

Autoreferat

Postępowanie habilitacyjne

Dr n. med. Kinga Lis

Katedra Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych

Wydział Lekarski

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Bydgoszcz 2023

Spis treści

1. Dane osobowe	4
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe	5
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu	6
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).	7
4.1. Główne osiągnięcie naukowe.....	7
4.2. Indywidualny wkład w powstanie publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.	8
4.3. Omówienie cyklu publikacji głównego osiągnięcia naukowego	10
4.3.1. Wstęp	10
4.3.2. Cel badawczy	12
4.3.3. Omówienie zaprojektowanych metod eksperymentalnych (testy hamowania), będących podstawą cyklu publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.....	12
4.3.4. Omówienie poszczególnych publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.	26
4.3.5. Podsumowanie i wnioski.....	35
4.4. Omówienie innych kierunków badawczych	37
4.4.1. Cykl publikacji naukowych pt. Markery degradacji chrząstki stawowej w chorobie zwyrodnieniowej stawów	37
4.4.2. Cykl publikacji naukowych pt. Wpływ fazy przedanalizycznej na wyniki badań laboratoryjnych	39
4.4.3. Cykl publikacji naukowych pt. Potencjał alergenowy substancji dodatkowych dodawanych do żywności – ukryte alergeny	40
4.4.4. Cykl publikacji naukowych pt. techniki analityczne i immunochemiczne wczoraj i dziś	42
4.4.5. Cykl publikacji naukowych pt. Równowaga cytokinowa w płynie pęcherzykowym a zaburzenia płodności. Cykl we współpracy z Katedrą Ginekologii i Położnictwa (Wydział Lekarski) Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu	43
4.4.6. Cykl publikacji naukowych pt. Analiza molekularnego/komponentowego profilu uczulenia na alergeny krewetek i owoców morza w powiązaniu z uczuleniem na alergeny roztoczy kurzu domowego	44
4.4.7. Cykl publikacji naukowych pt. Analiza molekularnego/komponentowego profilu uczulenia na alergeny zwierząt futerkowych	46
4.4.8. Cykl publikacji naukowych pt. Adiocytokiny w chorobach naczyń. Cykl we współpracy z Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych (Wydział Nauk o Zdrowiu) Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu	47

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.	48
5.1. Nagrody za działalność naukową	48
5.2. Staże w innych jednostkach naukowo-badawczych oraz innych laboratoriach	49
5.3. Współpraca z międzynarodowymi instytucjami naukowymi	51
5.4. Współpraca z krajowymi instytucjami naukowymi	51
5.5. Współpraca naukowa z innymi jednostkami	54
5.6. Współpraca redakcyjna w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o międzynarodowym zasięgu	62
5.7. Współpraca w Redakcji innych czasopism naukowych	63
5.8. Członkostwo w Towarzystwach Naukowych.	63
6. Informacje o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	63
6.1. Granty edukacyjne	63
6.2. Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne.	64
6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę.	65
6.4. Osiągnięcia związane z działalnością organizacyjną w zakresie konferencji, zjazdów i sympozjów naukowych.	67
7. Inne informacje i osiągnięcia dotyczące kariery zawodowej	68
8. Podsumowanie danych naukometrycznych	69

1. Dane osobowe

- **Imię i Nazwisko: Kinga Katarzyna Lis**
- **Miejsce pracy: Katedra Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu**

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- 01.06.2000:** Ukończenie studiów magisterskich na kierunku analityka medyczna z wynikiem bardzo dobrym; Akademia Medyczna im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Wydział Farmaceutyczny, egzamin magisterski, tytuł magister analityki medycznej,
- Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego (PWZDL) nr 791
- 15.12.2004:** Przyznanie przez Radę Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu tytułu doktora nauk medycznych w dziedzinie biologii medycznej
- Tytuł rozprawy na stopień doktora:
Ocena stężenia cytokin oraz markerów obrotu kostnego i uszkodzenia chrząstki stawowej w płynie stawowym i surowicy osób ze zmianami zwyrodnieniowymi stawów
- Obrona w dniu: 24.11.2004
 - Promotor rozprawy: prof. dr hab. Grażyna Odrowąż-Sypniewska
 - Recenzent 1: prof. dr hab. Stanisław Moskalewski (Warszawski Uniwersytet Medyczny)
 - Recenzent 2: prof. dr hab. Marek Synder (Uniwersytet medyczny w Łodzi)
- 06.04.2009:** Uzyskanie tytułu analityk kliniczny (specjalista I stopnia w dziedzinie analityki klinicznej); egzamin zdany z wyróżnieniem
- 05.12.2022:** Uzyskanie tytułu Specjalista w dziedzinie Laboratoryjna Immunologia Medyczna; egzamin zdany na ocenę bardzo dobrą (w związku z bardzo dobrze zdanym Państwowym Egzaminem Specjalizacyjnym otrzymałam **List Gratulacyjny Ministra Zdrowia w edycji Specjalista 2022**)

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

Jednostki naukowo-badawcze:

- 01.09.2000 – 30.09.2014:** Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, **Wydział Farmaceutyczny**, Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu (do listopada 2004 Akademia Medyczna w Bydgoszczy);
stanowisko: asystent
- 01.02.2016 (do aktualnie):** Katedra Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych, **Wydział Lekarski**, Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
stanowisko: adiunkt

Jednostki Służby Zdrowia:

- 01.07.2014 (do aktualnie):** Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych - Pracownia Immunologiczno-Alergologiczna, Szpital Uniwersytecki nr 2 im. Dr Jana Bizuela w Bydgoszczy
stanowisko: Koordynator do spraw Pracowni Immunologiczno-Alergologicznej (równoważny funkcji Kierownika Pracowni)

4. Omówienie osiągnięć o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

4.1. Główne osiągnięcie naukowe.

Tytuł głównego osiągnięcia naukowego: „**Przydatność testów hamowania (IT) do badania reaktywności krzyżowej alergenów i diagnostyki uczuleń na alergeny reagujące krzyżowo – z wykorzystaniem własnych modeli eksperymentalnych**”.

Sposób udokumentowania głównego osiągnięcia naukowego: Na główne osiągnięcie naukowe składa się cykl czterech publikacji oryginalnych opublikowanych w czasopiśmie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o międzynarodowym zasięgu.

Lista publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe:

1. Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Analysis of allergen profile in patients sensitized to canine allergen and potential Can f 5 cross-reactivity with human PSA. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2021: Vol. 35, s. 1-10. **(IF: 3.298; MNiSW: 70.000)**
2. **Lis Kinga**, Ukleja-Sokołowska Natalia, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Experimental research models to assess the cross-reactivity between Can f 5 and human PSA: two different perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 2022 : Vol. 23, nr 19, s. 1-17, 11223. **(IF: 5.600; MNiSW: 140.000)**
3. **Lis Kinga**, Ukleja-Sokołowska Natalia, Karwowska Kornelia, Wernik Joanna, Pawłowska Małgorzata, Bartuzi Zbigniew. The two-sided experimental model of ImmunoCAP inhibition test as a useful tool for the examination of allergens cross-reactivity on the example of α -Gal and mammalian meat sensitization : a preliminary study. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023 : Vol. 45, nr 2, s. 1168-1182. **(IF: 3.100; MNiSW: 70.000)**
4. **Lis Kinga**, Ukleja-Sokołowska Natalia, Karwowska Kornelia, Wernik Joanna, Pawłowska Małgorzata, Bartuzi Zbigniew. Clinical use of the ImmunoCAP inhibition test in the diagnosis of meat allergy caused by a tick bite in an adult male with no previous atopic history. *Life-Basel* 2023 : Vol. 13, nr 3, s. 1-12, 699. **(IF: 3.200; MNiSW: 70.000)**

Łączna wartość biblio metryczna publikacji wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego wynosi:

- **IF: 15.198** (3.298+5.600+3.100+3.200)
- **MNiSW: 350** (140 +70+70+70)

4.2. Indywidualny wkład w powstanie publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.

Publikacja nr 1:

Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Analysis of allergen profile in patients sensitized to canine allergen and potential Can f 5 cross-reactivity with human PSA. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2021 : Vol. 35, s. 1-10. *(IF: 3.298; MNiSW: 70.000)*

Typ publikacji: praca oryginalna

Mój indywidualny wkład w powstanie publikacji:

- Zaprojektowanie modelu doświadczenia (eksperymentu).
- Dobór elementów składowych (materiały, odczynniki, metody, materiał biologiczny) potrzebnych do przeprowadzenia eksperymentu.
- Wykonanie całości pracy laboratoryjnej (przeprowadzenie eksperymentu).
- Opis metodyki przeprowadzonego eksperymentu oraz innych metod badawczych zastosowanych w badaniach laboratoryjnych wykonanych w ramach doświadczenia.
- Przygotowanie odpowiedzi na pytania Recenzentów dotyczące bezpośrednio metodyki doświadczenia oraz wynikających z nich korekt tej części manuskryptu.

Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Collegium Medicum w Bydgoszczy KB134/2017

Publikacja nr 2:

Lis Kinga, Ukleja-Sokołowska Natalia, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Experimental research models to assess the cross-reactivity between Can f 5 and human PSA: two different perspectives. Int. J. Mol. Sci. 2022 : Vol. 23, nr 19, s. 1-17, 11223. *(IF: 5.600; MNiSW: 140.000)*

Typ publikacji: praca oryginalna

Mój wkład w powstanie publikacji:

- Zaprojektowanie wszystkich eksperymentalnych modeli testów inhibicji.

- Dobór elementów składowych (materiały, odczynniki, metody, materiał biologiczny) potrzebnych do przeprowadzenia eksperymentów.
- Wykonanie całości pracy laboratoryjnej (przeprowadzenie eksperymentów).
- Analiza statystyczna uzyskanych wyników doświadczenia.
- Przygotowanie całości manuskryptu, w tym opis metodyki przeprowadzonych eksperymentów oraz innych metod badawczych zastosowanych w badaniach laboratoryjnych wykonanych w ramach doświadczenia.
- Przygotowanie odpowiedzi na pytania Recenzentów oraz wynikających z nich korekt manuskryptu.

Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Collegium Medicum w Bydgoszczy KB134/2017

Publikacja nr 3:

Lis Kinga, Ukleja-Sokołowska Natalia, Karwowska Kornelia, Wernik Joanna, Pawłowska Małgorzata, Bartuzi Zbigniew. The two-sided experimental model of ImmunoCAP inhibition test as a useful tool for the examination of allergens cross-reactivity on the example of α -Gal and mammalian meat sensitization: a preliminary study. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023 : Vol. 45, nr 2, s. 1168-1182. (*IF: 3.100; MNiSW: 70.000*)

Typ publikacji: praca oryginalna

Mój wkład w powstanie publikacji:

- Zaprojektowanie wszystkich eksperymentalnych modeli testów inhibicji.
- Dobór elementów składowych (materiały, odczynniki, metody, materiał biologiczny) potrzebnych do przeprowadzenia eksperymentów.
- Wykonanie całości pracy laboratoryjnej (przeprowadzenie eksperymentów).
- Analiza statystyczna uzyskanych wyników doświadczenia.
- Przygotowanie całości manuskryptu, w tym opis metodyki przeprowadzonych eksperymentów oraz innych metod badawczych zastosowanych w badaniach laboratoryjnych wykonanych w ramach doświadczenia.
- Przygotowanie odpowiedzi na pytania Recenzentów oraz wynikających z nich korekt manuskryptu.

Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Collegium Medicum w Bydgoszczy KB714/2019.

Publikacja nr 4:

Lis Kinga, Ukleja-Sokołowska Natalia, Karwowska Kornelia, Wernik Joanna, Pawłowska Małgorzata, Bartuzi Zbigniew. Clinical use of the ImmunoCAP inhibition test in the diagnosis of meat allergy caused by a tick bite in an adult male with no previous atopic history. Life-Basel 2023: Vol. 13, nr 3, s. 1-12, 699. (*IF: 3.200; MNiSW: 70.000*)

Typ publikacji: praca oryginalna

Mój wkład w powstanie publikacji:

- Zaprojektowanie wszystkich eksperymentalnych modeli testów inhibicji.
- Dobór elementów składowych (materiały, odczynniki, metody, materiał biologiczny) potrzebnych do przeprowadzenia eksperymentów.
- Wykonanie całości pracy laboratoryjnej (przeprowadzenie eksperymentów).
- Przygotowanie całości manuskryptu, w tym opis metodyki przeprowadzonych eksperymentów oraz innych metod badawczych zastosowanych w badaniach laboratoryjnych wykonanych w ramach doświadczenia.
- Przygotowanie odpowiedzi na pytania Recenzentów oraz wynikających z nich korekt manuskryptu.

Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetyki Collegium Medicum w Bydgoszczy KB714/2019.

4.3. Omówienie cyklu publikacji głównego osiągnięcia naukowego

4.3.1. Wstęp

Alergiczna reaktywność krzyżowa występuje, gdy układ odpornościowy organizmu identyfikuje białka pochodzące z różnych źródeł jako podobne. Przeciwciała specyficzne dla jednego alergenu mogą również rozpoznawać podobne epitopy obecne w innych białkach alergicznych. To zjawisko powoduje, iż uczulenie na jeden alergen może, w niektórych przypadkach, wywołać objawy alergiczne po kontakcie z alergenem krzyżowo-reagującym,

pochodzącym z innego źródła. Zazwyczaj reaktywność krzyżowa dotyczy alergenów pochodzących z różnych, pokrewnych filogenetycznie, źródeł. Czasem jednak reakcje krzyżowe mogą dotyczyć alergenów pochodzących z źródeł niespokrewnionych.

U podłoża reaktywności krzyżowej leży zdolność przeciwciał do rozpoznawania epitopów o zbliżonej budowie. Podobieństwo epitopów antygenowych może być związane zarówno z ich strukturą liniową, jak i konformacją przestrzenną.

Zjawisko reaktywności krzyżowej może utrudniać diagnostykę, przyczyniając się do otrzymywania w testach laboratoryjnych zarówno do wyników fałszywie ujemnych, jak i fałszywie dodatnich. Może również prowadzić do niezgodności pomiędzy wywiadem klinicznym, a wynikami badań dodatkowych. Może być również przyczyną różnych, nieprzewidzianych reakcji alergicznych bez wcześniejszej ekspozycji na dany alergen, lub u osób nieatopowych.

Szacowanie prawdopodobieństwa reaktywności krzyżowej alergenów jest zwykle dokonywane na podstawie analizy i dopasowania sekwencji aminokwasów ich epitopów lub oceny podobieństwa konformacji przestrzennej. Wykorzystuje się w tym celu techniki proteomiczne, bioinformatyczne i krystalograficzne. Wiadomym jest jednak, że nawet jeśli identyczność aminokwasów między dwiema porównywanymi strukturami koreluje z prawdopodobieństwem reaktywności krzyżowej, sama identyczność aminokwasów i homologia strukturalna są słabymi predyktorami rzeczywistej reakcji klinicznej. Obserwuje się, że kliniczna manifestacja reaktywności krzyżowej nie zawsze jest proporcjonalna do rzeczywistego podobieństwa strukturalnego białek. Nie zawsze jest również związana z pokrewieństwem filogenetycznym źródeł alergenów. W niektórych przypadkach nie obserwujemy objawów klinicznych proporcjonalnych do istotnego podobieństwa strukturalnego alergenów. Z drugiej strony możliwe jest, że pomimo niewielkiego podobieństwa antygenowego alergenów pochodzących z różnych źródeł, kliniczna manifestacja reaktywności krzyżowej po ekspozycji na te alergeny jest znacząca. Obecnie nie ma jednak wystandaryzowanych metod badania klinicznej reaktywności krzyżowej między alergenami.

