów w porównaniu z wynikami uzyskanymi z surowicą nr 1. HRP indukował

najsilniejszą odpowiedź bazofilów w postaci około 2-krotnego wzrostu. Ekstrakty z bulw i nasion indukowały odpowiednio 1,4- i 0,2-krotny wzrost. Inkubacja z rApi g 1 nie aktywowała bazofilów.

Wyniki tych badań dostarczają dwóch głównych obserwacji: pierwszą jest fakt, iż profil alergenów z bulwy i nasion selera jest różny, zarówno pod kątem jakościowym jak i ilościowym. Dane te wskazują na konieczność prowadzenia dalszych badań proteomicznych w celu oceny profilu alergenów różnych organów i tkanek roślinnych (tak jak opisano dla publikacji nr 1). Drugą obserwacją jest znaczenie profilu glikozylacji i obecności CCD na powierzchni niektórych alergenów. W przypadku naszego badania, CCD były nie tylko wiązane przez IgE pochodzące z surowic alergików, ale też wywoływały odpowiedź komórkową w teście czynnościowym RBL. Stanowi to ważną przesłankę, aby w określonych przypadkach przyjrzeć się profilowi IgE anty-CCD. W diagnostyce komponentowej nadal brakuje białka odpowiedzialnego za reakcje krzyżową między selerem a bylicą. Częściowym wyjaśnieniem tego zjawiska mogą być zaobserwowane ograniczone reakcje krzyżowe pomiędzy ekstraktem z selera i białkiem nArt v 1. Warto zwrócić uwagę, że główny alergen bylicy, Art v 1, charakteryzuje się O-glikozylacją, co może mieć wpływ na jego alergiczność i być może reakcje krzyżowe.

Podsumowanie:

- wykryto różnice w profilu alergenów pomiędzy nasionami i bulwami selera wskazując konieczność badań proteomicznych celem zwiększenia jakości diagnozy *in vitro*
- zidentyfikowano CCD/białka glikozylowane jako molekularną przyczynę alergii u dwóch pacjentów z alergią na selera
- wskazano istotne znaczenie CCD w przypadku diagnostyki alergii na seler szczególnie w przypadku współistnienia alergii na pyłek bylicy

Publikacja 5. *In Vitro* Assays for Diagnosis of Drug-Induced Nonsevere Exanthemas: A Systematic Review and Meta-Analysis

Diagnostyka nadwrażliwości na leki należy do najtrudniejszych, a z uwagi na rosnącą liczbę nowych leków, jej znaczenie rośnie. Opublikowane do tej pory przeglądy systematyczne i metaanalizy testów *in vitro* koncentrowały się wyłącznie na reakcjach natychmiastowych i najcięższych reakcjach opóźnionych. Najczęstszymi reakcjami opóźnionymi wywołanymi przez leki są łagodne osutki, które w literaturze były pomijane. Celem publikacji nr 5 było

wypełnienie tej luki, aby opisać stan faktyczny stosowanej diagnostyki *in vitro* i jej wartości w odniesieniu do określonych grup leków.

Systematyczny przegląd badań dotyczących testów *in vitro* wykorzystywanych w diagnostyce opóźnionych reakcji polekowych o łagodnym przebiegu przeprowadzono zgodnie z metodologią Preferred Reporting Items for a Systematic Review and Meta-analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies Statement stanowiącą złoty standard dla tego typu prac. Przeszukano bazy danych EMBASE i PubMed. Do analizy włączono 33 badania, z których wyodrębniono dane, a następnie przeprowadzono metaanalizę tam, gdzie było to możliwe, lub dokonano narracyjnej syntezy dowodów. Jakość analizowanych badań oceniono za pomocą narzędzia QUADAS-2.

Najlepiej opisanym w literaturze testem jest LTT (ang. Lymphocyte Proliferation/Transformation Tests). Z analizowanych badań (n = 24) wyodrębniono i połączono wyniki testu LTT dla 431 pacjentów. Kontrolę stanowiło 318 wyników testu LTT pochodzących od osób zdrowych lub oznaczeń LTT wykonanych z użyciem nieistotnych dla pacjentów leków. Zidentyfikowano trzy badania przeprowadzone w populacji dziecięcej, 6 badań przeprowadzonych zarówno w populacji dziecięcej, jak i dorosłych, w 13 badaniach opisano wyniki w populacji dorosłych, a 4 badania przeprowadzono w nieokreślonej (niejasno scharakteryzowanej) populacji. Czułość w poszczególnych badaniach wahała się od 0% do 100%, w zależności od rodzaju opóźnionej reakcji nadwrażliwości i analizowanego leku. Swoistość wahała się od 66,7% do 100%. Ogólna średnia czułość i swoistość oznaczenia LTT wynosiła odpowiednio 48,6% i 93,7%. Czułość testu LTT dla większości badanych leków - beta-laktamów i leków przeciwpadaczkowych - wynosiła odpowiednio od 0% do 100% i od 0% do 50%. Zakresy swoistości LTT dla tych grup leków były następujące: 66,7% do 100% i 95,8% do 100%. Najczęściej badanymi lekami były antybiotyki (reprezentowane głównie przez beta-laktamy) i leki przeciwpadaczkowe. Wśród opóźnionych reakcji nadwrażliwości najczęściej występowała osutka plamisto-grudkowa (MPE, ang. maculo-papular exanthema). Drugim najczęściej opisywanym testem jest ELISpot. Wyodrębniono i połączono wyniki ELISpot od 415 pacjentów z analizowanych badań (n=7), w których test był stosowany do wykrywania komórek wydzielających IFN- γ , IL-4, IL-5 i GrB. Kontrolę stanowiło 85 wyników ELISpot pochodzących od osób zdrowych lub testów ELISpot wykonanych z użyciem leków nieistotnych klinicznie u pacjentów. Większość badań przeprowadzono w populacji osób dorosłych (n=4), a jedno badanie przeprowadzono u osób dorosłych i dzieci oraz jedno tylko u pacjentów pediatrycznych. W jednym z badań nie określono wieku

populacji. Czulość w poszczególnych badaniach wahała się od 0% do 100%, w zależności od typu reakcji opóźnionej nadwrażliwości i analizowanego leku. Swoistość (określona tylko w 4 badaniach) wahała się od 82,9% do 100%. Ogólna średnia czulość i swoistość testu LTT wynosiła odpowiednio 55,6% i 93,1%. Czulość testu ELISpot dla większości badanych leków: (i) beta-laktamów, reprezentowanych przez penicyliny i (ii) leków przeciwpadaczkowych reprezentowanych przez karbamazepinę, lamotryginę, okskarbazepinę i fenytoinę wynosiła odpowiednio od (i) 60% do 90,9% i od (ii) 0% do 72,7%. Zakres swoistości ELISpot dla tych grup leków był następujący: 82,9% do 95% oraz 95,8% do 100%. Wśród opóźnionych reakcji nadwrażliwości najczęściej występował MPE. Test ELISpot wydaje się najdokładniejszy w wykrywaniu MPE wywołanego przez penicyliny (czulość: 90,9%; swoistość: 95%).

W pracy przeglądowej analizowano również rzadziej stosowane testy: ELISA oraz BAT (ang. Basophil activation test). Publikacje z zastosowaniem ELISA koncentrują się na pomiarze następujących cytokin: IL-5, IL-10 i IFN- γ . Eksperymenty zostały zaprojektowane w celu identyfikacji opóźnionych reakcji alergicznych tylko wobec leków przeciwpadaczkowych. Z analizowanych badań wyodrębniono i połączono wyniki ELISA pochodzące od 61 pacjentów (n= 4). Kontrolę stanowiło 61 wyników ELISA od osób zdrowych lub testów ELISA wykonanych z użyciem nieistotnych dla pacjentów leków. Jedno badanie przeprowadzono w populacji mieszanej, dziecięcej i dorosłej, a pozostałe 3 w populacji dorosłych. Czulość w poszczególnych badaniach wahała się od 17,4% do 91,7%, w zależności od mierzonej cytokiny. Swoistość wahała się od 60% do 100%. Najbardziej specyficznym biomarkerem była IL-5 z czulością 91,7% i swoistością 100%. Ogólna średnia czulość i swoistość testu ELISA wynosiła odpowiednio 50,9% i 92%.