W przedstawionym cyklu prac zaproponowano różne, opracowane we własnym zakresie, eksperymentalne metody badania reaktywności krzyżowej alergenów w warunkach klinicznych. Metody te mają pomóc w oszacowaniu prawdopodobieństwa wystąpienia alergicznej reakcji krzyżowej oraz wspomóc proces diagnostyczno-terapeutyczny w przypadku alergii, u której podłoża leży uczulenie na alergeny reagujące krzyżowo.

4.3.2. Cel badawczy

- Zaprojektowanie różnych modeli testów inhibicji.
- Ocena przydatności zaproponowanych testów w badaniu reaktywności krzyżowej alergenów.
- Ocena przydatności zaproponowanych testów inhibicji w warunkach klinicznych.

4.3.3. Omówienie zaprojektowanych metod eksperymentalnych (testy hamowania), będących podstawą cyklu publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe

Do przeprowadzenia badań, których wyniki zostały opisane w przedstawionym cyklu publikacji składającym się na główne osiągnięcie naukowe, wykorzystano niestandardowe metody laboratoryjne, które zostały zaprojektowane we własnym zakresie. Zaplanowano i skonstruowano cztery modele eksperymentalnych testów hamowania, które następnie zastosowano do badania krzyżowej reaktywności alergenów. Zaproponowano możliwość zastosowania tego typu testów w warunkach klinicznych, do diagnostyki in vitro alergii będącej skutkiem uczulenia na alergeny reagujące krzyżowo.

Wyniki opisanych testów omówiono w osobnych podpunktach, indywidualnie dla każdej publikacji, w której wykorzystano dany test.

1. Model eksperymentalny 1 (eksperyment 1): test hamowania w fazie stałej (ang. Solid Phase Inhibition Test; SP-IT)

Ten model testu hamowania skonstruowano do oceny reaktywności krzyżowej kalikreiny psiej (Can f 5) i kalikreiny ludzkiej (Prostate Specific Antigen, PSA). Wyniki doświadczenia zostały przedstawione w publikacji 1 oraz w publikacji 2. W publikacji nr 1 wykorzystano eksperyment do etapu 4B. Publikacja 2 jest kontynuacją badań przedstawionych w publikacji 1 i wykorzystuje ten model testu hamowania w całości (do etapu 5B), wraz z modelem eksperymentalnym 2, opisanym w kolejnych punktach Autoreferatu.

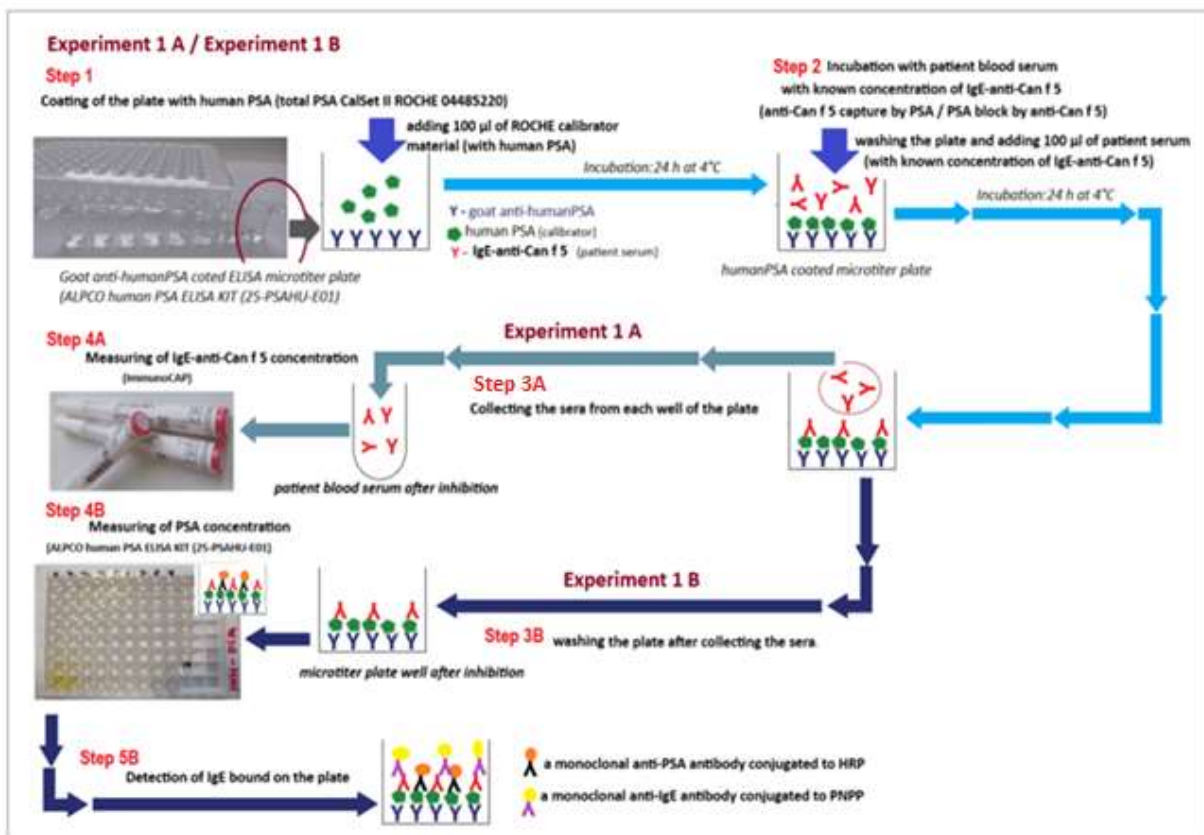
W pierwszym zaproponowanym eksperymentalnym modelu testu hamowania (SP-IT) wykorzystano zjawisko wiązania przeciwciał przez antygeny swoiste związane na ściankach płytki polistyrenowej (mikropłytki ELISA). Płytki polistyrenowa stanowi fazę stałą testu (SP).

Założono, że antygen/alergen opłaszczony na ściankach płytki będzie wiązał również przeciwciała IgE swoiste dla alergenu krzyżowo-reaktywnego.

Założono, że jeśli rzeczywiście istnieje zdolność do krzyżowego wiązania przeciwciał przez alergeny/antygeny związane na płytce to stężenie tych przeciwciał w surowicy zebranej z płytki po inhibicji, ulegnie obniżeniu. Innym sposobem oceny skuteczności tej reakcji, potwierdzającym reaktywność krzyżową układu badanych alergenów/antygenów, może stanowić wykazanie obniżonej ekspresji antygeny użytego do blokowania, na ściankach opłaszczonych nim płytki polistyrenowej, po zakończeniu blokowania i usunięciu surowicy z dołków reakcyjnych, w porównaniu z jego ekspresją wyjściową.

W przeprowadzonym eksperymencie jako fazę stałą testu, będącą nośnikiem antygeny blokującego (PSA) zastosowano polistyrenową płytkę typu ELISA, której ścianki dołków testowych zostały opłaszczone ludzkim PSA. W doświadczeniu wykorzystano komercyjny zestaw ELISA, do oznaczania ludzkiego PSA (ALPCO; Total Prostate-Specific Antigen ELISA; ref. 25-PSAHU-E01). W składzie zestawu znajduje się polistyrenowa płytka, której dołki reakcyjne powleczone są kozim przeciwciałem przeciwko ludzkiemu PSA (anty-PSA/ludzkie). Źródłem ludzkiego PSA o znanym stężeniu, które wykorzystano w eksperymencie do opłaszczania ścianek płytki ELISA, był roztwór kalibracyjny Total PSA CalSet II (ROCHE; ref. 04485220 190). Total PSA CalSet II to liofilizowana surowica ludzka z dodatkiem ludzkiego PSA, o znanym stężeniu. Stosowany kalibrator był wolny od anty-Can f 5 IgE. Eksperyment przewidywał dwa tory postępowania (A i B).

Schemat tego modelu eksperymentu (**SP-IT**) pokazano na rycinie 1.



Rycina 1. Schemat testu hamowania w fazie stałej (SP-IT) - model eksperymentalny 1 (Eksperyment 1).

Opis modelu eksperymentalnego 1 (Eksperyment 1: A i B)

Etap 1 (Step 1):

W pierwszym etapie tego eksperymentu płytkę pokryto ludzkim PSA. W tym celu do wszystkich studzienek mikropłytki dodano po 100 μ l roztworu kalibracyjnego ROCHE zawierającego ludzki PSA, w którym przed testem dokładnie zmierzono stężenia antygeny stercza oraz stężenie IgE anty-Can f 5. Tak przygotowaną płytkę następnie inkubowano, w temperaturze 4°C przez 24 h, w celu unieruchomienia PSA z kalibratora na ściankach dołków testowych płytki. Po tym czasie usunięto kalibrator i studzienki przemyto 3 razy wodą destylowaną w celu wymycia niezwiązanych pozostałości. W wyniku tej procedury otrzymano studzienki mikropłytki opłaszczone ludzkim PSA. Tak przygotowana mikropłytką została następnie użyta, w drugim etapie doświadczenia.

Etap 2 (Step 2):

100 µl surowicy o znanym stężeniu IgE anty-Can f 5 dodano do odpowiednich studzienek płytki polistyrenowej, wstępnie powleczonej ludzkim PSA. Każdą surowicę nanoszono w duplikacie. Tak przygotowaną płytkę inkubowano w temperaturze 4°C przez 24 godziny. Założono, że PSA opłaszczony w fazie stałej będzie wiązał przeciwciała IgE swoiste dla Can f 5 (IgE anty-Can f 5) z surowicy pacjentów. Surowice były wolne od PSA, co sprawdzono przed testem.

Etap 3 (Step 3):

Po inkubacji, surowice pacjentów zebrano z mikrodołków płytki do czystych probówek polistyrenowych (***Etap 3A***). Po opróżnieniu dołków z surowicy płytkę przemyto 5 razy wodą destylowaną (***Etap 3B***).

Zebrane surowice zostały następnie użyte w części A (***Eksperyment 1A***), a studzienki mikroplątek użyto w części B (***Eksperyment 1B***) tego modelu doświadczalnego.

Eksperyment 1A

Etap 4A (Step 4A):

W tej części eksperymentu założono, że przeciwciała IgE anty-Can f 5 z badanych surowic zostały związane przez PSA unieruchomione na ściankach studzienek mikroplątki (jako skutek reaktywności krzyżowej). Aby zweryfikować to założenie, podczas tego etapu oznaczano stężenie IgE anty-Can f 5 w każdej surowicy zebranej ze studzienek mikroplątki w etapie 3A. Stężenie anty-Can f 5 IgE oznaczono standardową metodą ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Uzyskane wyniki porównano do wartości wyjściowych, zmierzonych w surowicach badanych przed testem blokowania tą samą metodą.

Eksperyment 1B

Etap 4B (Step 4B):

W tej części doświadczenia założono, że część PSA, związana ze ściankami mikroplątki podczas pierwszego etapu (***Etap 1***) doświadczenia, została zablokowana przez związanie przeciwciał IgE anty-Can f 5. Jeśli cząsteczki PSA zostały zablokowane, to nie będą wiązały przeciwciał anty-PSA ludzkie znakowanych enzymem. W takim przypadku stężenie PSA zmierzone na tym etapie powinno być niższe niż wartość wyjściowa, zmierzona w kalibratorze ROCHE użytym do opłaszczenia płytki. Aby zweryfikować to założenie, określono stężenie PSA związanego w każdym dołku testowym płytki. Stężenie PSA zmierzono gotowym

zestawem ELISA, który był stosowany do blokowania, przeprowadzając kolejne etapy testu zgodnie z instrukcją producenta (ALPCO; Total Prostate-Specific Antigen ELISA; ref. 25-PSAHU-E01). Do tego etapu doświadczenia wykorzystano jeden z dwóch dołków testowych użytych do blokowania dla każdej surowicy.

Wyniki badań wykonanych do tego etapu zostały opisane w publikacji nr 1.

Etap 5B (Step 5B):

Na tym etapie eksperymentu założono, że jeśli IgE anti-Can f 5 z testowanych surowic zostało związane przez PSA na ściankach mikropłytki, to możliwe jest wykrycie przeciwciał IgE związanych na tej płytce. Aby sprawdzić słuszność tej hipotezy, sprawdzono obecność IgE na płytce testowej użytej w eksperymencie. W tym etapie wykorzystano drugi dołek testowy z duplikatu wykonanego dla każdej surowicy. W celu wykrycia obecności IgE na ściankach mikropłytki zastosowano mysie anti-ludzkie przeciwciała IgE skoniugowane z fosfatazą alkaliczną i dedykowanym substratem p-nitro-fenylo-fosforanem (PNPP). Zastosowano odczynniki firmy HYPOR (HYTEC Specific and Total IgE EIA kit). Wyniki uznano za pozytywne (obecność IgE), jeśli zmierzona absorbancja (OD) była wyższa niż OD próby ślepej. Próbę ślepą wykonano w duplikacie. Analizowano zdolność wiązania anti-IgE na ściankach dołków testowych płytki powleczonej PSA, w której nie blokowano żadnej surowicy.

Wyniki badań wykonanych do tego etapu eksperymentu 1 zostały wykorzystane w publikacji nr 2. Jest to część wyników tej publikacji.

2. Model eksperymentalny 2 (eksperyment 2): test hamowania w fazie ciekłej (ang. Liquid Phase Inhibition Test; LP-IT)

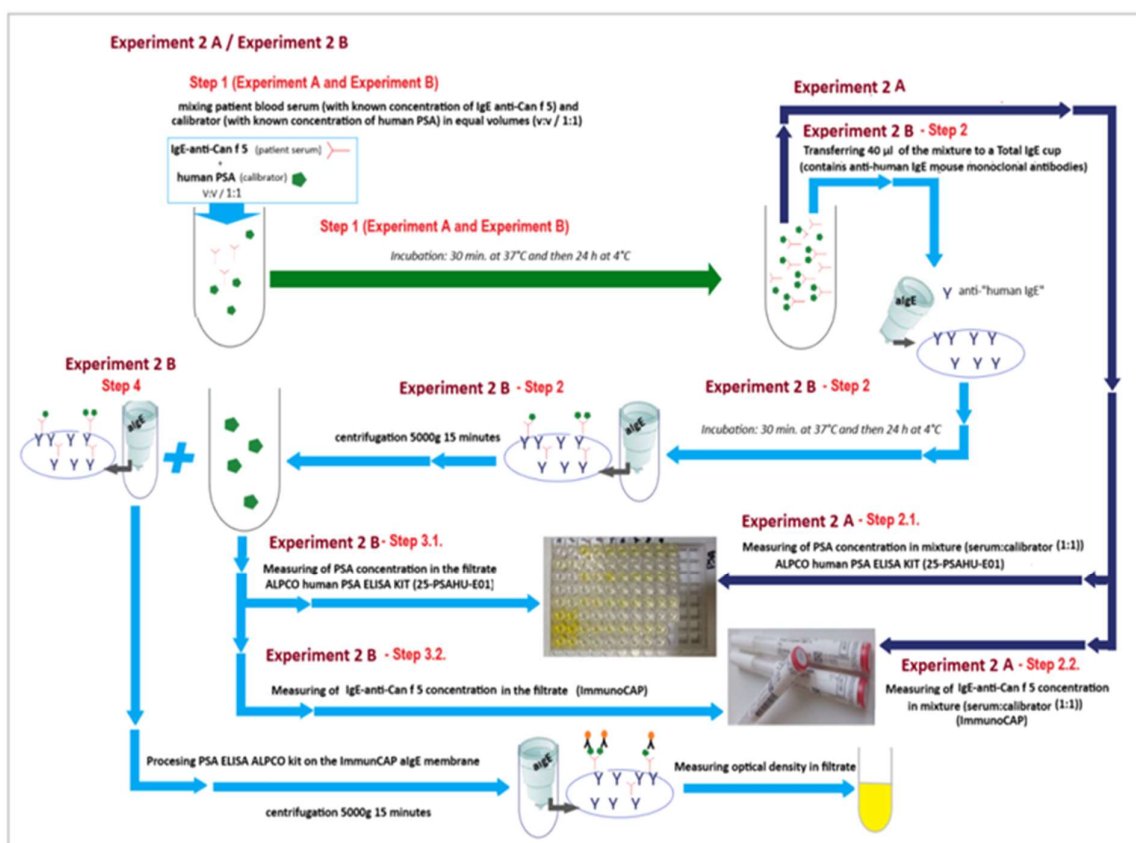
Ten model testu hamowania całości zastosowano do wykonania badań, których wyniki opisano w publikacji nr 2.