BAT jako dobrze znany test w natychmiastowych reakcjach alergicznych, został również przetestowany pod kątem zdolności do wykrywania opóźnionej nadwrażliwości na leki w dwóch badaniach. Oznaczenia BAT wykonano w trzech ustawieniach mierząc ekspresję CD203c+ i/lub CD63+ w celu zbadania reakcji alergicznych na beta-laktamy i antybiotyki. Wyniki BAT od 20 pacjentów zostały wyodrębnione i połączone z dwóch analizowanych badań. Kontrolę stanowiło 30 wyników BAT od osób zdrowych. Czulość w poszczególnych badaniach wahała się od 0% do 33,3%, w zależności od ekspresji mierzonego markera aktywacji, przy czym większe znaczenie dla takiego pomiaru miał CD63+. Swoistość wahała się od 78,6% do 100%.

Analiza literatury wskazała najważniejszy problem w diagnostyce opóźnionych, łagodnych reakcji polekowych - brak standaryzacji zarówno w wykonywaniu testów, jak i odczycie wyników. Skutkuje to szerokim zakresem swoistości i czułości testów. To z kolei stawia wyzwania w codziennej praktyce lekarskiej. Należy zauważyć, że pomimo teoretycznej dostępności wielu metod diagnostycznych *in vitro*, przeprowadzona metaanaliza wskazuje, że możliwości wykorzystania tych metod w praktyce są ograniczone. Najbardziej spójne dane literaturowe dostępne są dla LTT. Z analizy i heterogenności danych wynika, że duże znaczenie ma doświadczenie danego ośrodka diagnostycznego w zakresie hodowli komórkowych i stymulacji ich podejrzanymi lekami, a jest to wspólny etap w różnych testach *in vitro*, niezależnie od odczytu stosowanych systemów (LTT, ELISA czy ELISpot).

Podsumowanie:

- przeprowadzono pierwszy systematyczny przegląd badań dotyczących testów *in vitro* wykorzystywanych w diagnostyce opóźnionych reakcji polekowych o łagodnym przebiegu
- porównano wykorzystywane testy *in vitro* pod kątem czułości i specyficzności
- wskazano ograniczenia testów *in vitro* oraz najważniejsze potrzeby, aby podnieść ich jakość

Podsumowanie najważniejszych osiągnięć wynikających z badań opisanych w cyklu publikacji:

1. Wskazano konieczność badań proteomicznych nad alergenami pokarmowymi. Przez odkrycie nowego alergenu (Jug r 6) wykazano po raz pierwszy, że poprzednie dekady badań mogły doprowadzić do odkrycia części alergenów o mniejszym znaczeniu (prezentacji w pożywieniu), które aktualnie są dostępne w rutynowej diagnostyce *in vitro*.
2. Wykazano swoistość wiązań lipidowych dla Jug r 3 – przedstawiciela alergenów z rodziny nsLTP. Wiązanie niektórych ligandów (np. kwasu oleinowego) doprowadza do zmian strukturalnych, które zwiększają ilość wiązanych IgE, a co za tym idzie mają znaczenie w diagnostyce jak i w zaprojektowaniu hipoalergicznym alergenów do immunoterapii.
3. Wykazano ograniczenia diagnostyki *in vitro* u pacjentów z anafilaksją pokarmową. Wyniki badania dowiodły, że żadna z aktualnie stosowanych metod *in vitro*, ani pojedynczo, ani zbiorczo nie może zastąpić diagnostyki klinicznej opartej o próby prowokacyjne.
4. Wskazano znaczenie CCD w diagnostyce pacjentów z alergią na seler. Wykazano różnice w profilu alergenów bulwy oraz nasion, a także zasugerowano, że profil glikozylacji może być odpowiedzią na reakcje krzyżowe pomiędzy bylicą, a selerem.
5. Przeprowadzono pierwszy przegląd systematyczny z elementami metaanalizy testów diagnostycznych polekowych reakcji opóźnionych o łagodnym przebiegu. Praca przeglądowa

dostarczyła syntezy aktualnych osiągnięć i ograniczeń na polu diagnostyki *in vitro* dla różnych grup leków w tym obszarze klinicznym.

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

5.1. Działalność naukowa na polu międzynarodowym.

Habilitant prowadził swoje badanie w trakcie stażu podoktorskiego na uczelni zagranicznej – Uniwersytet Medyczny w Wiedniu w Zakładzie Patofizjologii i Badań nad Alergiami (2018-2020). Już w trakcie doktoratu odbył kilka staży zagranicznych w renomowanych jednostkach:

- Magnetic Resonance Center (CERM), Florencja, Włochy
- Uniwersytet w Liege, Liege, Belgia
- Uniwersytet w Belgradzie, Belgrad, Serbia

podczas których, nawiązał kilka znaczących współprac międzynarodowych opisanych poniżej.

5.1.1 Uczestnictwo w europejskim konsorcjum iNEXT: a European facility network to stimulate translational structural biology

Projekt iNEXT, "Infrastructure for NMR, EM and X-rays for Translational research", jest finansowaną przez Komisję Europejską w ramach programu Horyzont 2020 siecią infrastruktur, mającą na celu ułatwienie wspieranego przez UE, ponadnarodowego dostępu użytkownikom do kilku wysokiej klasy infrastruktur biologii strukturalnej oraz rozszerzenie wykorzystania technologii biologii strukturalnej na nowe środowiska badawcze. W ramach programu iNEXT opracowano różne ścieżki dostępu oferujące najnowocześniejsze technologie i wiedzę, dzięki czemu zaspokajają one różnorodne potrzeby grup badawczych, które pragną wykonywać badania z zakresu krystalografii rentgenowskiej, rozpraszania promieniowania rentgenowskiego pod małym kątem, NMR w roztworze lub w stanie stałym, mikroskopii elektronowej z tomografią pojedynczych cząstek lub komórek, biofizyki i doświadczeń związanych z obrazowaniem. Działania badawcze mają na celu poprawę współpracy w ramach stale rozwijających się metod i koncentrują się na inicjatywach

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

związanych z odkryciem leków opartych na strukturze, charakteryzacją białek membranowych i biologią strukturalną komórki.

Habilitant otrzymał grant z iNEXT (iNEXT grant, project No. 653706). W ramach grantu przeprowadzone zostały badania strukturalne nad rJug r 3. Habilitant otrzymał rekombinowane białko znakowane izotopowo, przeprowadził wszystkie badania biochemiczne potwierdzające jego właściwości (LC-MS/MS, dichroizm kołowy), a także przeprowadził screening dotyczący właściwości interakcji białko:ligand typując kwas oleinowy jako najlepiej wiązany przez rJug r 3. Habilitant przygotował eksperyment strukturalny (NMR) i brał udział w analizie danych.

Osoby koordynujące projekt: Prof. Karin Hoffmann-Sommergruber (Uniwersytet Medyczny w Wiedniu), Prof. Stefano Alessandri (Magnetic Resonance Center (CERM), Florencja, Włochy).

Współpraca zaowocowała współautorstwem 3 manuskryptów opublikowanych w prestiżowych periodykach (poniżej).

Dubiela P, Aina R, Polak D, Geiselhart S, Humeniuk P, Bohle B, Alessandri S, Del Conte R, Cantini F, Borowski T, Bublin M, Hoffmann-Sommergruber K. Enhanced Pru p 3 IgE-binding activity by selective free fatty acid-interaction. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Dec;140(6):1728-1731.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2017.06.016. Epub 2017 Jul 14. PMID: 28712832.

Aina R, **Dubiela P**, Geiselhart S, Bublin M, Bruschi M, Radauer C, Nagl C, Humeniuk P, Asero R, Mortz CG, Hafner C, Hoffmann-Sommergruber K, Borowski T. Distinct Lipid Transfer Proteins display different IgE-binding activities that are affected by fatty acid binding. *Allergy.* 2019 Apr;74(4):827-831. doi: 10.1111/all.13682. Epub 2018 Dec 16. PMID: 30480827; PMCID: PMC6491988.

Dubiela P, Del Conte R, Cantini F, Borowski T, Aina R, Radauer C, Bublin M, Hoffmann-Sommergruber K, Alessandri S. Impact of lipid binding on the tertiary structure and allergenic potential of Jug r 3, the non-specific lipid transfer protein from walnut. *Sci Rep.* 2019 Feb 14;9(1):2007. doi: 10.1038/s41598-019-38563-1. PMID: 30765752; PMCID: PMC6376136.