Ten model testu hamowania zakłada, że jeśli zmieszamy roztwór antygenów/alergenów z roztworem przeciwciała reagujących krzyżowo z tymi antygenami to w mieszaninie tej powstaną kompleksy immunologiczne zbudowane z obydwu tych składników reakcji. Całość reakcji zachodzi w roztworze, jest to więc test w fazie ciekłej (LP-IT). Aby ocenić skuteczność

blokowania, będącą skutkiem reaktywności krzyżowej, można zmierzyć spadek stężenia składników reakcji (antygenów i przeciwciał badanych) w mieszaninie po teście w odniesieniu do wartości początkowej. Można również uwidocznić kompleksy przez ich wytrącanie, lub wiązanie na powierzchni fazy stałej. W zaproponowanym wariantcie eksperymentu zastosowano dwa sposoby detekcji skuteczności reakcji: zmierzono stężenie składników reakcji przed testem i po nim oraz sprawdzono obecność kompleksów immunologicznych przez wiązanie ich na fazie stałej.

Model testowano, podobnie jak poprzedni, wykorzystując zdolność przeciwciał IgE anti-Can f 5 do wiązania się z ludzkim PSA. Źródło przeciwciał stanowiła surowica, wolna od PSA, kobiet uczulonych na Can f 5, zaś jako źródło ludzkiego PSA zastosowano ten sam materiał kalibracyjny (ROCHE total PSA CalSet II; ref. 04485220 190), jak w poprzednim modelu doświadczalnym.

Schemat tego modelu eksperymentu (LP-IT) pokazano na rycinie 2.



Rycina 2. Schemat testu inibicji w fazie ciekłej (LT-IT) - model eksperymentalny 2 (Eksperyment 2).

Opis modelu eksperymentalnego 2 (Eksperyment 2: A i B)

Eksperyment był prowadzony dwoma ścieżkami, o wspólnym etapie początkowym (*Etap 1*).

Etap 1 (Step 1, A i B):

Pierwszy etap był wspólny dla obydwu ścieżek eksperymentu 2 (2A, 2B). Eksperyment rozpoczęto od mieszania surowic pacjentów z kalibratorem o znanym stężeniu PSA w równych objętościach (V:V/1:1). Tak przygotowane próbki poddano następnie dwuetapowej inkubacji: najpierw w temperaturze 37°C przez 30 minut, a następnie przez 24 godziny w temperaturze 4°C. Po zakończeniu inkubacji materiał podzielono na dwie niezależne ścieżki doświadczenia (*Eksperyment 2A i Eksperyment 2B*).

Eksperyment 2A

Etap 2A (Step 2A):

W tej części eksperymentu założono, że przeciwciała IgE anty-Can f 5 w surowicy będą się wiązały z PSA ludzkim, pochodzącym z materiału kalibracyjnego, jako skutek reaktywności krzyżowej. Tworzenie kompleksów immunologicznych „PSA/anty-Canf 5 IgE” powinno spowodować obniżenie, w mieszaninie badanej, stężenia zarówno anty-Can f 5, jak i PSA w stosunku do wyjściowych wartości tych parametrów, zmierzonych w pojedynczych składowych tej mieszaniny (surowica pacjentek – źródło IgE anty-Can f 5 i materiał kalibracyjny – źródło ludzkiego PSA), z uwzględnieniem powstałych w procedurze rozcieńczeń. W celu weryfikacji słuszności przyjętej hipotezy w próbce materiału otrzymanej po inkubacji zmierzono stężenie PSA (ALPCO; Total Prostate-Specific Antigen ELISA; ref. 25-PSAHU-E01) (*Etap 2.1.*) oraz IgE anty-Can f 5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) (*Etap 2.2.*).

Eksperyment 2B

Etap 2 (Step 2)

Ten etap eksperymentu zakładał, że jeśli w pierwszym etapie doświadczenia powstały kompleksy „PSA/anty-Can f 5 IgE”, to możliwe jest ich usunięcie z mieszaniny za pomocą przeciwciał swoistych dla ludzkiej IgE, przez wiązanie w fazie stałej. Aby sprawdzić słuszność tego założenia, mieszaninę z pierwszego etapu eksperymentu naniesiono na podłoża celulozowe opłaszczone mysimi przeciwciałami monoklonalnymi swoistymi dla ludzkiej IgE (anty-IgE/ludzkie).

W doświadczeniu zastosowano podłoża reakcyjne (CAP) systemu ImmunoCAP, opłaszczane przeciwciałami anty-ludzkie/IgE. Użyte podłoża CAP są częścią systemu służącego do oznaczania stężenia IgE całkowitego w surowicy ludzkiej w zakresie od 2,0 do 5000 kU/L (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA, 14-4509-01). W trakcie eksperymentu 40 µl każdej mieszaniny z etapu 1 nanoszono na CAP reakcyjny opłaszczony przeciwciałami anty-IgE. Wcześniej wszystkie podłoża CAP zostały wstępnie przepłukane dedykowanym buforem do płukania (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA, 10-9422-01) i osuszone (wirowanie 5000 g, 15 minut) celem przygotowania ich do wiązania immunoglobuliny E. Tak przygotowane CAP zamknięto w probówkach typu Eppendorf (co zapobiegło parowaniu) i inkubowano przez 30 minut w temperaturze 37°C, a następnie 24 godziny w temperaturze 4°C. Po inkubacji CAP odwirowano (5000 g; 15 minut) w celu zebrania przesączu i osuszenia podłuż celulozowych CAP. Przesącz został wykorzystany w *etapie 3.1. i etapie 3.2.* doświadczenia, a podłoża celulozowe CAP w *etapie 4.*

Etap 3.1. (Step 3.1.)

W zebranych przesączach zmierzono stężenie PSA (test ALPCO; Total Prostate-Specific Antigen ELISA; ref. 25-PSAHU-E01). Oczekiwano, że jeśli w Etapie 1 Eksperymentu 2 (A/B) powstały kompleksy immunologiczne „PSA/anty-Can f 5 IgE”, które zostały następnie związane, na podłożu CAP, przez przeciwciała anty-IgE (w Etapie 2 Eksperymentu 2B), to stężenie PSA w przesączu będzie niższe od wartości, zmierzonej w mieszaninie z Etapu 1 doświadczenia.

Etap 3.2. (Step 3.2.)

W zebranych przesączach zmierzono stężenie IgE anty-Can f 5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Oczekiwano, że jeśli w Etapie 1 Eksperymentu 2 (A/B) powstały kompleksy immunologiczne „PSA/anty-Can f 5 IgE” i zostały one następnie związane, na podłożu CAP, przez przeciwciała anty-IgE (w Etapie 2 Eksperymentu 2B) to stężenie IgE anty-Can f 5 w filtratach będzie niższe niż zmierzone w Etapie 2.2. Eksperymentu 2A.

Krok 4 (Step 4)

W tej części eksperymentu wykorzystano CAP z Etapu 2 doświadczenia. Założono, że jeśli w mieszaninie „surowica badana/materiał kalibracyjny” powstały kompleksy immunologiczne „PSA/anty-Can f 5 IgE” to podczas inkubacji z przeciwciałami „anty-IgE

ludzkie” na fazie stałej (podłoże CAP) kompleksy te zostaną związane z fazą stałą i możliwe będzie wykrycie PSA na podłożu CAP-anty-IgE. Aby sprawdzić, czy te przypuszczenia są prawdziwe, w celu wykrycia związanego z CAP PSA wykonano test ELISA z użyciem ludzkich przeciwciał anti-PSA znakowanych peroksydazą chrzanową (HRP) i tetrametylobenzydyną (TMB) jako chromogenem. Fazę stałą stanowiły, używane w eksperymencie, podłoża CAP, na których wiązano kompleksy immunologiczne „PSA/anty-Can f 5 IgE”. Oceniono gęstość optyczną końcowego roztworu po reakcji. Próbką porównawczą (zerową) była membrana CAP anti-IgE ludzkie, na której nie wykonywano testu hamowania.

Wyniki badań wykonanych podczas tego eksperymentu (model eksperymentalny 2) zostały przedstawione w publikacji nr 2.

3. Model eksperymentalny 3 (eksperyment 3): Dwustronny test hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT)

Ten model testu hamowania wykorzystano do wykonania badań, których wyniki opisano w publikacji nr 3.

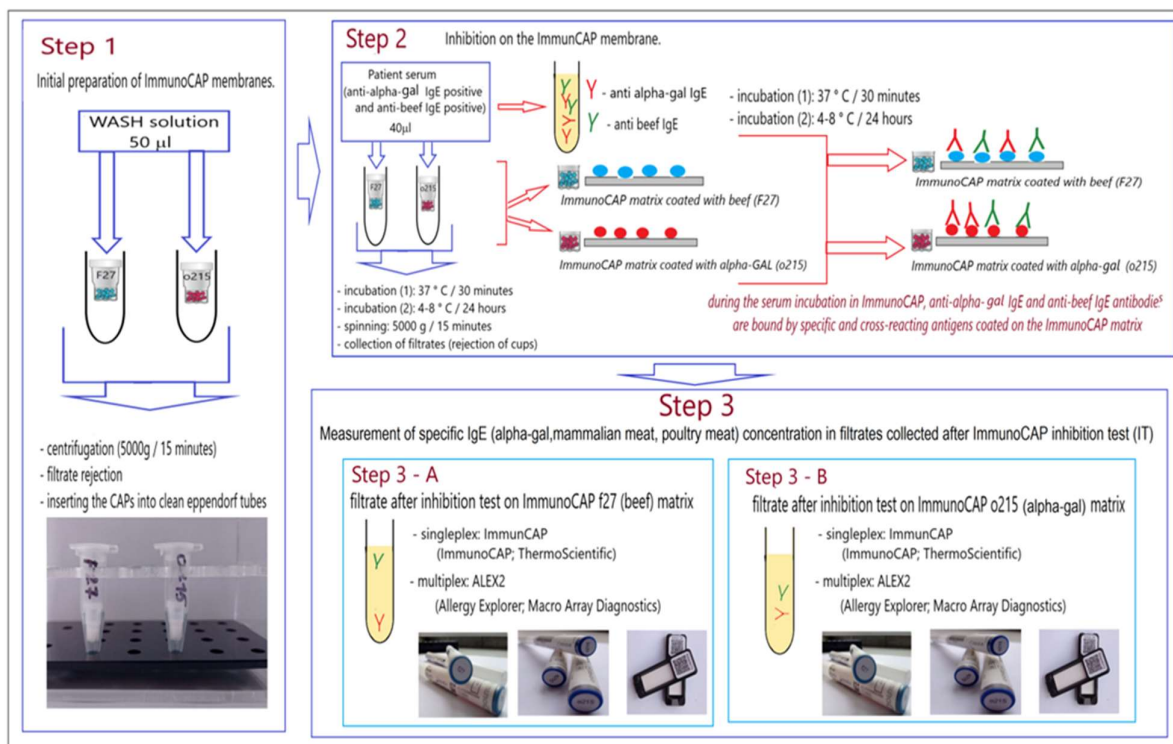
Zaproponowany eksperymentalny model testu hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT) jest trzyetapową procedurą, zaprojektowaną do oceny reaktywności krzyżowej między alergenami. Jest to test w fazie stałej. W eksperymencie wykorzystano gotowe podłoża celulozowe (tzw. „CAP”), które są składnikami systemu ImmunoCAP. Stanowią one fazę stałą testu, na której przeprowadzone jest wiązanie. CAP są fabrycznie opłaszczony wystandaryzowanymi alergenami. Standardowa metoda ImmunoCAP jest metodą referencyjną w diagnostyce alergii in vitro. Zaproponowany model testu inhibicji polega na inkubacji surowicy, zawierającej przeciwciała IgE swoiste dla określonego alergenu, na membranie CAP opłaszczonej innym alergenem. Zakłada się, że jeśli alergen na membranie ma zdolność krzyżowego wiązania przeciwciał IgE swoistych dla innego alergenu, to stężenie tych przeciwciał, w surowicy zebranej po inkubacji na CAP, ulegnie obniżeniu. W celu oceny skuteczności wiązania konieczny jest dwukrotny pomiar stężenia blokowanych przeciwciał – przed inkubacją na CAP i po niej.

Skuteczność tego modelu testu inhibicji w badaniu reaktywności krzyżowej alergenów sprawdzono wykorzystując zdolność przeciwciał IgE anty- α -Gal do wiązania alergenów mięsa ssaków. W **publikacji nr 3** zbadano reaktywność krzyżową α -Gal i alergenów ekstraktu mięsa wołowego. W tej wersji testu sprawdzano zarówno zdolność krzyżowego wiązania przeciwciał IgE anty- α -Gal, przez antygeny mięsa wołowego, jak zdolność wiązania krzyżowego przeciwciał IgE, swoistych dla wołowiny, przez α -Gal. Jest to dwustronny model testu hamowania. Sprawdzono również czy alergeny wołowiny i/lub α -Gal mają zdolność do krzyżowego wiązania przeciwciał swoistych dla alergenów mięsa innych ssaków (wieprzowina, baranina, konina, królik).

Jako nośnik i jednocześnie źródło alergenów w fazie stałej wykorzystano dwa rodzaje gotowych membran ImmunoCAP: opłaszczone tyreoglobuliną bydlęcą (TBG), będącą źródłem α -Gal (o215) i opłaszczone ekstraktem mięsa wołowego (f27) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Źródłem przeciwciał IgE swoistych dla α -Gal i alergenów mięs ssaczych były surowice pacjentów zawierające te przeciwciała.

Rycina 3 przedstawia szczegółowy schemat przeprowadzonego doświadczenia.



Rycina 3. Test hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT) na membranie opłaszczonej α -Gal (o215-IT) oraz na membranie opłaszczonej ekstraktem alergenów mięsa wołowego (f27-IT) - model eksperymentalny 3 (Eksperyment 3).

Opis modelu eksperymentalnego 3

Etap 1 (Step 1)

W pierwszym etapie eksperymentu wstępnie przygotowano membrany ImmunoCAP. W tym celu CAP reakcyjne umieszczono w probówkach typu Eppendorf. Do każdego CAP dodano 50 μ l roztworu do przemywania. Zastosowano gotowy roztwór myjący systemu ImmunoCAP (wash solution, nr art. 10-9422-01). Następnie CAP, zamknięte w probówkach Eppendorf, odwirowano (5000xg; 15 minut) w celu przepłukania membrany reakcyjnej i usunięcia buforu myjącego z membrany. Ten etap miał na celu przygotowanie matrycy CAP do wiązania przeciwciał. Tak opracowane CAP umieszczono w czystych probówkach Eppendorf.

Etap 2 (Step 2)

Założeniem tego etapu było, że przeciwciała IgE swoiste dla α -Gal, IgE swoiste dla alergenów wołowiny, obecne w surowicach, i/lub przeciwciała IgE swoiste dla alergenów mięsa innych ssaków (jeśli były obecne w danej surowicy) będą hamowane, przez antygeny α -Gal i/lub mięsa wołowego, opłaszczone na macierzach CAP. W tym celu na przygotowane membrany CAP nałożono po 40 μ l poszczególnych surowic. Następnie CAP z nałożonymi surowicami szczelnie zamknięto w probówkach i poddano dwuetapowej inkubacji: najpierw 30 minut w temperaturze 37°C, a następnie 24 godziny w lodówce (2-4°C). Po inkubacji próbki zawierające CAP odwirowano (5000xg; 15 minut). Po zakończeniu wirowania matryce CAP usunięto, a zebrany przesącz wykorzystano w kolejnym etapie doświadczenia (***etap 3***).

Otrzymano dwa rodzaje filtratów:

- (A) filtrat po teście hamowania na macierzy ImmunoCAP f27 (wołowina; f27-ImmunoCAP Inhibition Test; f27-IT)
- (B) filtrat po teście hamowania na matrycy ImmunoCAP o215 (α -Gal; o215-ImmunoCAP Inhibition Test; o215-IT).

Etap 3 (Step 3)

W tym etapie eksperymentu sprawdzono skuteczność przeprowadzonych testów inhibicji: na membranie opłaszczonej alergenami wołowiny (f27-IT, etap 3 A) oraz na membranie opłaszczonej α -Gal (o215-IT, etap 3 B). W tym celu w zebranych filtratach (A, B) zmierzono stężenie przeciwciał IgE swoistych dla wołowiny i IgE swoistych dla α -Gal. Stężenie swoistych IgE oznaczono metodą referencyjną ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) na analizatorze Phadia100. Zbadano również, wpływ blokowania, na obydwu membranach, na stężenie przeciwciał IgE swoistych dla innych alergenów, w tym alergenów mięsa ssaków (innych niż wołowina) oraz różnych alergenów pokarmowych i/lub powietrzno pochodnych, których obecność wykryto w poszczególnych surowicach przed testem inhibicji. Badanie to przeprowadzono multiparametrowym testem ALEX² (AllergyXplorer, MacroArray Diagnostics; MADx). Taka strategia pozwoliła zbadać reaktywność krzyżową przeciwciał IgE swoistych dla α -Gal zarówno względem alergenów różnych rodzajów mięsa, w tym szczególnie mięsa ssaków, jak różnych, nie-mięsnych alergenów pokarmowych i powietrzno pochodnych, które nie powinny reagować z tymi przeciwciałami (negatywna kontrola testu).

Wyniki tego doświadczenia przedstawiono w publikacji nr 3.

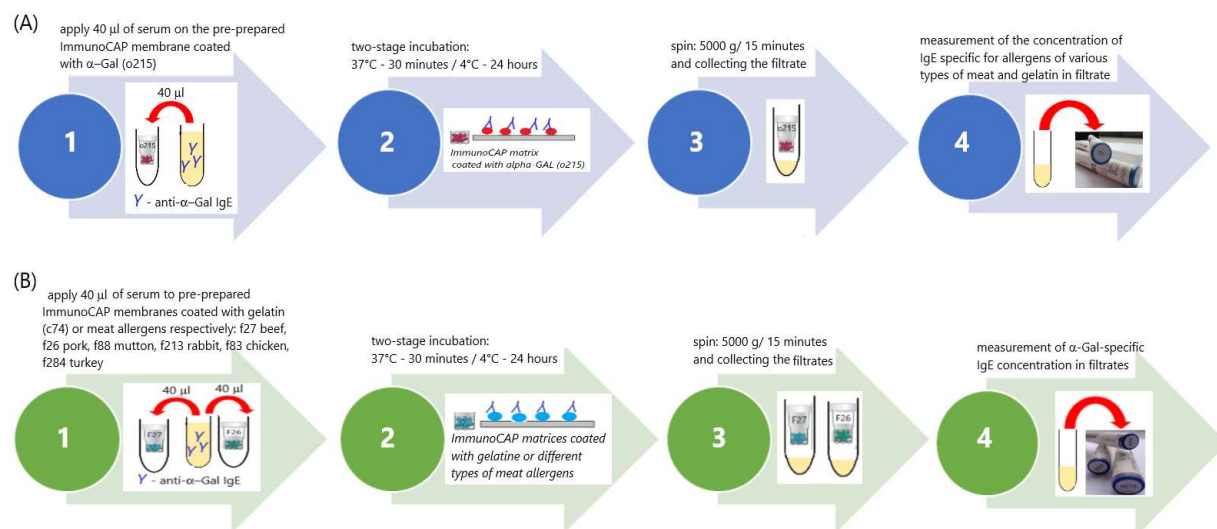
4. Model eksperymentalny 4 (eksperyment 4): Dwustronny, wielopunktowy test hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT)

Wyniki badań uzyskane w tym modelu eksperymentalnym przedstawiono w publikacji nr 4. W publikacji nr 4 zaproponowano również możliwą lokalizację testów hamowania w procesie diagnostycznym.

Opisany poprzednio model eksperymentalny dwustronnego testu hamowania (ImmunoCAP-IT) został w tym doświadczeniu rozszerzony o kolejne alergeny mięsa (wieprzowina, królik, baranina, kurczak, indyk) i żelatyny wołowej (test dwustronny, wielopunktowy). Test ten wykorzystano ponadto w zaproponowanym schemacie diagnostyki klinicznej nawracających reakcji anafilaktycznych po spożyciu mięsa u pacjenta bez wcześniejszej historii atopowej. Zaproponowano lokalizację testów hamowania w postępowaniu diagnostycznym.

Całe, rozbudowane postępowanie diagnostyczne, wraz ze szczegółowym przedstawieniem metodyki, zostało opisane w pracy oryginalnej (publikacja nr 4).

W tej strategii, której schemat przedstawiono na rycinie 4, zastosowano hamowanie na podłożach CAP opłaszczonych alergenami różnych rodzajów mięsa ssaczego (wołowina, wieprzowina, baranina, królik), mięsa drobiowego (kurczak, indyk), żelatyny wołowej oraz tyreoglobuliną bydlęcą (źródło α -Gal).



Rycina 4. Test hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT) (**A**) z α -Gal; (**B**) z żelatyną lub alergenami różnych mięs (f27 wołowina, f26 wieprzowina, f88 baranina, f213 królik, f83 kurczak, f284 indyk).

W eksperymencie wykorzystano następujące typy CAP:

Część A: o215-CAP (α -Gal; bydlęca tyreoglobulina - TBG);

Część B: f27-CAP (wołowina), f26-CAP (wieprzowina), f88-CAP (baranina), f213-CAP (królik), f83-CAP (kurczak), f284-CAP (indyk) i c74-CAP (żelatyna wołowa).

Opis modelu eksperymentalnego 4

Etap 1 (A, B)

Pierwszy etap obu części (A, B) doświadczenia przebiegał tak samo. Na tym etapie przygotowano CAP do wiązania swoistych przeciwciał IgE z surowicy pacjenta z odpowiednimi alergenami opłaszczonymi na CAP w fazie stałej. Każdy CAP umieszczono w suchych, czystych probówkach Eppendorf (objętość 1500 µl). Następnie do każdego CAP dodano 40 µl roztworu do przemywania. Jak poprzednio (w eksperymencie 3), zastosowano roztwór płuczący będący częścią systemu ImmunoCAP (nr art. 10-9422-01). Roztwór

przygotowano zgodnie z zaleceniami producenta. Wszystkie CAP zamknięte wewnątrz probówek Eppendorf odwirowano (5000xg; 15 minut). Odwirowane CAP przeniesiono do czystych, suchych probówek Eppendorf (objętość 1500 ul) a przesącz odrzucono.

Etap 2

Kolejny etap eksperymentu podzielono na dwie równoległe, niezależne części (A, B). Taka strategia, jak poprzednio, była elementem dwustronnego hamowania, zarówno przeciwciał IgE swoistych dla α -Gal przez alergeny mięsa różnego rodzaju jak i przeciwciał swoistych dla alergenów różnych mięs przez antygen α -Gal (w odróżnieniu od modelu 3, gdzie stosowano jedynie CAP opłaszczony mięsem wołowym).

Etap 2 - Część A

W tej części eksperymentu wykorzystano przygotowane o215-CAP. Na każdy CAP nałożono 40 μ l surowicy. Wszystkie CAP szczelnie zamknięte w probówkach Eppendorf inkubowano w dwóch etapach: najpierw przez 30 minut w temperaturze 37°C, a następnie przez 24 godziny w temperaturze 2-8°C. Po inkubacji CAP odwirowano (5000xg; 15 min). Po odwirowaniu CAP odrzucono, a przesącze zebrano. W przesączu zmierzono stężenie: IgE anty- α -Gal, anty-f27 (wołowina), anty-f26 (wieprzowina), anty-f88 (baranina), anty-f213 (królik), anty-f83 (kurczak), anty-f284 (indyk) i anty-c74 (żelatyna wołowa). Wykorzystano system ImmunoCAP z aparatem Phadia100.

Uzyskanie odpowiedniej objętości surowicy do wykonania pomiarów stężenia wymienionych przeciwciał wymagało inkubacji jednej surowicy na wielu podłożach o215-CAP. Wysycenie alergenem membrany CAP jest kalibrowane fabrycznie na 40 μ l surowicy.

Etap 2- Część B

W tej części eksperymentu wykorzystano pozostałe przygotowane wstępnie matryce CAP opłaszczone alergenami różnych mięs oraz żelatyny (f27-CAP, f26-CAP, f88-CAP, f213-CAP, f83-CAP, f284-CAP i c74-CAP). Na każdy CAP nałożono po 40 μ l surowicy pacjenta. CAP szczelnie zamknięte w probówkach Eppendorf inkubowano w dwóch etapach: najpierw przez 30 minut w temperaturze 37°C, a następnie przez 24 godziny w temperaturze 2-8°C. Po inkubacji CAP odwirowano (5000xg ; 15 min). Po odwirowaniu CAP odrzucono, a przesącze zebrano do dalszych testów. Łącznie po blokowaniu otrzymano 7 rodzajów przesączy. W każdym z nich zmierzono stężenie IgE anty- α -Gal (ImmunoCAP, Phadia100). Aby po

blokowaniu otrzymać taką objętość surowicy, która wystarczy do kolejnych etapów doświadczenia, hamowanie na każdym podłożu wymagało wielokrotnych powtórzeń.

Wyniki otrzymane w wyniku przeprowadzonego doświadczenia przedstawiono w publikacji nr 4.

4.3.4. Omówienie poszczególnych publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.

Publikacja nr 1:

Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Analysis of allergen profile in patients sensitized to canine allergen and potential Can f 5 cross-reactivity with human PSA. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2021 : Vol. 35, s. 1-10. *(IF: 3.298; MNiSW: 70.000)*

Cel pracy:

Celem pracy było zbadanie reaktywności krzyżowej między ludzkim PSA a Can f 5 w badaniu kobiet uczulonych na psy z zastosowaniem eksperymentalnego testu hamowania (IT).

Wstęp merytoryczny:

Kalikreina psiej prostaty, esteraza argininy, jest to białko wydzieliny gruczołu krokowego psa sklasyfikowana jako molekula alergenowa Can f 5. Białko to jest obecne w wydzielinie gruczołu krokowego, moczu oraz na powierzchni sierści zwierzęcia płci męskiej. Kalikreina jest enzymem występującym w nasieniu samców różnych ssaków, w tym ludzi, o stosunkowo konserwatywnej budowie cząsteczki. Powoduje to możliwość wystąpienia objawów reakcji alergicznej, u osób uczulonych na Can f 5, także po kontakcie z wydzieliną gruczołu krokowego lub moczem innych ssaków płci męskiej, w tym ludzi, jako skutek reaktywności krzyżowej. Szczególnie interesującym aspektem alergii na psa jest możliwa reaktywność krzyżowa z ludzkim nasieniem, w którym występują znaczne ilości antygenu sterczowego (PSA). Uważa się iż to zjawisko może być jedną z przyczyn niepłodności o podłożu immunologicznym, u kobiet uczulonych na kalikreinę psią (Can f 5).

Material i metody:

Do badania włączono 100 kobiet (w wieku 18–73, średnio 41 lat) z dodatnim wywiadem w kierunku alergii na sierść zwierząt lub pozytywnymi punktowymi testami skórnymi na

alergeny psów. Wykluczono kobiety cierpiące na choroby przewlekłe lub przyjmujące leki, które mogłyby wpłynąć na wynik badania. Od kobiet pobrano krew żylną, celem uzyskania surowicy. Badanie laboratoryjne podzielono na trzy etapy.

Etap 1: W surowicy krwi oznaczono stężenie immunoglobulin E swoistych (sIgE) dla ekstraktu alergenów psa. Do kolejnego etapu przekazano próbki surowicy, w których stężenie sIgE dla ekstraktu alergenów psa było dodatnie ($\geq 0,35$ kUA/L).

Etap 2: W surowicach, wybranych w poprzednim etapie oznaczono sIgE dla komponent alergenowych psa: Can f 1 (lipokalina), Can f 2 (lipokalina), Can f 3 (albumina surowicy), Can f 5 (kalikreina, esteraza argininy). Próbki surowicy, w których stężenie sIgE dla Can f 5 było dodatnie ($\geq 0,35$ kUA/L) zostały następnie użyte w etapie 3 doświadczenia.

Etap 3: W tym etapie doświadczenia wykonano **testy hamowania (IT) na mikroplótkach ELISA opłaszczonych ludzkim PSA.**

Badania wykonano według procedury „Model eksperymentalny 1 (do etapu 4B) - opisanej powyżej w rozdziale 4.3.3. Zaprojektowane metody eksperymentalne (testy hamowania), będące podstawą cyklu publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.

Wyniki:

U kobiet z dodatnim wywiadem objawów po ekspozycji na alergeny sierści zwierzęcej lub pozytywnymi testami skórnymi na alergeny psie, podwyższone stężenie IgE swoistej dla ekstraktu alergenu psiego stwierdzono u 65 pacjentek (65%). W tej populacji u 52,3% pacjentek stwierdzono uczulenie na Can f 5. Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu obecności lub nieobecności swoistej IgE Can f 5 w surowicy krwi na nasilenie objawów uczulenia po stosunku płciowym związanym z kontaktem z nasieniem męskim. Objawy uczulenia na męskie nasienie nie stanowią typowego obrazu klinicznego uczulenia na Can f 5

W przeprowadzonym teście inhibicji na płycie ELISA opłaszczonej ludzkim PSA we wszystkich surowicach poddanych blokowaniu stężenie przeciwciał IgE anty-Can f 5 było niższe od wyjściowego. Minimalny spadek stężenia wyniósł 10,44%, maksymalny 37,73%, średni spadek 21,6%.

Wnioski

Badanie potwierdziło umiarkowaną zdolność przeciwciał IgE anty-Can f 5 do reagowania krzyżowego z ludzkim PSA, co u niektórych kobiet może mieć znaczenie kliniczne.