5.1.2 Uczestnictwo w europejskim konsorcjum ImpARAS: Improving Allergy Risk Assessment Strategy for new food proteins (ImpARAS)

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Powołany przez Komisję Europejską program Horyzont 2020 pt: "Sustainable European bio-economy; bridging the gap between new technologies and their implementation" wprowadził projekt badawczy ImpARAS. Ocena bezpieczeństwa żywności jest ważnym wymogiem przed wprowadzeniem nowych produktów na rynek. Oceny takie obejmują badanie zagrożeń mikrobiologicznych i toksykologicznych, jak również ryzyka wystąpienia alergii pokarmowej.

Z perspektywy przemysłu istnieje potrzeba a) stosunkowo tanich, łatwych i niezawodnych narzędzi do badania alergenicności nowych lub zmodyfikowanych białek żywnościowych, b) wczesnego podejmowania decyzji opartych na ryzyku podczas rozwoju produktu i c) ulepszonej strategii oceny ryzyka akceptowanej przez organy regulacyjne. Nowa multidyscyplinarna sieć naukowa miała za zadanie udoskonalić strategie przewidywania alergenicności nowych lub zmodyfikowanych białek lub białek pochodzących z nowych źródeł za pomocą nowatorskich i innowacyjnych metod.

Habilitant otrzymał grant z ImpARAS (EU COST Action: FA1402). W ramach grantu przeprowadzone zostały badania nad wicylinami z orzecha włoskiego. Habilitant otrzymał rekombinowane białko rJug r 2 oraz oczyścił frakcje wicylin z orzecha włoskiego. Następnie scharakteryzował wicylinę obecną w proteomie orzecha odkrywając nowy alergen - Jug r 6. Alergen został scharakteryzowany za pomocą spektrometrii mas, dichroizmu kołowego, a jego potencjał alergiczny oceniony metodami immunologicznymi (Western blot, ELISA, ELISA inhibicyjna).

Osoby koordynujące projekt: Prof. Karin Hoffmann-Sommergruber (Uniwersytet Medyczny w Wiedniu, Wiedeń, Austria), Prof. Nicolas Smargiasso (Uniwersytet w Liege, Liege, Belgia).

Współpraca zaowocowała współautorstwem manuskryptu opublikowanego w prestiżowym periodyku (poniżej).

<p>Dubiela P, Kabasser S, Smargiasso N, Geiselhart S, Bublin M, Hafner C, Mazzucchelli G, Hoffmann-Sommergruber K. Jug r 6 is the allergenic vicilin present in walnut responsible for IgE cross-reactivities to other tree nuts and seeds. <i>Sci Rep.</i> 2018 Jul 27;8(1):11366. doi: 10.1038/s41598-018-29656-4. PMID: 30054513; PMCID: PMC6063931.</p>
--

5.1.3 Współpraca naukowa z Division of Allergology and Immunology, Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Corporate

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, And Berlin Institute of Health, Berlin, Germany. (Prof. M. Worm) w zakresie diagnostyki pacjentów z anafilaksją pokarmową.

Habilitant nawiązał współpracę z ośrodkiem inicjując projekt, a następnie był odpowiedzialny za przeprowadzenie szeregu badań *in vitro* oraz porównanie ich z oceną kliniczną.

Współpraca zaowocowała publikacją:

Dubiela P, Dölle-Bierke S, Aurich S, Worm M, Hoffmann-Sommergruber K. Component-resolved diagnosis in adult patients with food-dependent anaphylaxis. *World Allergy Organ J.* 2021 Mar 12;14(3):100530. doi: 10.1016/j.waojou.2021.100530. PMID: 33767803; PMCID: PMC7973241.

5.1.4 Współpraca naukowa z Institute of Pathophysiology and Allergy Research Center of Pathophysiology Infectiology and Immunology, Medical University of Vienna Vienna Austria. (Prof. M. Bublin) w zakresie diagnostyki pacjentów z alergią na migdały.

Habilitant nawiązał współpracę z ośrodkiem inicjując projekt, a następnie był odpowiedzialny za koordynację prac pomiędzy ośrodkami polskimi i austriackim, a także dobór metodologii do badań immunologicznych i proteomicznych.

Współpraca zaowocowała publikacją:

Kabasser S, Crvenjak N, Schmalz S, Kalic T, Hafner C, **Dubiela P**, Kucharczyk A, Bazan-Socha S, Lukaszyc M, Breiteneder H, Radauer C, Bublin M. Pru du 1, the Bet v 1-homologue from almond, is a major allergen in patients with birch pollen associated almond allergy. *Clin Transl Allergy.* 2022 Aug 8;12(8):e12177. doi: 10.1002/ctt2.12177. PMID: 35949989; PMCID: PMC9358727.

5.2. Działalność naukowa na polu krajowym.

5.2.1 Badacz w polskiej grupie badań nad znaczeniem bradykininy w wybranych chorobach.

Projekt badawczy UJ finansowany z NCN: UMO-2014/13/B/NZ6/00246 zatytułowany: Importance of oxidative stress in synthesis of vascular permeability regulators in patients with hereditary angioedema (HAE). Gran przyznany prof. dr hab. Krystynie Obtulowicz.

Współpraca: Zakład Alergologii Klinicznej i Środowiskowej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, (kierownik projektu Prof. dr hab. n. med. Krystyna Obtulowicz).

Wprowadzenie: Bradykinina (BK) jest nonapeptydem należącym do rodziny kinin. Jest aktywnym mediatorem stanu zapalnego poprzez swoje receptory BR1 i BR2. O ile rola bradykininy i jej receptorów jest dobrze opisana w dziedzicznym obrzęku naczynioruchowym (HAE), o tyle informacje na jej temat dla innych jednostek chorobowych, w których mogłaby mieć znaczenie są ograniczone. W przypadku HAE bradykinina jest bezpośrednim winowajcą obrzęku na skutek oddziaływania na receptory BR2 i zwiększenia przepuszczalności naczyń włosowatych, w wyniku czego powstaje miejscowy obrzęk.

Cel badań: Celem projektu było zbadanie roli bradykininy i jej receptorów (zarówno BR1 jak i BR2) w przebiegu dwóch chorób: dziedzicznego obrzęku naczynioruchowego (HAE) oraz przewlekłej pokrzywce spontanicznej (CSU). Hipoteza badawcza zakładała, że:

- bradykinina i jej receptory mogą mieć znaczenie w CSU odpornej na standardowe leczenie (antyhistaminowe)
- profil ekspresji receptorów bradykininy może mieć wpływ na ciężkość ataków oraz odpowiedź na leczenie za pomocą ikatybantu (antagonista receptora 2 bradykininy)

Opis realizowanych prac: W Zakładzie Alergologii Klinicznej i Środowiskowej, Uniwersytetu Jagiellońskiego przeprowadzono dwa niezależne badania:

1) Do badania zakwalifikowano 30 pacjentów (w tym 24 K i 6 M) z przewlekłą pokrzywką spontaniczną (CSU) w wieku od 19 do 87 lat oraz 30 osób zdrowych dobranych pod względem płci i wieku. Diagnozę CSU postawiono na podstawie wywiadu lekarskiego i obrazu klinicznego zmian skórnych. U wszystkich osób na podstawie wyników konsultacji (stomatologicznych, laryngologicznych, urologicznych oraz ginekologicznych u kobiet) wykluczono obecność utajonych ognisk zapalnych. Aktywności pokrzywki oceniano za pomocą skali UAS-7 zgodnie z wytycznymi EAACI/GALEN/EDF. U chorych w fazie aktywnej pokrzywki oraz u osób z grupy kontrolnej pobrano krew celem oznaczenia D-dimerów, CRP, stężenia witaminy D, fibrynogenu oraz trombocytów. Jednocześnie wykonano oznaczenie ekspresji receptorów BR1 i BR2 na komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej.