Zastosowana eksperymentalna metoda hamowania na podłożu płytki ELISA, jako nośnika alergenów, wydaje się być skuteczna w badaniu reaktywności krzyżowej alergenów.

Publikacja nr 2:

Lis Kinga, Ukleja-Sokołowska Natalia, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Experimental research models to assess the cross-reactivity between Can f 5 and human PSA: two different perspectives. Int. J. Mol. Sci. 2022 : Vol. 23, nr 19, s. 1-17, 11223. **(IF: 5.600; MNiSW: 140.000)**

Cel pracy:

Celem pracy była ocena przydatności różnych modeli testów hamowania w badaniach reaktywności krzyżowej alergenów. W pracy zaproponowano dwa niezależne, eksperymentalne modele testów inhibicji.

Praca stanowi rozszerzenie i kontynuację publikacji nr 1.

Wstęp merytoryczny:

Większość dostępnych metod badających reaktywność krzyżową alergenów dotyczy analizy homologii sekwencji aminokwasowej lub przestrzennej organizacji cząsteczki białka. Podobieństwo struktur antygenowych, w tym stopień zgodności między sekwencją aminokwasową a strukturą przestrzenną, nie zawsze znajduje odzwierciedlenie w rzeczywistej reaktywności krzyżowej alergenów.

Testy hamowania wydają się być nieocenionym narzędziem do oceny potencjalnej reaktywności krzyżowej między alergenami w warunkach naturalnych.

Material i metody:

W niniejszej publikacji przedstawione zostały dwa eksperymentalne modele testów inhibicji: test zahamowania w fazie stałej (SP-IT) oraz test zahamowania w fazie ciekłej (LP-IT).

Test hamowania w fazie stałej (SP-IT) przeprowadzono przy użyciu mikropłytki ELISA pokrytej ludzkim PSA, która stanowiła nośnik antygeny blokującego w fazie stałej.

Test hamowania w fazie ciekłej (LP-IT) opierał się na mieszanii surowicy IgE anti-Can f 5 dodatkowo z materiałem zawierającym ludzki PSA, który stanowił nośnik antygeny blokującego w fazie płynnej.

Źródłem przeciwciał IgE anti-Can f 5 była surowica krwi pobranej od 31 kobiet, w której stężenie tych przeciwciał było $\geq 0,35$ kUA/L. Surowica kobiet biorących udział w badaniu nie zawierała wykrywalnego stężenia PSA.

Badania wykonano według procedury „Model eksperymentalny 1 (całość, do etapu 5B) oraz procedury „Model eksperymentalny 2”. Obydwie procedury opisano powyżej, w rozdziale 4.3.3. Zaprojektowane metody eksperymentalne (testy hamowania), będące podstawą cyklu publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.

Wyniki:

W obydwu zaproponowanych eksperymentalnych testach inhibicji stwierdzono spadek stężenia IgE anti-Can f 5 oraz stężenia PSA, co świadczy o ich skuteczności w wykrywaniu reaktywności krzyżowej alergenów. Zahamowanie w fazie ciekłej LP-IT było bardziej efektywne niż w fazie stałej SP-IT (w SP-IT stężenie anti-Can f 5 obniżyło się o 21,6%, a w LP-IT o 34,51%, zaś stężenie PSA w SP-IT obniżyło się o 11,25%, a w LP-IT o 15,49%). Wynika to prawdopodobnie z faktu, że pozostawienie składników reakcji immunologicznej w zawieszynie zwiększa wzajemną dostępność przeciwciał i epitopów antygenowych, co przekłada się na skuteczność tworzenia kompleksów immunologicznych. W modelu reakcji w fazie stałej przeciwciała są natomiast wiązane przez antygeny unieruchomione na ściankach płytki polistyrenowej, co ogranicza dostępność niektórych epitopów antygenowych dla przeciwciał i może zmniejszać wydajność reakcji.

Dodatkowo w teście prowadzonym w fazie płynnej (LP-IT) w mieszaninie surowicy badanej oraz materiału będącego źródłem ludzkiego PSA wykryto kompleksy immunologiczne zbudowane z IgE i PSA, które były wiązane na membranie opłaszczanej przeciwciałami przeciwko ludzkiej IgE. Potwierdza to zdolność zaproponowanego eksperymentalnego modelu testu hamowania do badania zjawiska reaktywności krzyżowej.

Wnioski:

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów wykazały, że oba zaproponowane modele testów hamowania mogą być skutecznymi narzędziami do badania zależności krzyżowych

między antygenami. Inhibicja w fazie ciekłej wydaje się być skuteczniejszym narzędziem badawczym niż blokowanie w fazie stałej.

Publikacja nr 3:

Lis Kinga, Ukleja-Sokołowska Natalia, Karwowska Kornelia, Wernik Joanna, Pawłowska Małgorzata, Bartuzi Zbigniew. The two-sided experimental model of ImmunoCAP inhibition test as a useful tool for the examination of allergens cross-reactivity on the example of α -Gal and mammalian meat sensitization: a preliminary study. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023: Vol. 45, nr 2, s. 1168-1182. (*IF: 3.100; MNiSW: 70.000*)

Cel pracy:

Celem pracy było zaprojektowanie eksperymentalnego testu dwustronnego hamowania (IT) na membranach ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT) do badania reaktywności krzyżowej alergenów i ocena skuteczności zaproponowanego modelu.

Wstęp merytoryczny:

Reaktywność krzyżowa alergenów jest przyczyną różnych, czasem nieoczekiwanych, reakcji klinicznych. Aktualnie nie ma standardowych metod badania reaktywności krzyżowej.

W omawianej publikacji został przedstawiony autorski, eksperymentalny model dwustronnego testu hamowania (IT) na podłożach ImmunoCAP (CAP).

Ocenę skuteczności zaproponowanego dwustronnego testu hamowania ImmunoCAP przeprowadzono w oparciu o znany zespół alergii krzyżowej na czerwone mięso rozwijający się u osób gryzionych przez kleszcze (tzw. zespół α -Gal; AGS). Zespół α -Gal jest to rodzaj alergii pokarmowej na czerwone mięso i inne produkty pochodzenia ssaków. U niektórych osobników ukąszonych przez kleszcza rozwijają się przeciwciała IgE specyficzne dla determinanty węglowodanowej, galaktozy- α -1,3-galaktozy (α -Gal), obecnej w ślinie kleszcza. Te przeciwciała mogą reagować krzyżowo z cząsteczkami α -Gal eksponowanymi na białkach mięsa ssaków.

Material i metody:

Zaprojektowano i wykonano wieloetapowy, dwustronny test hamowania w fazie stałej na podłożach ImmunoCAP. Schemat blokowania zakładał z jednej strony wiązanie przez α -Gal przeciwciał IgE swoistych dla alergenów mięsa różnych ssaków (o215-IT) z drugiej zaś

wiązanie przeciwciał IgE anty- α -Gal przez alergeny mięsa wołowego (f27-IT). Obydwa modele testów hamowania zostały przeprowadzone w fazie stałej (podłoże celulozowe ImmunoCAP). W testach jako nośnik i źródło alergenów, zarówno wołowiny jak i α -Gal, wykorzystano komercyjnie dostępne CAP reakcyjne (gąbka celulozowa), będące elementem standardowego systemu ImmunoCAP.

Badania wykonano według procedury „Model eksperymentalny 3”, którą opisano powyżej, w rozdziale 4.3.3. Zaprojektowane metody eksperymentalne (testy hamowania), będące podstawą cyklu publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.

Ocenę skuteczności zaproponowanego testu hamowania przeprowadzono przez porównanie stężenia przeciwciał IgE, swoistych dla różnych alergenów, w surowicach badanych zmierzonego po testach hamowania z wyjściowym stężeniem tych przeciwciał (zmierzonym przed testem). Oznaczono stężenie przeciwciał IgE swoistych dla α -Gal oraz alergenów mięsa wołowego, wieprzowego, końskiego, króliczego, baraniny/jagnięciny oraz żelatyny wołowej i mięs drobiowych (indyk, kurczak). Jako kontrolę swoistości blokowania przeciwciał IgE dla α -Gal oraz mięs ssaczych wykorzystano stężenie IgE swoistych dla innych alergenów pokarmowych i powietrzno pochodnych, o których wiadomo, że nie reagują krzyżowo z α -Gal (rodzaj alergenów był zależny od indywidualnego profilu uczulenia pacjentów, od których pochodziły surowice badane). Dwukrotnie, przed i po testach hamowania, zmierzono również stężenie całkowite IgE.

Stężenie przeciwciał swoistych IgE przed testem i po teście hamowania zmierzono standardowymi metodami, rutynowo stosowanymi w diagnostyce alergii in vitro. Wykorzystano zarówno technikę jednoparametrową (fluoro-immuno-enzymatyczną; ang. fluoro-immuno-enzymatic; FEIA) na analizatorze Phadia100 (ImmunoCAP 100 system, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA), jak i metody wieloparametrowe: ISAC_{E112i} (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) i ALEX² (AllergyXplorer, MacroArray Diagnostics; MADx).

Eksperyment powtórzono trzykrotnie na materiale biologicznym (surowica krwi) pobranym od osób, u których wykryte zostało rzadkie uczulenie na α -Gal (stężenie IgE anty- α -Gal było $\geq 0,35$ kUA/L) oraz na mięso ssacze, w tym przynajmniej wołowinę (stężenie IgE anty-wołowina było $\geq 0,35$ kUA/L). Manifestacja kliniczna tych uczuleń, w szczególności uczulenia na α -Gal, u poszczególnych pacjentów była bardzo różna. Nie miało to wpływu na wynik testu immunochemicznego.

Wyniki:

U wszystkich pacjentów uzyskano podobne wyniki zaproponowanego, eksperymentalnego, dwustronnego testu hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT). Stężenie całkowite IgE po testach hamowania było niższe od wartości wyjściowych w każdym zastosowanym modelu.

Zaobserwowano spadek stężenia przeciwciał IgE anti- α -Gal zarówno po hamowaniu na CAP opłaszczonych α -Gal (o215-IT) jak i na CAP opłaszczonych alergenami ekstraktu wołowiny (f27-IT). Spadek stężenia IgE anti- α -Gal w teście o215-IT był wyższy niż w teście f27-IT. Sugeruje to, iż antygen α -Gal skuteczniej wiązał przeciwciała IgE anti- α -Gal niż wołowina.

W odniesieniu do IgE swoistych dla alergenów różnych rodzajów mięsa po zablokowaniu na membranie ImmunoCAP pokrytej α -Gal (o215-IT) w surowicy każdego pacjenta zaobserwowano znaczne obniżenie wyjściowego stężenia przeciwciał IgE dla alergenów mięsa wołowego (do 100% włącznie) oraz alergenów mięsa innych ssaków (wieprzowina, królik, mięso końskie, mięso baranie).

W drugim modelu testu inhibicji (f27-IT) zaobserwowano prawie 100% redukcję stężenia przeciwciał IgE swoistych dla alergenów wołowiny. Stężenia przeciwciał IgE swoistych dla mięsa ssaków innego niż wołowina (wieprzowina, królik, mięso końskie, mięso baranie) również uległy obniżeniu, ale redukcja nie była tak skuteczna jak w przypadku wiązania na membranach opłaszczonych α -Gal (o215-IT).

Obserwacje wydają się potwierdzać krzyżowo reaktywny charakter reakcji na alergeny mięsa ssaczego u osób uczulonych na α -Gal

W obydwu modelach nie zaobserwowano ukierunkowanych, znaczących zmian w stężeniu przeciwciał IgE swoistych dla nie mięsnych alergenów pokarmowych i alergenów powietrzno pochodnych. Co z jednej strony potwierdza, skuteczność zaproponowanego modelu hamowania do badania reaktywności krzyżowej alergenów.

Wnioski:

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają wnioskować, że zaproponowany model dwustronnego hamowania na membranach ImmunoCAP może być skutecznym narzędziem do badania reaktywności krzyżowej alergenów.

Publikacja nr 4:

Lis Kinga, Ukleja-Sokołowska Natalia, Karwowska Kornelia, Wernik Joanna, Pawłowska Małgorzata, Bartuzi Zbigniew. Clinical use of the ImmunoCAP inhibition test in the diagnosis of meat allergy caused by a tick bite in an adult male with no previous atopic history. Life-Basel 2023: Vol. 13, nr 3, s. 1-12, 699. (*IF: 3.200; MNiSW: 70.000*)

Cel pracy:

Celem pracy była ocena możliwości i przydatności zastosowania testów hamowania ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT) w warunkach klinicznych. W pracy zaproponowano lokalizację testów hamowania w postępowaniu diagnostycznym.

Wprowadzenie merytoryczne:

Zespół α -Gal (AGS) jest poważną, potencjalnie zagrażającą życiu reakcją alergiczną. Jest to rodzaj alergii pokarmowej na czerwone mięso i inne produkty pochodzące od ssaków (np. żelatynę). W Polsce problem ten wydaje się być rzadki lub, co bardziej prawdopodobne, bardzo niedodiagnozowany. Rozpoznanie AGS jest trudne. Wydaje się, że wiedza na temat tego zespołu jest niewystarczająca. Nie ma skutecznych narzędzi diagnostycznych, które pozwoliłyby jednoznacznie zdiagnozować tę alergię krzyżową. W pracy przedstawiono przykład klinicznego zastosowania niestandardowej metody jaka jest zaproponowany test hamowania ImmunoCAPw diagnostyce alergii krzyżowej na przykładzie AGS.

Material i metody:

Praca jest kontynuacją i rozszerzeniem badań będących przedmiotem publikacji nr 3.

Badanie wykonano w surowicy krwi pacjenta z ciężkimi reakcjami anafilaktycznymi prawdopodobnie związanymi ze spożyciem mięsa wołowego lub wieprzowego z towarzyszącym kofaktorem, u którego zdiagnozowano zespół α -Gal.

Przeprowadzona diagnostyka in vitro przebiegała w kilku etapach:

Etap 1: Test przesiewowyALEX² (Allergy Xplorer, Macro Array Diagnostics; MADx).

Etap 2: Oznaczenie stężenia całkowitego IgE oraz IgE swoistych dla pojedynczych alergenów (α -Gal, wołowina, wieprzowina, baranina, mięso królika, żelatyna wołowa, mięso kurczaka,

mięso indyka) metodą standardową ImmunoCAP na analizatorze Phadia100 (ImmunoCAP 100 system, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Etap 3: Wykonanie testu hamowania na podłożach ImmunoCAP opłaszczonych następującymi alergenami: α -Gal, wołowina, wieprzowina, baranina, mięso królika, żelatyna wołowa, mięso kurczaka, mięso indyka. Etap ten jest przykładem zastosowania niestandardowej metody, jaką jest zaproponowany dwustronny test hamowania ImmunoCAP w schemacie diagnostycznym w warunkach klinicznych.

Badania wykonano według procedury „Model eksperymentalny 4”, którą opisano powyżej, w rozdziale 4.3.3. Zaprojektowane metody eksperymentalne (testy hamowania), będące podstawą cyklu publikacji składających się na główne osiągnięcie naukowe.

Skuteczność blokowania oceniono dwustronnie i wielopunktowo:

- porównując stężenie IgE swoistych dla alergenów mięsa (wołowina, wieprzowina, baranina, królik), żelatyny wołowej, mięsa drobiowego (kurczak, indyk) oraz α -Gal po blokowaniu na podłożach ImmunoCAP opłaszczonych α -Gal do stężenia wyjściowego tych przeciwciał w surowicy badanej
- porównując stężenie IgE swoistych dla α -Gal w surowicy po blokowaniu na podłożach ImmunoCAP opłaszczonych wymienionymi powyżej antygenami mięsa ssaków oraz mięsa drobiowego i żelatyny do stężenia wyjściowego tych przeciwciał w surowicy badanej.

Wyniki:

Wyjściowe stężenie przeciwciał IgE anti- α -Gal w surowicy było bardzo wysokie (302 kUA/l). W surowicy badanej obecne były przeciwciała IgE swoiste dla alergenów mięsa ssaków (wołowina, wieprzowina, baranina, królik). Nie wykryto przeciwciał IgE swoistych dla alergenów mięsa drobiowego (kurczak, indyk) oraz dla żelatyny wołowej. Po teście hamowania na membranach ImmunoCAP opłaszczonych α -Gal stężenie przeciwciał IgE swoistych dla alergenów mięsa ssaków obniżyło się. Największy spadek stężenia dotyczył przeciwciał IgE swoistych dla wołowiny (35,54%), zaś najslabiej blokowana była odpowiedź swoista dla mięsa królika (26,22%). Test nie miał wpływu na stężenie przeciwciał dla mięsa drobiowego oraz

żelatyny wołowej, które były niewykrywalne zarówno przed jak i po teście blokowania na membranie opłaszczonej α -Gal.

Z drugiej strony, w surowicy poddanej testom hamowania na membranach ImmunoCAP opłaszczonych alergenami mięsa różnych ssaków (wołowina, wieprzowina, baranina, królik) stężenie przeciwciał IgE anty- α -Gal obniżyło się w porównaniu z wartością wyjściową. Przeciwciała IgE swoiste dla α -Gal były najsilniej wiązane przez białka ekstraktu mięsa wołowego (46,69%), a najsłabiej przez białka ekstraktu mięsa królika (12,25%). Blokowanie na membranie opłaszczonej ekstraktem żelatyny wołowej obniżało stężenie przeciwciał IgE anty- α -Gal jedynie 2,32%. Nie zaobserwowano, aby białka ekstraktów mięsa drobiowego (kurczaka, indyka) blokowały przeciwciała IgE swoiste dla α -Gal.

Wnioski:

Wydaje się, że testy hamowania na membranach ImmunoCAP (ImmunoCAP-IT) mogą stać się użytecznym narzędziem w diagnostyce alergii krzyżowych. W opisanej sytuacji klinicznej test ImmunoCAP-IT został z powodzeniem zastosowany w procesie diagnostycznym pacjenta, u którego ostatecznie zdiagnozowano zespół α -Gal, będący skutkiem pierwotnego uczulenia na α -Gal, które rozwinęło się po ukąszeniu przez kleszcza. Opisane w ramach tej publikacji badanie, w odróżnieniu od eksperymentu 3 (publikacja 3), miało na celu nie tylko skonstruowanie modelu doświadczalnego testu, ale przede wszystkim wskazanie możliwości jego zastosowania w warunkach klinicznych. Dlatego w publikacji nr 4, będącej pracą oryginalną, szczegółowo opisano doświadczenie zachowując układ charakterystyczny dla opracowań badawczych. Jednym z głównych walorów tej publikacji, obok dokładnego opisu niestandardowego badania, jest wskazanie optymalnej lokalizacji tego typu testów w procesie diagnostycznym

4.3.5. Podsumowanie i Wnioski

W przedstawionym cyklu prac stanowiących główne osiągnięcie naukowe opisano cztery modele eksperymentalne testów hamowania (IT). Modele te zostały w całości zaprojektowane samodzielnie. Wszystkie modele testów hamowania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem surowic pochodzących od pacjentów, co pozwoliło zaobserwować kliniczne efekty badanego zjawiska reaktywności krzyżowej. Ważnym aspektem pracy było uwzględnienie zmienności i poliklonalności naturalnie wytwarzanych przeciwciał, w kontekście rozpoznawania antygenów o podobnej strukturze epitopów.

Wyniki wykonanych badań pozwoliły zaobserwować, że wszystkie zaproponowane modele testów hamowania są skutecznym narzędziem do badania reaktywności krzyżowej alergenów. Ponadto analiza otrzymanych wyników wskazuje, iż testy hamowania w fazie ciekłej są skuteczniejsze niż w fazie stałej. Z kolei niezaprzeczalną zaletą wykorzystania podłoż komercyjnie opłaszczonych standaryzowanymi alergenami (matryce ImmunoCAP) może być powtarzalność uzyskiwanych wyników.

Ostatnim celem pracy była ocena przydatności testów hamowania w procesie diagnostycznym. Skuteczność tej metody do rozpoznawania pierwotnej przyczyny uczulenia, w przypadku podejrzenia alergii będącej skutkiem reaktywności krzyżowej, została wykazana na przykładzie konkretnego procesu diagnostycznego. Podobna strategia została już wcześniej opisana w pracy, której jestem trzecim autorem, a w której również odpowiadałam za opracowanie metodyki (Ukleja-Sokołowska N, Gawrońska-Ukleja E, **Lis K**, Żbikowska-Gotz M, Sokołowski Ł, Bartuzi Z. Anaphylactic reaction in patient allergic to mango. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2018 Oct 31;14:7; *publikacja nie wchodzi w skład głównego osiągnięcia naukowego*). W opisanym procesie eksperymentalnym z powodzeniem zastosowałam testy hamowania zarówno w fazie płynnej z wykorzystaniem naturalnie pozyskanych ekstraktów alergenów (seler, słonecznik) jak i komercyjnie opłaszczonych membran ImmunoCAP (seler, słonecznik, komponenty bylicy – Art v 1 i Art v 3) w badaniu charakteru reakcji alergicznych na seler lub słonecznik u osób pierwotnie uczulonych na pyłek bylicy. Wyniki tych badań są w trakcie opracowania i przygotowywania publikacji, z których jedna jest aktualnie na etapie końcowych poprawek i rokuje publikację (Ukleja-Sokolowska N, **Lis K**, Graczyk M, Bartuzi M, Bartuzi Z. The use of inhibition assay in Api g 7 suspected allergy in a female patient with anaphylaxis – case report. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*).

Wyniki badań przedstawionych w publikacjach (1-4) będących udokumentowaniem głównego osiągnięcia naukowego oraz innych opublikowanych lub opracowywanych do publikacji badań wykonanych przeze mnie z zastosowaniem różnych modeli testów hamowania sugerują, że zaproponowane testy hamowania mogą być przydatnym narzędziem diagnostycznym, szczególnie w przypadkach uczuleń o niejasnym lub nieoczywistym podłożu, w których alergen sprawczy jest trudny do ustalenia.

4.4. Omówienie innych kierunków badawczych

4.4.1. Cykl publikacji naukowych pt. **Markery degradacji chrząstki stawowej w chorobie zwyrodnieniowej stawów**

Cykl stanowi 17 prac w tym 9 publikacji oryginalnych (publikacje 1-9) i 8 publikacji poglądowych (publikacje 10-17) poruszających problematykę choroby zwyrodnieniowej stawów. Prace poglądowe opisują szczegółowo markery uszkodzenia chrząstki stawowej oraz struktur kostnych budujących staw. Wskazują na możliwość zastosowania tych analitów w diagnostyce chorób zwyrodnieniowych stawów o różnej etiologii. W cyklu poruszono również możliwość zastosowania płynu stawowego jako materiału biologicznego szczególnie przydatnego w diagnostyce zmian zwyrodnieniowych stawach. Płyn stawowy jako materiał pobrany bezpośrednio z miejsca toczących się, niejednokrotnie ograniczonych do danej jamy stawowej, zmian zwyrodnieniowych może odzwierciedlać lokalne zmiany zapalne oraz degeneracyjne w stawie objętym zwyrodnieniem. Ponieważ staw jest struktura zamknięta, a chrząstka stawowa nie jest ukrwiona, zmiany zachodzące w przestrzeni jamy stawowej mogą nie mieć przełożenia na parametry mierzone w surowicy krwi. W cyklu zawarto również wyniki badań, obejmujące analizę stężenia cytokin oraz różnych markerów uszkodzenia chrząstki stawowej i/lub kości w płynie stawowym w odniesieniu do zmian tożsamyh parametrów w surowicy. Do cyklu włączono również jedną pracę poglądową (publikacja 17) poświęconą wpływowi naturalnej suplementacji hakoroślą rozesełaną (czarci pazur) na regenerację chrząstki stawowej. Praca jest analizą ówczesnie dostępnych publikacji z tego zakresu. Jestem pierwszym (2) lub jedynym (15) autorem w tym cyklu publikacji.

Cykl powstał w okresie, gdy byłam pracownikiem Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej (Wydział Farmaceutyczny) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzą w skład omawianego kierunku badań:

- 1) **Lis Kinga**. Ocena stężenia cytokin oraz markerów obrotu kostnego i uszkodzenia chrząstki stawowej w płynie stawowym i surowicy osób ze zmianami zwyrodnieniowymi stawów. *Med. Biol. Sci.* 2005 : T. 19, nr 5, s. 99-100.
- 2) **Lis Kinga**, Sypniewska Grażyna, Nowacki Wiesław. IGF-1, citokini i biokemijski biljezi kostane pregradnje u sinovijalnoj tekucini i serum u bolesnika s primarnim i sekundarnim osteoartritisom kuka. *Biochem. (Równoczesny tekst w j. angielskim) Med.* 2006 : Vol. 16, nr 2, s. 127-136. *MNiSW: 3.000*
- 3) **Lis Kinga**, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Nowacki Wiesław. Ocena stężenia IGF-1 w surowicy krwi i płynie stawowym u kobiet ze zmianami zwyrodnieniowymi stawu

- biodrowego o różnej etiologii. Chir. Narządów Ruchu Ortop. Pol. 2006 : T. 70, nr 6, s. 407-410. **MNiSW: 5.000**
- 4) **Lis Kinga.** Wybrane wskaźniki przebudowy kości u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Reumatologia 2007 : T. 45, nr 3, s. 132-136. **MNiSW: 3.000**
 - 5) **Lis Kinga.** Insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1) i hormon wzrostu (hGH) jako wskaźniki choroby zwyrodnieniowej stawów. Chir. Narządów Ruchu Ortop. Pol. 2008: T. 73, nr 1, s. 49-52. **MNiSW: 6.000**
 - 6) **Lis Kinga.** Stężenie białka MGP w surowicy pacjentów w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów. Reumatologia 2008 : T. 46, nr 1, s. 1-5. **MNiSW: 4.000**
 - 7) **Lis Kinga.** Przydatność oznaczania COMP i C2C w surowicy w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów. Reumatologia 2009 : T. 47, nr 1, s. 15-19. **MNiSW: 4.000**
 - 8) **Lis Kinga.** Porównanie stężenia wybranych wskaźników biochemicznych choroby zwyrodnieniowej stawów w surowicy chorych w różnym wieku. Markery choroby zwyrodnieniowej a wiek. Stud. Med. 2010 : T. 18, s. 29-33. **MNiSW: 2.000**
 - 9) **Lis Kinga.** Ocena wskaźników procesu zapalnego we krwi chorych w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej. Stud. Med. 2011 : T. 21, s. 33-38. **MNiSW: 4.000**
 - 10) **Lis Kinga,** Odrowąż-Sypniewska Grażyna. Rola katepsyny K w powstawaniu zmian zwyrodnieniowych w stawach. Ortop. Traumatol. Rehab. 2005 : Vol. 7, nr 4, s. 361-364. **MNiSW: 5.000**
 - 11) **Lis Kinga.** Biochemiczne wskaźniki choroby zwyrodnieniowej stawów. Ann. Acad. Med. Siles. 2008 : Vol. 62, nr 2, s. 123-130. **MNiSW: 4.000**
 - 12) **Lis Kinga** Katarzyna. CTx-II jako nowy wskaźnik degradacji chrząstki stawowej. Stud. Med. 2008 : T. 9, s. 37-40.
 - 13) **Lis Kinga.** Płyn stawowy w diagnostyce laboratoryjnej. Słupskie Pr. Biol. 2008, nr 5, s. 103-113. **MNiSW: 2.000**
 - 14) **Lis Kinga.** Rola osteopontyny w patogenezie zapalenia stawów. Reumatologia 2008 : T. 46, nr 6, s. 240-244. **MNiSW: 4.000**
 - 15) **Lis Kinga.** Sialoproteina kostna w diagnostyce laboratoryjnej choroby zwyrodnieniowej stawów. Ortop. Traumatol. Rehab. 2008 : Vol. 10, nr 3, s. 211-217. **MNiSW: 6.000**
 - 16) **Lis Kinga.** Bone sialoprotein as a biochemical marker of subchondral bone turnover. Ann. UMCS Sect. C 2009 : Vol. 64, nr 1, s. 7-14. **MNiSW: 4.000**
 - 17) **Lis Kinga.** Diabelska moc czarciego pazura. Reumatologia 2010 : T. 48, nr 2, s. 128-132. **MNiSW: 6.000**

Łączna punktacja dla cyklu prac wynosi: MNiSW: 58.000

4.4.2. Cykl publikacji naukowych pt. Wpływ fazy przedanalizacyjnej na wyniki badań laboratoryjnych

Na cykl składa się 6 publikacji poglądowych, których jestem jedynym (5) lub drugim (1) autorem (w przypadku tej publikacji, nr 6, byłam jej pomysłodawcą i opiekunem merytorycznym). Jest on poświęcony niezwykle ważnemu, z punktu widzenia jakości wyników badań laboratoryjnych, tematowi jakim jest faza przedanalizacyjna badania laboratoryjnego. Faza przedanalizacyjna badania stanowi znaczący procent całego procesu badania materiału biologicznego. Jest to proces bardzo mało lub całkowicie niezautomatyzowany, jednocześnie angażujący bardzo dużą grupę różnych pracowników medycznych (jak np. lekarz zlecający badanie, czy personel pielęgniarski pobierający materiał do badań) oraz samego pacjenta. Na jakość wyniku badania laboratoryjnego składa się nie tylko dobór metody czy aparatury badawczej, ale również pobranie i przygotowanie materiału do badań, jego transport i przechowywanie przed wykonaniem procedury analitycznej. Niezwykle istotnym aspektem tej fazy jest także właściwe przygotowanie się pacjenta. Na przygotowanie pacjenta wpływ ma personel medyczny udzielający pacjentowi różnych wskazówek dotyczących tego zagadnienia (zwykle jest to lekarz lub pielęgniarka). Przedstawiony cykl publikacji porusza zarówno aspekty związane z pacjentem i jego przygotowaniem do badania laboratoryjnego (publikacja 1 i 4), techniką pobrania krwi w kontekście rezultatów badań laboratoryjnych (publikacja 5) oraz wpływem czasu i warunków przechowywania na wyniki analiz laboratoryjnych wybranych analitów (publikacje 2 i 3).