2) Do badania zakwalifikowano 40 pacjentów z HAE (26 K, 14 M) i 30 osób zdrowych dobranych pod kątem płci i wieku. U wszystkich pacjentów włączonych do badania rozpoznano HAE zgodnie z międzynarodowymi wytycznymi WAO/EAACI. Pacjenci stanowiący kontrolę mieli potwierdzony przez lekarza ujemny wywiad rodzinny w kierunku HAE oraz prawidłowe stężenie C1-INH, aktywność czynnościową C1-INH i stężenie C4 w surowicy. Próbkę krwi celem oznaczenia poziomu ekspresji receptorów bradykininy pobrano

od wszystkich zdrowych osób oraz od pacjentów z HAE w remisji (oznaczającej brak ataku przez minimum 14 dni). Dodatkowo pobrano próbki krwi od 20 pacjentów w trakcie ataku HAE. Badania podczas ataku obejmowały ocenę wybranych markerów HAE w osoczu (IL-1, TNF alfa, tPA, PGI₂) za pomocą standaryzowanej metody ELISA.

Opis najważniejszych osiągnięć:

Badanie 1: W naszym badaniu wykazaliśmy po raz pierwszy, że u chorych z CSU w porównaniu do grupy kontrolnej obserwuje się znamienny wzrost ekspresji receptora 1 bradykininy na limfocytach (BR1). Wykazano, że u pacjentów z aktywną postacią CSU jak i u chorych z HAE w trakcie napadu obserwuje się porównywalną ekspresję BR1 na limfocytach i BR2 na monocytach, co świadczy o udziale bradykininy i jej receptorów w CSU. Dodatkowo otrzymane przez nas wyniki wykazały znamienne statystycznie zależności między ciężkością pokrzywki ocenianą w skali UAS-7, a aktywnością obu receptorów bradykininy.

Badanie 2: Stwierdzono istotne statystycznie różnice w subpopulacji limfocytów i monocytów między pacjentami z HAE w porównaniu z osobami zdrowymi. Poziom BR1 i BR2 na jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej był porównywalny u osób zdrowych i pacjentów z HAE w okresie remisji, przy znacznej nadekspresji obu receptorów, wywołanej atakiem HAE. Ponadto wśród pacjentów z HAE obserwowano istotny wzrost stężenia TNF-alfa i IL-1 w osoczu. Otrzymane wyniki wskazują, że nie tylko BR2, ale również BR1 może odgrywać ważną rolę w patomechanizmie HAE.

Publikacje:

Obtulowicz A, **Dubiela P[#]**, Dyga W, Migacz-Gruszka K, Mikołajczyk T, Wojas-Pelc A, Obtulowicz K. The Role of Bradykinin Receptors in the Etiopathogenesis of Chronic Spontaneous Urticaria. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Oct 19;57(10):1133. doi: 10.3390/medicina57101133. PMID: 34684170; PMCID: PMC8539896.

Dyga W, Obtulowicz A, Mikołajczyk T, Bogdali A, **Dubiela P^{*#}**, Obtulowicz K. The Role of Bradykinin Receptors in Hereditary Angioedema Due to C1-Inhibitor Deficiency. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 7;23(18):10332. doi: 10.3390/ijms231810332. PMID: 36142237; PMCID: PMC9499460.

*współdzielony ostatni autor; #autor korespondencyjny

5.2.2 Inicjator wielośrodkowego badania obserwacyjnego o charakterze prospektywnym pt. A Study With Lanadelumab in Persons With Hereditary Angioedema (HAE) in Poland (CHOPIN).

Habilitant w ramach swojej pracy dla firmy farmaceutycznej Takeda, współtworzył protokół nieinterwencyjnego badania klinicznego prowadzonego aktualnie w Polsce w 11 ośrodkach. Badanie ma na celu obserwację w warunkach codziennej praktyki klinicznej pacjentów z HAE typu 1 lub typu 2 leczonych lanadelumabem zgodnie z Charakterystyką Produktu Leczniczego (ChPL) i wymogami programu lekowego. Uczestnicy są obserwowani w tym prospektywnym badaniu obserwacyjnym przez 36 miesięcy. Badanie zostało zaprojektowane zgodnie z GCP (ang. Good clinical practice) i w swoich założeniach ma ocenić efektywność i bezpieczeństwo terapii lanadelumabem. Badanie wciąż trwa. Szczegółowe informacje nt protokołu badania dostępne są pod adresem: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT05147181?cond=HAE&cntry=PL&draw=2&rank=2#contacts>

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

6.1 Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

okres przed uzyskaniem stopnia doktora

brak

okres pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego

brak

6.2 Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt 4).

6.2.1 Wykaz i omówienie publikacji z zakresu charakterystyki biochemicznej i molekularnej alergenów i testów *in vitro* warunkującej ich przydatność w diagnostyce alergii, nie objętych w ramach osiągnięcia naukowego o którym mowa w pkt 4.

Aina R, **Dubiela P**, Geiselhart S, Bublin M, Bruschi M, Radauer C, Nagl C, Humeniuk P, Asero R, Mortz CG, Hafner C, Hoffmann-Sommergruber K, Borowski T. Distinct Lipid Transfer Proteins display different IgE-binding activities that are affected by fatty acid binding. *Allergy*. 2019 Apr;74(4):827-831. doi: 10.1111/all.13682. Epub 2018 Dec 16. PMID: 30480827; PMCID: PMC6491988.

Białka z rodziny non specific lipid transfer protein (nsLTP) są istotnymi alergenami pokarmowymi. Ich cechami wspólnymi jest zwarta struktura 3D, z hydrofobowym tunelem, który może wiązać lipidy. Nasze poprzednie badania (Dubiela i wsp. 2017) wykazały, że ich wiązanie nsLTP z odpowiednim ligandem może wpływać na alergeniczność białka.

Celem publikacji była analiza wybranych nsLTP o różnym potencjale do wywoływania alergii: Mal d 3 z jabłka (wysoki), Cor a 8 z orzecha laskowego (pośredni) i Hel a 3 z nasion słonecznika (niski), i ich interakcje z 3 kwasami tłuszczowymi: kwasem oleinowym (OLE), kwasem stearynowym (STE) i laurynowym (LAU). Wyekstrahowano i oczyszczono naturalne nsLTP i wyprodukowano ich rekombinowane odpowiedniki w systemie ekspresji *Pichia pastoris*. Wiązanie ligandów przez nsLTPs oceniano za pomocą testu kompetycyjnego ANS (kwas 1-anilinaftaleno-8-sulfonowy), mierząc spadek fluorescencji ANS w trakcie interakcji z ligandem. Zdolność wiązania nsLTP (samych vs związanych z ligandem) oceniano metodą IgE-ELISA z użyciem surowic od osób uczulonych na nsLTP z brzoskwini i/lub orzechów laskowych. Dla wybranych kompleksów nsLTP/ligand przeprowadzono symulacje dynamiki molekularnej (MD) w celu analizy wpływu wiązania ligandu na konformację białka, ze szczególnym uwzględnieniem specyficznych epitopów IgE.

Przeprowadzone badanie po raz pierwszy zaadresowało zdolność wiązania ligandów przez Mal d 3, Cor a 8 i Hel a 3. Wykazano, że te homologii należące do rodziny nsLTP mają różną strukturę epitopową co ma swoje odzwierciedlenie w potencjale wiązania IgE pochodzących z surowic alergików.

Ponadto, objętość i właściwości strukturalne tunelu wiążącego ligandy poszczególnych nsLTP są krytyczne dla ich selektywności determinującej wiązanie lipidów. Po związaniu ligandu może dochodzić do zmian strukturalnych prowadzących do zwiększonej dostępności epitopów konformacyjnych. Zgromadzone dane dostarczają molekularnych dowodów na to, jak wiązanie ligandów przez nsLTP wpływa na potencjał alergiczny wybranych nsLTP.

Kabasser S, Crvenjak N, Schmalz S, Kalic T, Hafner C, **Dubiela P**, Kucharczyk A, Bazan-Socha S, Lukaszyc M, Breiteneder H, Radauer C, Bublin M. Pru du 1, the Bet v 1-homologue from almond, is a major allergen in patients with birch pollen associated almond allergy. Clin Transl Allergy. 2022 Aug 8;12(8):e12177. doi: 10.1002/ct2.12177. PMID: 35949989; PMCID: PMC9358727.

Alergia na migdały jest powszechna i może objawiać się w dwóch różnych formach.