Cykl powstał w okresie, gdy byłam pracownikiem Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej (Wydział Farmaceutyczny) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) **Lis Kinga.** Wpływ spożycia alkoholu etylowego na wyniki badań laboratoryjnych. Alkohol. Narkom. 2009 : T. 22, nr 1, s. 65-73. *MNiSW: 4.000*
- 2) **Lis Kinga.** Wpływ temperatury przechowywania surowicy krwi ludzkiej na stężenie interleukiny 12. Diagn. Lab. 2009 : T. 45, nr 4, s. 309-313. *MNiSW: 2.000*
- 3) **Lis Kinga.** Wpływ temperatury przechowywania surowicy krwi ludzkiej na stężenie interleukiny 13. Stud. Med. 2012 : T. 25, nr 1, s. 25-30. *MNiSW: 4.000*
- 4) **Lis Kinga.** Influence of diet on the results of laboratory tests. Stud. Med. 2013 : T. 29, nr 4, s. 349-354. *MNiSW: 3.000*
- 5) **Lis Kinga.** Influence of method of venous blood collection on the blood cell count determination result. Stud. Med. 2013 : T. 29, nr 3, s. 251-254. *MNiSW: 3.000*

- 6) Kowalczyk Wojciech, Lis Kinga, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew. Ślina jako materiał biologiczny przydatny w diagnostyce alergii na pokarmy. *Alergia Astma Immunol.* 2020 : T. 25, nr 1, s. 19-23. *MNiSW: 20.000*

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: *MNiSW: 36.000*

4.4.3. Cykl publikacji naukowych pt. Potencjał alergenowy substancji dodatkowych dodawanych do żywności, leków, kosmetyków – ukryte alergeny

Na cykl prac składa się 14 publikacji poglądowych, których jestem jedynym (3) lub pierwszym (11) autorem. Prace w całości poświęcone są rzadko poruszanej tematyce ukrytych alergenów pokarmowych. Tematyka ta jest niezwykle istotna, ze względu na to, iż współcześnie spożywana żywność jest poddawana różnym procesom przetwarzania mającym na celu przedłużenie jej trwałości, poprawę walorów organoleptycznych (jak kolor, struktura smak i zapach). Przepisy regulujące przetwórstwo żywności szczegółowo podają wykaz dopuszczalnych dodatków, ich zastosowanie, ograniczenia stosowania i maksymalne stężenie w ostatecznym produkcie. Różne dodatki do żywności są także szczegółowo scharakteryzowane i zbadane, przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority, EFSA), pod względem bezpieczeństwa ich stosowania i spożywania przez ludzi, w określonych dawkach dopuszczalnych. Analizowana jest również możliwość wywołania przez te substancje różnych reakcji alergicznych. Przedstawione w cyklu publikacje mają zwrócić uwagę na to, że dodatki do żywności mogą być przyczyną różnego rodzaju nadwrażliwości w tym także ciężkich reakcji alergicznych oraz, że warto wziąć taką możliwość pod uwagę w procesie diagnostycznym. Wydaje się to być szczególnie istotne w tych przypadkach, w których czynnik sprawczy pomimo przeprowadzenia szczegółowej, dostępnej diagnostyki, pozostaje nieokreślony. W szczególności w cyklu skupiono się na dodatkach do żywności, takich jak barwniki konserwanty, zagęstniki czy środki teksturujące. W pracach analizowana jest dostępna literatura naukowa poświęcona tej tematyce, w tym opracowania dotyczące mechanizmów nadwrażliwości na te substancje, które niejednokrotnie nie zostały do tej pory ostatecznie wyjaśnione. Analizowane są też opublikowane przez różne zespoły przypadki kliniczne, w których podejrzewano nadwrażliwość na dodatki do żywności jako przyczynę obserwowanych u pacjentów reakcji klinicznych o różnych typach manifestacji i nasilenia objawów. W publikacjach analizowano również prowadzone w tych przypadkach postępowanie diagnostyczne. Skupiono się na dostępnych aktualnie możliwościach diagnostyki oraz analizowano zastosowanie niestandardowych metod diagnostycznych w przypadkach, gdy

metody walidowane nie były dostępne. Zwrócono także uwagę na aktualne możliwości diagnostyki in vitro w przypadku podejrzenia nadwrażliwości na dodatki do żywności. Cykl będzie rozbudowany o następne publikacje. Opracowania te stanowią cenne i chętnie wykorzystywane źródło informacji dla osób przygotowujących się do egzaminu specjalizacyjnego z alergologii. Planowane jest przygotowanie monografii na podstawie tego cyklu prac.

Cykl powstał w czasie aktualnego zatrudnienia w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Naturalne i identyczne z naturalnymi barwniki spożywcze a alergię pokarmowe. *Alergia Astma Immunol.* 2020: T. 25, nr 2, s. 95-103. **MNiSW: 20.000**
- 2) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Koszenila: alergen wielu możliwości. *Alergia2021*, nr 1, s. 34-42. **MNiSW: 5.000**
- 3) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Nadwrażliwość na tartrazynę: czy to istotny problem. *Alergia 2021*, nr 2, s. 19-23. **MNiSW: 5.000**
- 4) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Czy zielone może szkodzić - nadwrażliwość na zielone barwniki spożywcze. *Alergia 2021*, nr 3, s. 28-32. **MNiSW: 5.000**
- 5) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Zachwyceni błękitem: niebieskie jedzenie a alergię - szkodzi czy leczy. *Alergia2021*, nr 4, s. 34-39. **MNiSW: 5.000**
- 6) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Glutaminian sodu a zespół chińskiej restauracji. *Alergia 2022*, nr 2, s. 21-28. **MNiSW: 5.000**
- 7) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Gummy spożywcze a nieoczekiwane reakcje alergiczne. *Alergia 2022*, nr 2, s. 34-42. **MNiSW: 5.000**
- 8) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Poliole a ryzyko reakcji alergicznych. *Alergia 2022*, nr 3, s. 22-29. **MNiSW: 5.000**
- 9) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Kwas sorbowy, kwas benzoowy i ich sole oraz parabeny jako przyczyna reakcji nadwrażliwości. *Alergia 2022*, nr 4, s. 32-39. **MNiSW: 5.000**
- 10) **Lis Kinga**. Pektyny a alergię – wróg czy przyjaciel. *Alergia 2023*, nr 1, s. 16-24. **MNiSW: 5.000**
- 11) **Lis Kinga**. Substancje glazurujące jako przyczyna nadwrażliwości kontaktowej. *Alergia*, 2023, nr 2, s. 13-20. **MNiSW: 5.000**

- 12) **Lis Kinga**. Wanilia i wanilina kontra reakcje nadwrażliwości. *Alergia*, 2023, nr 3, s.13-19. **MNiSW: 5.000**
- 13) **Lis Kinga**. Alergia na lanolinę – prawda czy fałsz. *Alergia*, 2023, nr 4, (w druku) **MNiSW: 5.000**
- 14) **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew. Plant food dyes with antioxidant properties and allergies - friend or enemy? *Antioxidants*, 2023 : Vol. 12, nr 7, s. 1-18, 1357. **IF: 7.000; MNiSW: 140.000**

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: IF: 7.000; MNiSW: 220.000

4.4.4. Cykl publikacji naukowych pt. Techniki analityczne i immunochemiczne wczoraj i dziś

Na ten cykl publikacji składają się 4 opracowania poglądowe, których jestem jedynym lub pierwszym autorem. Cykl skupia się na rozwoju i historycznych aspektach diagnostyki laboratoryjnej oraz pokazuje jak zmieniające się techniki analityczne wpływały na rozwój możliwości diagnostyki laboratoryjnej zarówno w aspekcie zastosowań laboratoryjnych i klinicznych jak i zastosowań domowych (jak np. testy do samodiagnostyki i samokontroli) oraz badań laboratoryjnych przyłożkowych (jak testy z grupy Point of Care; POCT). Cykl ten może być ciekawą i profesjonalną lekturą zarówno dla osób zgłębiających aspekty historii diagnostyki laboratoryjnej, jak i praktycznym podręcznikiem w aspekcie współczesnych technik diagnostycznych, szczególnie w odniesieniu do szczegółowo omówionych (publikacja 4) technik immunochemicznych.

Cykl obejmuje prace napisane zarówno w czasie poprzedniego zatrudnienia, w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej (Wydział Farmaceutyczny) (publikacja 1), jak i obecnego, w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) (publikacje 2-4) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) **Lis Kinga**. Odczyn Biernackiego wczoraj i dziś. *Diagn. Lab.* 2012 : T. 48, nr 2, s. 213-218. **MNiSW: 2.000**
- 2) **Lis Kinga**. Bartuzi Zbigniew. Testy wieloparametrowe do diagnostyki molekularnej alergii: aktualne możliwości. *Alergia Astma Immunol.* 2020 : T. 25, nr 3, s. 122-140. **MNiSW: 20.000**
- 3) **Lis Kinga**. Bartuzi Zbigniew. Selected technical aspects of molecular allergy diagnostics. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2023 : Vol. 45, nr 7, s. 5481-5493. **IF: 3.100; MNiSW: 70.000**

- 4) **Lis Kinga.** From cereal grains to immunochemistry - what role have antibodies played in the history of the home pregnancy test. *Antibodies*, 2023, vol. 12, nr 3, s.1-23, **IF: 4.700; MNiSW: 70.000**

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: IF: 7.800; MNiSW: 162.000

4.4.5. Cykl publikacji naukowych pt. Równowaga cytokinowa w płynie pęcherzykowym a zaburzenia płodności. Cykl we współpracy z Kliniką Ginekologii i Położnictwa (Wydział Lekarski) Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu

Na ten cykl prac składają się 4 publikacje (w tym jedna pogładowa (publikacja 1) oraz 3 oryginalne (publikacje 2,3,4), które powstały we współpracy z Kliniką Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu.

Pomimo, iż w tym cyklu publikacji jestem trzecim autorem to moja rola polegała na doborze oznaczanych parametrów immunologicznych, opracowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego do oraz wykonaniu wszystkich analiz laboratoryjnych. Bez tego wkładu (zarówno merytorycznego jaki i przede wszystkim praktycznego) powstanie publikacji oryginalnych, stanowiących większą część cyklu, nie byłoby możliwe.

Wiadomym jest, że płodność oraz ciąża, w tym cały proces owulacji, zapłodnienia, implantacji jak i prawidłowego rozwoju zarodka i płodu, aż do porodu jest zależny od bardzo rozbudowanych a jednocześnie subtelnych regulacji i oddziaływań pomiędzy matką a płodem, za które odpowiada układ immunologiczny. Cykl poświęcony jest związkom pomiędzy procesami immunologicznymi w tym równowagą cytokinową zaburzeniami płodności. Nowatorskim aspektem tego cyklu prac jest zastosowanie niekonwencjonalnego materiału do badań laboratoryjnych, jakim jest płyn pęcherzykowy. Płyn pęcherzykowy (Follicular Fluid; FF) jest to płyn składający się głównie z hormonów, enzymów, antykoagulantów, elektrolitów, który wypełnia jamę pęcherzyka Graafa i jest niezbędny do prawidłowego rozwoju i odżywienia oocytu. Uważa się, że płyn pęcherzykowy jest kluczowy w procesie naturalnego zapłodnienia. Ułatwia lub wręcz umożliwia komunikację między gametami i wspomaga rozwój w pełni żywotnych zarodków. Dlatego zrozumienie równowagi cytokinowej w płynie pęcherzykowym może być niezwykle istotne w zrozumieniu przyczyn niepowodzeń prokreacyjnych. To z kolei może w przyszłości znaleźć przełożenie na zwiększenie możliwości i większą skuteczność zarówno procesów diagnostycznych jak i terapeutycznych w przypadkach niepłodności.

Cykl powstał w czasie aktualnego zatrudnienia w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu,

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Dubiel Mariusz. Function of follicular cytokines: roles played during maturation, development and implantation of embryo. *Medicina-Lithuania* 2021 : Vol. 57, nr 11, s. 1-10;, 1251. **IF: 2.948; MNiSW: 40.000**
- 2) Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Dubiel Mariusz. Concentrations of matrix metalloproteinase 9, interleukin 4, and interleukin 8 in follicular fluid, and the results of in vitro fertilization. *J. Int. Med. Res.* 2022 : Vol. 50, nr 9, s. 1-17. **IF: 1.600; MNiSW: 40.000**
- 3) Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Dubiel Mariusz. Progesterone-induced blocking factor I and cytokine profile of follicular fluid of infertile woman qualified to in vitro fertilization : the influence on fetus development and pregnancy outcome. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2022 : Vol. 36 **IF: 3.500; MNiSW: 70.000**
- 4) Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Dubiel Mariusz. Assessment of RANTES, MIP4A, MMP7, MMP9, MMP14, TIMP 1, TIMP 2 and TIMP 3 concentration in the follicular fluid of patients undergoing in vitro fertilization/embryo transfer procedure. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2023 : T. 40, nr 1, s. 119-125. **IF: 1.400; MNiSW: 70.000**

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: IF: 9.448; MNiSW: 180.000

4.4.6. Cykl publikacji naukowych pt. Analiza molekularnego/komponentowego profilu uczulenia na alergeny krewetek i owoców morza w powiązaniu z uczuleniem na alergeny roztoczy kurzu domowego

Na ten cykl publikacji składa się 6 prac oryginalnych. Założeniem była analiza molekularnego/komponentowego profilu uczulenia na alergeny krewetek i innych owoców morza oraz ich pasożytów u osób wykazujących objawy uczulenia na roztocza kurzu domowego. Jest to ciekawy materiał dający wgląd w charakter uczulenia i ewentualnych reakcji krzyżowych populacji regionu kujawsko-pomorskiego.

Mój udział w powstaniu tych publikacji polegał na opracowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego, wykonaniu analiz laboratoryjnych, doborze testów immunologicznych oraz opisaniu/konsultacji merytorycznej metodyki wykonanych badań laboratoryjnych. Bez tego wkładu (szczególnie laboratoryjnego) powstanie tego cyklu publikacji nie byłoby możliwe.

Cykl powstał w czasie aktualnego zatrudnienia w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) Gawrońska-Ukleja Ewa, Ukleja-Sokołowska Natalia, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Sokołowski Łukasz, Bartuzi Zbigniew. Reakcja anafilaktyczna po spożyciu krewetki. *Alergia Astma Immunol.* 2018 : T. 23, nr 2, s. 86-91. **MNiSW: 9.000**
- 2) Ukleja-Sokołowska Natalia, Gawrońska-Ukleja Ewa, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Adamczak Rafał, Sokołowski Łukasz, Bartuzi Zbigniew. Shrimp sensitization in house dust mite allergic patients. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2020 : vol. 34, s. 1-8. **IF: 3.219; MNiSW: 70.000**
- 3) Ukleja-Sokołowska Natalia, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Assessment of TSLP, IL 25 and IL 33 in patients with shrimp allergy. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2021 : Vol. 17 **IF: 3.373; MNiSW: 70.000**
- 4) Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Adamczak Rafał, Kuźmiński Andrzej, Bartuzi Zbigniew. Clinical utility of immunological methods based on the singleplex and multiplex ImmunoCAP systems for diagnosis of shrimp allergy. *J. Int. Med. Res.* 2021 : Vol. 49, nr 4, s. 1-14. **IF: 1.573; MNiSW: 40.000**
- 5) Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. IgE, IgG, TSLP, Il 25 and IL 33 in symptomatic and asymptomatic patients sensitized to shrimp allergens. *Food Agricult. Immunol.* 2021 : Vol. 32, nr 1, s. 837-850. **IF: 3.268; MNiSW: 100.000**
- 6) Ukleja-Sokołowska Natalia, Gawrońska-Ukleja Ewa, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew. Analysis of the allergen profile of patients sensitized to shrimp based on ImmunoCAP immune solid-phase allergen chip results. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2020 : Vol. 125, nr 3, s. 355-357. **IF: 6.347; MNiSW: 70.000** (list do redakcji)

- 7) Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Marcelina, Żbikowska Magdalena, Adamczak Rafał, Bartuzi Zbigniew. Extended IgE profile of shrimp-sensitized patients based on Multiplex Examination ALEX² - Allergy Explorer. Postępy Dermatol. Alergol. 2023 (w druku) **IF: 1.400; MNiSW: 70.000**

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: IF: 19.18; MNiSW: 429.000 (w tym list do redakcji IF: 6.347; MNiSW: 70.000)

4.4.7. Cykl publikacji naukowych pt. Analiza molekularnego/komponentowego profilu uczulenia na alergeny zwierząt futerkowych

Na ten cykl publikacji składają się 2 prace oryginalne. Założeniem była analiza molekularnego/komponentowego profilu uczulenia na alergeny zwierząt futerkowych z populacji polskiej z obszaru województwa kujawsko-pomorskiego. Jest to ciekawy materiał dający wgląd w charakter uczulenia na alergeny zwierząt futerkowych, który może pomóc w spersonalizowaniu terapii tej alergii.