Pierwotna alergia na migdały została opisana jako związana z uczuleniem na leguminę migdałową Pru du 6. W regionach, w których występuje brzoza istnieje związek między pyłkowicą brzozy, który prawdopodobnie opiera się na krzyżowo reagującym homologu Bet v 1, oraz wciąż niezidentyfikowanym alergenem w migdałach. Celem publikacji było odkrycie i scharakteryzowanie homologa Bet v 1 w migdałach.

Ekspresja homologu Bet v 1 w migdałach została potwierdzona za pomocą spektrometrii mas. Rekombinowane białko zostało wyprodukowane w systemie ekspresji *Escherichia coli* BL21.

Alergen został scharakteryzowany za pomocą szeregu eksperymentów immunologicznych: ilościowej i inhibicyjnej IgE-ELISA, western blot i testu czynnościowym BAT, z wykorzystaniem surowicy pochodzącej od 17 pacjentów uczulonych na migdały.

Odkryty homolog Bet v 1 otrzymał oznaczenie od WHO/IUIS Allergen Nomenclature Committee Pru du 1.0101. Nowo zidentyfikowany alergen wiązał IgE od 82% pacjentów uczulonych na migdały. Bet v 1 był w stanie hamować wiązanie IgE do rPru du 1 w 100%, natomiast rPru du 1 hamował wiązanie IgE do rBet v 1 w 48%. Pru du 1.0101 miał zdolność aktywowania bazofili, chociaż do maksymalnej aktywacji wymagane były 100- do 1000-krotnie wyższe stężenia w porównaniu do rBet v 1.

Nasze badania dowodzą, że Pru du 1.0101 jest alergenem odpowiedzialnym za reakcje krzyżowe pomiędzy brzozą i migdałami. Wykorzystanie Pru du 6 i Pru du 1 w diagnostyce komponentowej może pomóc w różnicowaniu pomiędzy alergią pokarmową pierwotną, a reakcją krzyżową pomiędzy pyłkiem brzozy i alergią na migdały.

6.2.2 Wykaz i omówienie publikacji z zakresu roli bradykininy i jej receptorów w przebiegu CSU i HAE.

Obtulowicz A, **Dubiela P[#]**, Dyga W, Migacz-Gruszka K, Mikołajczyk T, Wojas-Pelc A, Obtulowicz K. The Role of Bradykinin Receptors in the Etiopathogenesis of Chronic Spontaneous Urticaria. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Oct 19;57(10):1133. doi: 10.3390/medicina57101133. PMID: 34684170; PMCID: PMC8539896.

Publikacje opisano w punkcie 5.2.1.

Dyga W, Obtulowicz A, Mikołajczyk T, Bogdali A, **Dubiela P*#**, Obtulowicz K. The Role of Bradykinin Receptors in Hereditary Angioedema Due to C1-Inhibitor Deficiency. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 7;23(18):10332. doi: 10.3390/ijms231810332. PMID: 36142237; PMCID: PMC9499460.

*współdzielony ostatni autor; #autor korespondencyjny

Publikacje opisano w punkcie 5.2.1.

6.2.3 Wykaz i omówienie publikacji z zakresu korelacji pomiędzy alfa-synukleiną oraz lyso-gb1, a typem wariantu u pacjentów z chorobą Gauchera.

Dubiela P*, Szymańska-Rożek P*, Eljaszewicz A, Lipiński P, Hasiński P, Giersz D, Walewska A, Tynecka M, Moniuszko M, Tylki-Szymańska A. Alpha-Synuclein mRNA Level Found Dependent on L444P Variant in Carriers and Gaucher Disease Patients on Enzyme Replacement Therapy. *Biomolecules.* 2023 Apr 3;13(4):644. doi: 10.3390/biom13040644. PMID: 37189391; PMCID: PMC10135719.

*współdzielony pierwszy autor;

Choroba Gauchera (GD) jest najczęstszą sfingolipidozą, powodowaną przez bialleliczne warianty patogenne w genie *GBA1* kodującym β -glukocerebrozydazę (GCase, E.C. 3.2.1.45). Choroba charakteryzuje się hepatosplenomegalią, nieprawidłowościami hematologicznymi i chorobą kości zarówno w nieneuronopatycznym typie 1 (GD1), jak i neuronopatycznym typie 3 (GD3). Co ciekawe, warianty patogenne w *GBA1* okazały się być jednym z najważniejszych czynników ryzyka rozwoju choroby Parkinsona (PD) u pacjentów z GD1. Przeprowadziliśmy kompleksowe badanie dotyczące dwóch najbardziej specyficznych biomarkerów:

glukozylofingozyny (Lyso-Gb1, dla GD) i α -synukleiny (dla PD). W badaniu wzięło udział 65 pacjentów z GD leczonych enzymatyczną terapią zastępczą (ERT, 47 pacjentów z GD1 i 18 pacjentów z GD3), 19 nosicieli wariantu patogennego *GBA1* (w tym 10 nosicieli L444P) oraz 16 zdrowych wolontariuszy. Lyso-Gb1 oceniano metodą suchej kropli krwi. Poziom α -synukleiny jako transkryptu mRNA zmierzono metodą PCR, a stężenie całkowite białka oraz

stężenie oligomeru metodą ELISA. Poziom mRNA α -synukleiny był znacząco podwyższony u pacjentów z GD3 i nosicieli wariantu L444P. Nie stwierdzono korelacji między poziomem mRNA α -synukleiny, a wiekiem u pacjentów z GD leczonych ERT. Dodatnia korelacja występowała jednak dla nosicieli wariantu L444P w zakresie testowanych zależności. Prawdopodobnie obecność wariantu L444P w genie *GBA1* może być wskazówką do poszukiwania dalszego związku metabolicznego między GD a zwiększonym prawdopodobieństwem PD.

6.2.4 Wykaz i omówienie publikacji dotyczącej nowego wariantu patologicznego u pacjenta cierpiącego na steroidooporny zespół nerczycowy.

Wasilewska A, Rybi-Szuminska A, **Dubiela P#**. Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome Caused by NUP93 Pathogenic Variants. *J Clin Med*. 2023 Sep 7;12(18):5810. doi: 10.3390/jcm12185810. PMID: 37762751; PMCID: PMC10532377.
#autor korespondencyjny

Chociaż steroidoterapia jest standardem leczenia zespołu nerczycowego, 15-20% pacjentów nie reaguje na nią. Znalezienie podłoża genetycznego jest możliwe w >10% przypadków steroidoopornego zespołu nerczycowego (SRNS). Warianty w genach kodujących białka kompleksu porów jądrowych są niedawno odkrytą przyczyną pediatrycznej manifestacji SRNS. Ostatnie badania sugerują, że warianty *NUP93* są istotną przyczyną SRNS u dzieci. W publikacji zaprezentowano przypadek SRNS u 12-letniego chłopca z dwoma wykrytymi wariantami *NUP93*, jednej zdefiniowanej jako patogenna i drugiej opisanej jako prawdopodobnie patogenna. Pacjent został przyjęty na oddział nefrologii dziecięcej UMB z powodu białkomoczu i hipoalbuminemii z długą historią leczenia steroidami i niesteroidowymi lekami immunosupresyjnymi. Przeprowadzono test genetyczny ukierunkowany na 50 klinicznie istotnych genów dla zespołu nerczycowego. Jedyńm genem, w którym stwierdzono mutacje, odpowiednio c.2326C>T i c.1162C>T, był *NUP93*. Warianty w *NUP93* są rzadko identyfikowane jako przyczyny SRNS. Wyniki badania genetycznego mają ogromne znaczenie dla ustalenia standardu opieki nad pacjentami z SRNS. Przedstawione dane sugerują kliniczne znaczenie wariantu c.1162C>T.

6.2.5 Szczegółowy wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt 4).

okres przed uzyskaniem stopnia doktora – publikacje nie były wymienione w pkt 4

1. Autorzy: Sabine Pfeifer, Merima Bublin, Paweł Dubiela, Karin Hummel, Judith Wortmann, Gerhard Hofer, Walter Keller, Christian Radauer, Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Cor a 14, the allergenic 2S albumin from hazelnut, is highly thermostable and resistant to gastrointestinal digestion

Czasopismo: Molecular Nutrition & Food Research

Szczegóły: Volume 59, Issue 10 October 2015, Pages 2077-2086

ISSN: 1613-4125

eISSN: 1613-4133

Impact Factor: 4.551

Punktacja MNiSW: 45.000*

DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500071>

2. Autorzy: Lesa R. Offermann, Merima Bublin, Makenzie L. Perdue, Sabine Pfeifer, Paweł Dubiela, Tomasz Borowski, Maksymilian Chruszcz, and Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Structural and Functional Characterization of the Hazelnut Allergen Cor a 8.

Czasopismo: Journal of Agricultural and Food Chemistry

Szczegóły: 2015, 63, 41, 9150–9158

ISSN: 0021-8561

eISSN: 1520-5118

Impact Factor: 2.857

Punktacja MNiSW: 40.000*

DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03534>

3. Autorzy: Paweł Dubiela, Roberta Aina, Dominika Polak, Sabine Geiselhart, Piotr Humeniuk, Barbara Bohle, Stefano Alessandri, Rebecca Del Conte, Francesca Cantini, Tomasz Borowski, Merima Bublin, Karin Hoffmann-Sommergruber,

Tytuł oryginału: Enhanced Pru p 3 IgE-binding activity by selective free fatty acid-interaction

Czasopismo: Journal of Allergy and Clinical Immunology

Uwagi: Letter to the Editor

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Szczegóły: Volume 140, Issue 6, P1728-1731.E10, DECEMBER 01, 2017

ISSN: 0091-6749

eISSN: 1097-6825

Impact Factor: 13.258

Punktacja MNiSW: 200.000

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.06.016>

4. Autorzy: Piotr Humeniuk, Paweł Dubiela, Karin Hoffmann-Sommergruber,

Tytuł oryginalny: Dendritic Cells and Their Role in Allergy: Uptake, Proteolytic Processing and Presentation of Allergens

Czasopismo: International Journal of Molecular Sciences

Szczegóły: 2017, 18(7), 1491

ISSN: 1661-6596

eISSN: 1422-0067

Impact Factor: 3.687

Punktacja MNiSW: 30.000*

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18071491>

5. Autorzy: Sabine Geiselhart, Christoph Nagl, Paweł Dubiela, Anne Pedersen, Merima Bublin, Christian Radauer, Carsten Bindslev-Jensen, Karin Hoffmann-Sommergruber, Charlotte Mortz,

Tytuł oryginalny: Concomitant sensitization to legumin, Fag e 2 and Fag e 5 predicts buckwheat allergy

Czasopismo: Clinical and Experimental Allergy

Szczegóły: Volume 48, Issue 2, Feb 2018, Pages I, 99-225

ISSN: 0954-7894

eISSN: 1365-2222

Impact Factor: 4.741

Punktacja MNiSW: 40.000*

DOI: <https://doi.org/10.1111/cea.13068>

okres pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego

1. Autorzy: Paweł Dubiela, Stefan Kabasser, Nicolas Smargiasso, Sabine Geiselhart, Merima Bublin, Christine Hafner, Gabriel Mazzucchelli, Karin Hoffmann-Sommergruber

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Tytuł oryginału: Jug r 6 is the allergenic vicilin present in walnut responsible for IgE cross-reactivities to other tree nuts and seeds.

Czasopismo: Scientific Reports

Szczegóły: 2018; Vol 8, Issue 1, 11366

ISSN: 2045-2322

Impact Factor: 4.011

Punktacja MNiSW: 40.000*

DOI: 10.1038/s41598-018-29656-4

2. publikacja nie wymieniona w pkt 4.

Autorzy: Roberta Aina, Paweł Dubiela, Sabine Geiselhart, Merima Bublin, Maurizio Bruschi, Christian Radauer, Christoph Nagl, Piotr Humeniuk, Riccardo Asero, Charlotte Gotthard Mortz, Christine Hafner, Karin Hoffmann-Sommergruber, Tomasz Borowski

Tytuł oryginału: Distinct Lipid Transfer Proteins display different IgE-binding activities that are affected by fatty acid binding

Czasopismo: Allergy

Szczegóły: Volume 74, Issue 4, April 2019, Pages 827-831

Uwagi: Letter to the Editor

ISSN: 0105-4538

eISSN: 1398-9995

Impact Factor: 8.706

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1111/all.13682>

3. Autorzy: Paweł Dubiela, Rebecca Del Conte, Francesca Cantini, Tomasz Borowski, Roberta Aina, Christian Radauer, Merima Bublin, Karin Hoffmann-Sommergruber, Stefano Alessandri

Tytuł oryginału: Impact of lipid binding on the tertiary structure and allergenic potential of Jug r 3, the non-specific lipid transfer protein from walnut.

Czasopismo: Scientific Reports

Szczegóły: 9, 2007 (2019)

Uwagi: These authors have contributed equally to this work: Paweł Dubiela, Rebecca Del Conte, and Francesca Cantini,

ISSN: 2045-2322

Impact Factor: 3.998

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38563-1>

4. Autorzy: Paweł Dubiela, Sabine Dölle-Bierke, Stefanie Aurich, Margitta Worm, Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Component-resolved diagnosis in adult patients with food-dependent anaphylaxis.

Czasopismo: World Allergy Organization Journal

Szczegóły: VOLUME 14, ISSUE 3, 100530, MARCH 01, 2021

Uwagi: Brief communication. These authors have contributed equally to this work: Paweł Dubiela, Sabine Dölle-Bierke

ISSN: 1939-4551

Impact Factor: 5.516

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100530>

5. publikacja nie wymieniona w pkt 4

Autorzy: Aleksander Obtulowicz, Paweł Dubiela, Wojciech Dyga, Kamila Migacz-Gruszka, Tomasz Mikołajczyk, Anna Wojaś-Pelc, Krystyna Obtulowicz

Tytuł oryginału: The Role of Bradykinin Receptors in the Etiopathogenesis of Chronic Spontaneous Urticaria

Czasopismo: Medicina

Szczegóły: 2021, 57(10), 1133

Uwagi: Corresponding author

ISSN: 0076-6046

Impact Factor: 2.948

Punktacja MNiSW: 20.000

DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina57101133>

6. publikacja nie wymieniona w pkt 4

Autorzy: Stefan Kabasser, Nadja Crvenjak, Stefanie Schmalz, Tanja Kalic, Christine Hafner, Paweł Dubiela, Aleksandra Kucharczyk, Stanisława Bazan-Socha, Mateusz Łukaszyk, Heimo Breiteneder, Christian Radauer, Merima Bublin

Tytuł oryginału: Pru du 1, the Bet v 1-homologue from almond, is a major allergen in patients with birch pollen associated almond allergy

Czasopismo: Clinical and Translational Allergy

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Szczegóły: Volume 12, Issue 8, August 2022, e12177

ISSN: 2045-7022

Impact Factor: 5.657

Punktacja MNiSW: 100.000

DOI: <https://doi.org/10.1002/clt2.12177>

7. publikacja nie wymieniona w pkt 4

Autorzy: Wojciech Dyga, Aleksander Obtulowicz, Tomasz Mikołajczyk, Anna Bogdali, Paweł Dubiela, Krystyna Obtulowicz

Tytuł oryginału: The Role of Bradykinin Receptors in Hereditary Angioedema Due to C1-Inhibitor Deficiency

Czasopismo: International Journal of Molecular Sciences

Szczegóły: 2022, 23(18), 10332;

Uwagi: Autor korespondencyjny oraz współdzielony ostatni autor.

ISSN: 1661-6596

eISSN: 1422-0067

Impact Factor: 6.208

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms231810332>

8. Autorzy: Paweł Dubiela, Piotr Humeniuk, MerimaBublin, Carine Metz-Favre, Sébastien Viel, Françoise Bienvenu, Christine Hafner, Gabrielle Pauli, Karin Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Two patients with allergy to celery — Possible role of carbohydrate determinants and difference between seeds and tuber allergenicity

Czasopismo: World Allergy Organization Journal

Szczegóły: Volume 15, Issue 11, November 2022, 100708

Uwagi: Brief communication. These authors have contributed equally to this work: Paweł Dubiela, Piotr Humeniuk

ISSN: 1939-4551

Impact Factor: 5.1

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.waojou.2022.100708>

9. Autorzy: Szymon Drygala, Elżbieta Rdzanek, Grzegorz Porebski, Paweł Dubiela

Tytuł oryginału: In Vitro Assays for Diagnosis of Drug-Induced Nonsevere Exanthemas: A Systematic Review and Meta-Analysis

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Czasopismo: Journal of Immunology Research

Szczegóły: Volume 2022, Article ID 2386654

e-ISSN: 2314-7156

Impact Factor: 4.1

Punktacja MNiSW: 100.000

DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/2386654>

10. publikacja nie wymieniona w pkt 4.

Autorzy: Paweł Dubiela, Paulina Szymańska-Rożek, Andrzej Eljaszewicz, Patryk Lipiński, Piotr Hasiński, Dorota Giersz, Alicja Walewska, Marlena Tynecka, Marcin Moniuszko, Anna Tylki-Szymańska

Tytuł oryginału: Alpha-Synuclein mRNA Level Found Dependent on L444P Variant in Carriers and Gaucher Disease Patients on Enzyme Replacement Therapy

Czasopismo: Biomolecules

Szczegóły: 2023 Apr 3;13(4):644

e-ISSN: 2314-7156

Impact Factor: 5.500

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://10.3390/biom13040644>

11. publikacja nie wymieniona w pkt 4.

Autorzy: Anna Wasilewska, Agnieszka Rybi-Szuminska, Paweł Dubiela

Tytuł oryginału: Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome Caused by NUP93 Pathogenic Variants

Czasopismo: Journal of Clinical Medicine

Szczegóły: 2023, vol: 12, no. 18: article ID: 5810

e-ISSN: 2077-0383

Impact Factor: 3.900

Punktacja MNiSW: 140.000

DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm12185810>

6.3 Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Wystąpienia na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych – okres przed uzyskaniem stopnia doktora

1. Autorzy: Paweł Dubiela, S. Pfeifer, M. Bublin, C. Hafner, and K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: The non-specific lipid transfer protein from hazelnut, Cor a 8, a relevant food allergen

Czasopismo: Clinical and Translational Allergy

Szczegóły: Volume 5 Supplement 3

Konferencja/zjazd - tytuł: Food Allergy and Anaphylaxis Meeting (FAAM) Oct 9-11, 2014, Dublin, Ireland

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 9-11.10.2014, Dublin, Ireland

ISSN: 2045-7022

2. Autorzy: Dubiela P, S. Pfeifer, M. Bublin, C. Hafner, and K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: Cor a 8 displays reduced stability upon heat and digestion treatment.

Czasopismo: abstract book

Konferencja/zjazd - tytuł: Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) Meeting

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 6–8.11.2014, Salzburg, Austria

3. Autorzy: Dubiela P, S. Pfeifer, M. Bublin, C. Hafner, and K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: Hazelnut food allergens, Cor a 8 and Cor a 14: Their immunological and physicochemical characterization.

Czasopismo: abstract book

Konferencja/zjazd - tytuł: Joint PhD Symposium MCCA-ICA,

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 16-18.02.2015, Salzburg, Austria

4. Autorzy: Dubiela P, P. Humeniuk, S. Pfeifer, M. Bublin, and K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: Non specific lipid transfer proteins - are they really unspecific?

Czasopismo: European Journal of Immunology

Szczegóły: Volume 45, Issue 7, July 2015, Pages 1888-1891

Konferencja/zjazd - tytuł: 4th European Congress of Immunology – ECI 2015

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 6–9.09.2015, Wiedeń, Austria

ISSN: 0014-2980

e-ISSN: 1521-4141

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

5. Autorzy: Dubiela P, P. Humeniuk, S. Pfeifer, M. Bublin, T. Borowski, and K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Specificity of non-specific lipid transfer proteins and influence of the ligands on their three-dimensional structure.

Czasopismo: Clinical and translational allergy

Szczegóły: Volume 6, Issue S2, 2016

Konferencja/zjazd - tytuł: 6th International Symposium on Molecular Allergology (ISMA),

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 19-21.11.2015, Lizbona, Portugalia

e-ISSN: 2045-7022

6. Autorzy: Dubiela, P., P. Humeniuk, S. Pfeifer, M. Bublin, F. Cantini, T. Borowski, S. Alessandri, K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Specificity of non-specific lipid transfer proteins and influence of the ligands on their three-dimensional structure.

Czasopismo: Allergy

Szczegóły: 2016 Aug;71 Suppl 102:3-633

Konferencja/zjazd - tytuł: European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Meeting,

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 11-15.06.2016, Wiedeń, Austria.

ISSN: 0105-4538

e-ISSN: 1398-9995

7. Autorzy: Dubiela P, L. R. Offermann, M. Bublin, M. L. Perdue, S. Pfeifer, T. Borowski, M. Chruszcz, and K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: Structural and functional characterization of the hazelnut allergen Cor a 8

Czasopismo: abstract book

Konferencja/zjazd - tytuł: Federation of American Societies For Experimental Biology (FASEB) Meeting: IgE and Allergy, 50 Years & Onward

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 24-29.07.2016, West Palm Beach,

USA

8. Autorzy: Dubiela P, P. Humeniuk, S. Pfeifer, M. Bublin, F. Cantini, T. Borowski, S. Alessandri, K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: Influence of binding the free fatty acids to nsLTP on their tertiary structure and allergenic activity

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

Czasopismo: Clinical and translational Allergy

Szczegóły: Volume 7 Supplement 1, 2017

Konferencja/zjazd - tytuł: Food Allergy and Anaphylaxis Meeting (FAAM),

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 13-15.10.2016, Rzym, Włochy

e-ISSN: 2045-7022

9. Autorzy: Dubiela P, P. Humeniuk, S. Pfeifer, M. Bublin, F. Cantini, T. Borowski, S. Alessandri, K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginalny: Influence of binding the free fatty acids to nsLTP on their tertiary structure and allergenic activity

Czasopismo: abstract book

Konferencja/zjazd - tytuł: Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) Meeting

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 16–19.11.2016, Innsbruck, Austria

10. Autorzy: Dubiela P, R. Aina, P. Humeniuk, S. Geiselhart, M. Bublin, D. Polak, F. Cantini, T. Borowski, B. Bohle, S. Alessandri, K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginalny: Impact of free fatty acids binding on the tertiary structure and allergenic activity of the major peach allergen Pru p 3.

Czasopismo: abstract book

Konferencja/zjazd - tytuł: European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Winter School

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 26-29.01.2017, Sierra Nevada, Spain

11. Autorzy: Dubiela P, S. Kabasser, S. Geiselhart, M. Bublin, G. Mazzucchelli, and K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginalny: Purification and characterization of a novel allergenic walnut vicilin-like protein.

Czasopismo: Allergy

Szczegóły: Volume 72, Issue S103

Konferencja/zjazd - tytuł: European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Meeting,

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 17-21.06.2017, Helsinki, Finlandia

ISSN: 0105-4538

e-ISSN: 1398-9995

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

12. Autorzy: Dubiela P, S. Kabasser, S. Geiselhart, M. Bublin, C. Hafner, G. Mazzucchelli, K. Hoffmann-Sommergruber.

Tytuł oryginału: Jug r 6 is the walnut allergenic vicilin responsible for IgE cross-reactivities to other tree nuts

Czasopismo: abstract book

Konferencja/zjazd - tytuł: Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) Meeting

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 23–25.11.2017, Wiedeń, Austria

Wystąpienia na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych – okres pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego

1. Autorzy: P. Dubiela, S. Kabasser, N. Smargiasso, M. Bublin, Ch. Hafner, G. Mazzucchelli, K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Jug r 6 but not Jug r 2 is the allergenic vicilin present in walnut kernels responsible for IgE cross-reactivities to other tree nuts and seeds

Czasopismo: Polish Journal of Allergology

Szczegóły: Special Issues. 2018.

Konferencja/zjazd - tytuł: XIII Międzynarodowy Kongres Polskiego Towarzystwa Alergologicznego

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 26–29.10.2018, Mikołajki

eISSN: 2391-6052

ISSN: 2353-3854

2. Autorzy: P. Dubiela, S. Kabasser, N. Smargiasso, M. Bublin, Ch. Hafner, G. Mazzucchelli, K. Hoffmann-Sommergruber

Tytuł oryginału: Jug R 6 Is The Allergenic Vicilin Present In Walnut Kernels Responsible For IgE Cross-Reactivities To Other Tree Nuts And Seeds

Czasopismo: abstract book

Szczegóły: Special Issues. 2018.

Konferencja/zjazd - tytuł: 17th EAACI Immunology Winter School “Basic Immunology Research in Allergy and Clinical Immunology”

Konferencja/zjazd - miejsce i data: 24-27.01.2019, Trysil, Norway

Streszczenia opublikowane jako współautor – okres przed uzyskaniem stopnia doktora

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

brak

Streszczenia opublikowane jako współautor – okres pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego

brak

Wykłady na zaproszenie – okres przed uzyskaniem stopnia doktora

Brak

Wykłady na zaproszenie – okres pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego

1. II konferencja Immunology4You – Warszawa 14.01.2023

Rola bradykininy i jej receptorów w Covid 19 i u chorych z HAE.

2. III konferencja Sekcji Wrodzonego Obrzęku Naczynioruchowego – Łódź 28.10.2022

Rola bradykininy i jej receptorów w Covid 19 i u chorych z HAE.

3. I konferencja Immunology4You – Warszawa 15.01.2022

Z alergią dookoła świata – od koncepcji do realizacji

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

1. A feasibility open-labeled clinical trial using a second-generation artificial intelligence-based therapeutic regimen in patients with Gaucher disease treated with enzyme replacement therapy

Czasopismo: Journal of Clinical Medicine

2. A retrospective and prospective observational study of MRI changes in bone in patients with type 1 Gaucher disease treated with velaglucerase alfa: the EIROS study

Czasopismo: Journal of Clinical Medicine

3. Why a complete response is the treatment aim in chronic spontaneous urticaria

Czasopismo: Journal of Clinical Medicine

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

6.5 Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).

6.6 Informacja o działalności popularyzującej naukę.

Twórca strony internetowej oraz portalu na facebook: swiatalergii.pl. Przedsięwzięcie realizowane w latach 2017-2020
Publikacja artykułów w czasopismach: Klinika pediatryczna
Wykłady popularyzujące naukę na „Akademii Talentów” w roku 2021 dla Stowarzyszenia: Związek Dużych Rodzin Trzy Plus.

7. Inne

7.1 Granty badawcze

Grant przyznany przez	tytuł	kwota
COST Action: FA1402 (Imparas)	Mass spec analysis of two major walnut allergens - Jug r 2 and Jug r 4.	10 000 euro
iNEXT NMR HEDC Visit VID: 1639	NMR study of selected allergens (nsLTPs: Jug r 3, Pru p 3). 3D structure and protein - ligand interaction.	10 000 euro
Austrian Science Fund (FWF): DK W 1248-B13	Refined analytical methods for improved component resolved diagnosis in food allergy	60 000 euro

7.2 Odbyte kursy zagraniczne

16.10-18.10.2017	European Advanced Course in Basic and Clinical Immunology, Praga, Czechy.
26.01-29.01.2017	15 th EAACI Immunology Winter School Sierra Nevada, Hiszpania

25.01-28.01.2018	16 th EAACI Immunology Winter School, Saas-Fee, Szwajcaria
24.01-27.01.2019	17 th EAACI Immunology Winter School, Trysil, Norwegia

7.2 Nagrody

2014	Travel grant w ramach wyboru najlepszych zgłoszonych abstraktów przyznany przez Komisję Naukową Food Allergy and Anaphylaxis Meeting (FAAM), Oct 9-11, Dublin, Ireland. Tytuł abstraktu: The non-specific lipid transfer protein from hazelnut, Cor a 8, a relevant food allergen
2014	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie konferencji Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) Meeting, 2014 Nov. 6–8, Salzburg, Austria. Tytuł prezentacji: Cor a 8 displays reduced stability upon heat and digestion treatment.
2015	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie konferencji 6th International Symposium on Molecular Allergology (ISMA), Nov 19-21 Lisbon, Portugal. Tytuł prezentacji: Specificity of non-specific lipid transfer proteins and influence of the ligands on their three-dimensional structure
2016	Travel grant otrzymany od Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) jako wsparcie udzielone aby reprezentować Towarzystwo Naukowe na konferencji: Federation of American Societies For Experimental Biology (FASEB) Meeting: IgE and Allergy, 50 Years & Onward, 2016 Jul 24-29, 2016, West Palm Beach, USA. Tytuł abstraktu: Structural and functional characterization of the hazelnut allergen Cor a 8.
2016	Travel grant otrzymany od ÖH Med Wien Postgrad jako wsparcie udzielone aby reprezentować Uczelnie (Medical University of Vienna) na konferencji: Federation of American Societies For Experimental Biology (FASEB) Meeting: IgE and Allergy, 50 Years & Onward, 2016 Jul 24-29, 2016, West Palm Beach, USA. Tytuł abstraktu: Structural and functional characterization of the hazelnut allergen Cor a 8.
2016	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie The European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Meeting, 2016 Jun 11-15 Vienna, Austria. Tytuł prezentacji: Specificity of non-specific lipid transfer proteins and influence of the ligands on their three-dimensional structure.

2016	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie Food Allergy and Anaphylaxis Meeting (FAAM), October 13-15, 2016, Rome, Italy. Tytuł prezentacji: Influence of binding the free fatty acids to nsLTP on their tertiary structure and allergenic activity.
2016	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie konferencji: SFB/MCCA Retreat, Ottenstein, Austria October 15 – 17, 2016. Tytuł prezentacji: Influence of binding the free fatty acids to nsLTP on their tertiary structure and allergenic activity.
2017	Travel grant przyznany przez Österreichische Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) aby reprezentować Stowarzyszenie Naukowe na The Annual European Academy of Allergy and Immunology (EAACI) Meeting: 2017 June 17-21, 2017, Helsinki, Finland. Tytuł abstraktu: Purification and characterization of a novel allergenic walnut vicilin-like protein
2017	Travel grant przyznany przez ÖH Med Wien Postgrad aby reprezentować uczelnie (Medical University of Vienna) na The Annual European Academy of Allergy and Immunology (EAACI) Meeting: 2017 June 17-21, 2017, Helsinki, Finland. Tytuł abstraktu: Purification and characterization of a novel allergenic walnut vicilin-like protein
2017	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie 3 rd Annual Young Scientist Association Meeting in Vienna, 8 th - 9 th June 2017. Tytuł prezentacji: Enhanced Purification and characterization of a novel allergenic walnut vicilin-like protein
2017	Travel grant przyznany przez The Federation of Clinical Immunology Societies (FOCIS) celem uczestnictwa w kursie prowadzonym przez Profesora Abbasa: European Advanced Course in Basic and Clinical Immunology, Oct 16-18, 2017, Prague, Czech Republic.
2018	Nagroda za najlepszą prezentację w trakcie: 16th EAACI Immunology Winter School, 25 - 28 January 2018, Saas-Fee, Switzerland. Tytuł prezentacji: Jug R 6 But Not Jug R 2 Is The Allergenic Vicilin Present In Walnut Kernels Responsible For IgE Cross-Reactivities To Other Tree Nuts And Seeds.
2018	Najważniejsza publikacja w dziedzinie alergologii w Polsce wydana w 2017 roku. Nagroda im. Prof. B. Romańskiego przyznana przez Polskie Towarzystwo Alergologiczne. Nagrodzona publikacja:

dr n. med. Paweł Dubiela

Załącznik nr 3 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne

	Enhanced Pru p 3 IgE-binding activity by selective free fatty acid-interaction
2019	Najlepszy doktorat w dziedzinie alergologii obroniony w 2018 roku. Nagroda im. Prof. M. Obtulowicza przyznana przez Polskie Towarzystwo Alergologiczne.
2020	Najważniejsza publikacja w dziedzinie alergologii w Polsce wydana w 2019 roku. Nagroda im. Prof. B. Romańskiego przyznana przez Polskie Towarzystwo Alergologiczne. Nagrodzona publikacja: Impact of lipid binding on the tertiary structure and allergenic potential of Jug r 3, the non-specific lipid transfer protein from walnut.

7.4 Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych.

Członek (od 2013 roku) European Academy of Allergy and Clinical Immunology Członek (w latach 2013-2021) Austrian Society for Allergology and Immunology Członek (od 2018 roku) Polskiego Towarzystwa Alergologicznego

.....
(podpis wnioskodawcy)