Mój udział w powstaniu tych publikacji polegał na opracowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego, wykonaniu analiz laboratoryjnych, doborze testów immunologicznych oraz opisaniu/konsultacji merytorycznej metodyki wykonanych badań laboratoryjnych. Bez tego wkładu (szczególnie laboratoryjnego) powstanie tego cyklu publikacji nie byłoby możliwe.

Cykl powstał w czasie aktualnego zatrudnienia w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) Ukleja-Sokołowska Natalia, Gawrońska-Ukleja Ewa, Żbikowska-Gotz Magdalena, Socha Ewa, **Lis Kinga**, Sokołowski Ł., Kuźmiński Andrzej, Bartuzi Zbigniew. Analysis of feline and canine allergen components in patients sensitized to pets. Allergy Asthma Clin. Immunol. 2016 : Vol. 12, s. 61, 1-9. **IF:2.869 MNiSW: 20.000**
- 2) Ukleja-Sokołowska Natalia, Gawrońska-Ukleja Ewa, Żbikowska-Gotz Magdalena, Socha Ewa, **Lis Kinga**, Sokołowski Łukasz, Bartuzi Zbigniew. Association of of IgE Can f2 and dyspnea in pet allergic patients. Ann. Allergy Asthma Immunol. 2017 : Vol. 119, nr 1, s. 86-88. **IF: 3.263; MNiSW: 30.000** (list do redakcji)

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: IF: 6.132; MNiSW: 50.000 (w tym list do redakcji IF: 3.263; MNiSW: 30.000)

4.4.8. Cykl publikacji naukowych pt. Adiopecytokiny w chorobach naczyniowych. Cykl we współpracy z Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych (Wydział Nauk o Zdrowiu) Collegium Medicum w Bydgoszczy, UMK w Toruniu

Na ten cykl publikacji składa się .. prac oryginalnych. Cykl powstał we współpracy z Katedrą Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych Wydziału nauk o Zdrowiu CM UMK. Założeniem była analiza stężenia adipocytokin u chorych na różnego typu choroby i zaburzenia funkcji naczyń krwionośnych. **Za część tego cyklu prac (publikacje 1-4), została przyznana Nagroda Zespołowa Rektora UMK (I stopnia).**

Mój udział w powstaniu tych publikacji polegał na opracowaniu i zabezpieczeniu materiału biologicznego, wykonaniu analiz laboratoryjnych, doborze testów immunologicznych oraz opisaniu/konsultacji merytorycznej metodyki wykonanych badań laboratoryjnych oraz pobierania i przechowywania materiału do badań. Bez tego wkładu (szczególnie laboratoryjnego) powstanie tego cyklu publikacji nie byłoby możliwe.

Cykl powstał w czasie aktualnego zatrudnienia w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) CM w Bydgoszczy UMK w Toruniu.

Cykl publikacji, które wchodzi w skład omawianego kierunku badań:

- 1) Wawrzączyk Anna, Anaszewicz Marzena, Banaś Wioletta, Szychalska-Zwolińska Marta, Socha Ewa, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Relationship of serum leptin with parameters of nutritional status and body composition among patients with stable course of cardiovascular disorders. Med. Res. J. 2018 : Vol. 3, nr 2, s. 89-97. **MNiSW: 6.000**
- 2) Anaszewicz Marzena, Wawrzączyk Anna, Czerniak Beata, Banaś Wioletta, Socha Ewa, Lis Kinga, Żbikowska-Gotz Magdalena*, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Leptin, adiponectin, tumor necrosis factor α , and irisin concentrations as factors linking obesity with the risk of atrial fibrillation among inpatients with cardiovascular diseases. Kardiol. Pol.2019 : T. 77, nr 11, s. 1055-1061. **IF: 1.874; MNiSW: 100.000**
- 3) Szychalska-Zwolińska Marta, Anaszewicz Marzena, Wiśniewska Joanna, Mieczkowski Artur, Banaś Wioletta, Czerniak Beata, Suppan Karol, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Blood adipocytokine concentration in patients with peripheral artery disease. Int. Angiol. 2020 : Vol. 39, nr 6, s. 500-8508 **IF: 2.789; MNiSW: 40.000**

- 4) Anaszewicz Marzena, Wiśniewska Joanna, Mieczkowski Artur, Wasielewski Marcin, Suppan Karol, Czerniak Beata, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 in patients with non-valvular atrial fibrillation. Med. Res. J. 2020 : Vol. 5, nr 3, s. 158-166. *MNiSW: 100.000*

- 5) Tojek Krzysztof, Anaszewicz Marzena, Szukay Beata, Czerniak Beata, Socha Ewa, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Banaszkiwicz Zbigniew, Budzyński Jacek. Circulating leptin, adiponectin, and tumor necrosis factor-alpha in patients undergoing surgery due to colorectal cancer. Digestion 2021 : Vol. 102, nr 2, s. 246-255. *IF: 3.672; MNiSW: 70.000*

- 6) Wawrzeńczyk Anna, Anaszewicz M., Szukay Beata, Banaś Wioletta, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Selected adipocytokine concentrations in patients hospitalized for exacerbated chronic heart failure. Med. Res. J.2022 : Vol. 7, nr 2, s. 142-150. *MNiSW: 100.000*

Łączna punktacja dla cyklu publikacji wynosi: IF: 8.335; MNiSW: 416.000

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. Nagrody za działalność naukową

Otrzymałam następujące nagrody za działalność naukową:

- 2019/2020 – Zespołowa Nagroda Rektora UMK - I stopnia
- 2011/2012 – Zespołowa Nagroda Rektora UMK - II stopnia
- 2004/2005 – Zespołowa Nagroda Rektora UMK - II stopnia
- 2013 – Wyróżnienie za pracę wygłoszoną podczas XV Jubileuszowego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu (PTŻPDiM)

5.2. Staże w innych jednostkach naukowo-badawczych oraz innych laboratoriach

- **11.10-15.10.2021 – staż w Laboratorium Immunologii Tkankowej, Centrum Medyczne Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Instytut Hirszfelda, Wrocław**
 - Doświadczenie zdobyte w ramach tego stażu pozwoliło mi poszerzyć wiedzę i umiejętności z zakresu immunologii tkankowej i cytotoksyczności komórkowej.
 - Ponadto zapoznałam się szczegółowo z metodologią analizy cytometrycznej opartej na kulkach fluorescencyjnych co planuję zaimplementować w moich dalszych badaniach i projektach badawczych w dziedzinie alergologii i immunologii, szczególnie w zakresie nowatorskich technik opartych na analizie cytofluorymetrycznej kulek fluorescencyjnych jako nośników epitopów alergenowych (bead-based epitope assay). Technika ta postrzegana jest jako bardzo sprawne narzędzie analityczne w zakresie diagnostyki alergii opartej o analizę uczulenia na specyficzne epitopy alergenowe, co w przyszłości może być podstawą medycyny spersonalizowanej w tym obszarze. Planuję swój dalszy rozwój naukowy skupić na tych technologiach.
- **27.09-08.10.2021 – staż w Pracowni Biologii Molekularnej, Wojewódzki Szpital Obserwacyjno-Zakaźny w Bydgoszczy**
 - Doświadczenie zdobyte w ramach tego stażu pozwoliło mi w znaczącym stopniu poszerzyć warsztat badawczy o umiejętność wykonania i interpretacji testów z zakresu diagnostyki molekularnej, w tym szczególnie techniki PCR w różnych jej odmianach oraz zwróciło moją uwagę na inne, szeroko stosowane metody badawcze mogące mieć istotne wspólne elementy z wcześniej wymienionymi technikami. Ponieważ czas odbywania stażu był powiązany z pandemią SARS to w naturalny sposób wspomogło prowadzenie analiz porównawczych różnych technik analitycznych wykorzystywanych do oceny zakażenia oraz odpowiedzi immunologicznej zakażonego organizmu na kontakt z wirusem SARS-Cov2 i skupiło moją uwagę na poszukiwania naukowo-badawczego zastosowania tego warsztatu technicznego oraz jego praktycznego wykorzystania w tym obszarze. Ostatecznie wiedza i doświadczenie zdobyte na stażu w tym ośrodku wspomogły mnie w procesie projektowania badania, którego celem była analiza odpowiedzi humoralnej i cytokinowej na szczepienie mające na celu uodpornienie na wirusa SARS-Cov2, prowadzone szczepionką mRNA oraz zależność pomiędzy profilem cytokinowym pacjenta a efektywnością szczepienia. Wynikiem tych badań jest publikacja, w przypadku której byłam pomysłodawcą badania oraz dobrałam profil

analizowanych cytokin, zaplanowałam harmonogram pobrań materiału (m.in. określiłam odstęp pomiędzy pierwszym a kolejnym pobraniem krwi w kontekście daty wykonanego szczepienia), wykonałam oznaczenie stężenia cytokin oraz przeanalizowałam wstępnie wyniki badań określając kierunek prowadzenia analizy statystycznej.

Publikacja będąca efektem odbytego stażu:

- Bartuzi Zbigniew, Rosada Tomasz, Ukleja-Sokołowska Natalia, Napiórkowska-Baran Katarzyna, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Kowalczyk Wojciech, Szykiewicz Ewa, Alska Ewa, Cała Łukasz. Assessment of the post-SARS-CoV-2 vaccination response depending on the epidemiological status, demographic parameters and levels of selected cytokines in medical personnel. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2022 : T. 39, nr 5, s. 913-922. *IF: 1.664 MNiSW: 70.000*
- **01.09-07.09.2021 – staż w Pracowni Mikroskopii Fluorescencyjnej, Immunochemii i Immunopatologii, Laboratorium Analityczne, Kujawsko-Pomorskie Centrum Pulmonologii w Bydgoszczy**
 - Doświadczenie zdobyte w ramach tego stażu pozwoliło mi gruntownie poznać i opanować techniki mikroskopii fluorescencyjnej z zastosowaniem substratów tkankowych. Poznana technikę i metodologię zaimplementowałam z sukcesem do swojego warsztatu pracy. Dzięki temu poszerzyłam ofertę badań możliwych do wykonania w laboratorium, którym kieruję, o szeroki panel badań z zakresu immunofluorescencji pośredniej na komórkach Hep-2 oraz substratach tkankowych. Badania te są złotym standardem w diagnostyce chorób autoimmunologicznych. Ponieważ laboratorium, którym kieruję, wykonuje badania dla szerokiego grona pacjentów Kliniki Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej oraz Przyklinicznej Poradni Reumatologicznej to wprowadzenie tej grupy badań niezbędnych w diagnostyce chorób reumatologicznych i autoimmunologicznych w znacznym stopniu przyczyniło się do przyspieszenia procesu diagnostycznego i poprawiło jego skuteczność. W przyszłości planuję również wykorzystać możliwości tej techniki w projektach naukowo-badawczych.
- **13.01-24.01.2020 – staż w Pracowni Cytometrii Przepływowej, Zakład Onkologii Klinicznej i Eksperymentalnej, Katedra Pediatrii, Hematologii i Onkologii CM UMK**
 - Doświadczenie zdobyte w ramach tego stażu pozwoliło mi udoskonalić warsztat z zakresu cytometrii przepływowej co wykorzystywałam w badaniach prowadzonych w ramach współpracy z Katedrą Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM UMK, w ramach której wykonałam testy aktywacji bazofila (BAT) dwoma alergenami orzeszków ziemnych u 60 dzieci. Efektem tej współpracy ma być publikacja wyników uzyskanych (praca w przygotowaniu).

5.3. Współpraca z międzynarodowymi instytucjami naukowymi

- Współpraca z Zakładem Profilaktyki Wścieklizny i Innych Chorób Zakaźnych Instytutu Pasteura, Nowy Sad, Serbia (Department for Prevention of Rabies and Other Infectious Diseases Pasteur Institute Novi Sad, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 1, Serbia):
 - współpraca wielośrodkowa (we współpracy z **UMR "Biologie moléculaire et Immunologie Parasitaire": ANSES** (*Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*), **INRAe** (*INRAe Centre de Jouy-en-Josas*), **EnvA** (*École nationale vétérinaire d'Alfort*); Université Paris-Est 22 Rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex France)
 - temat/obszar współpracy – zespół α -Gal
 - mój udział we współpracy: wykonanie badań laboratoryjnych i wstępne opracowanie wyników oraz opisanie metodyki
 - efekt współpracy: planowane są dwie publikacje, które aktualnie są w przygotowaniu
 - współpraca jest efektem publikacji (nr 2 i nr 3), wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego, dotyczących badań nad reaktywnością krzyżową determinanty węglowodanowej α -GAL, znajdującej się w ślinie kleszcza, a alergenami mięsa czerwonego, która leży u podstaw zespołu nietypowego zespołu reaktywności krzyżowej mogącej prowadzić do ciężkich reakcji anafilaktycznych – zespołu α -Gal (AGS; alpha gal syndrome)

5.4. Współpraca z krajowymi instytucjami naukowymi

W ramach tych współprac byłam odpowiedzialna za merytoryczne opracowanie metodyki badań, przygotowanie i zabezpieczenie materiału biologicznego oraz wykonanie badań laboratoryjnych i wstępne opracowanie wyników.

- Współpraca z **Uniwersytetem Technologiczno-Przyrodniczym im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy (aktualnie Politechnika Bydgoska)**; Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt; Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt:

- efektem współpracy jest publikacja:
 - Olszewska-Słonina Dorota M., Mątewski Dariusz, Czajkowski Rafał, Olszewski K.J., Woźniak Alina, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, **Lis Kinga**, Musiałkiewicz D., Kowaliszyn Bogna. The concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and paraoxonase activity in blood of patients with osteoarthritis after endoprosthesis implantation. Med. Sci. Monitor 2011 : Vol. 17, nr 9, s. CR498-CR4504. **MNiSW: 20.000**
- Mój udział w publikacji polegał na doborze układów enzymatycznych, wstępnej analizie i opracowaniu uzyskanych wyników i doborze literatury porównawczej.
- Współpraca z **Uniwersytetem Medycznym w Poznaniu - Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii**
 - efektem współpracy są publikacje oraz doniesienia zjazdowe, w tym jedno wyróżnione nagrodą zjazdową na XV Zjeździe Polskiego Towarzystwa Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu POLSPEN (PTŻPDiM):

Publikacje:

- Jakubczyk M., Kusza Krzysztof, Dąbrowiecki Stanisław, Rzepka A., Baranowski Przemysław, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Szkulmowski Zbigniew, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Paciorek Przemysław. Rola przewodu pokarmowego w regulacji stężenia hormonu głodu - greliny - pacjentów żywionych pozajelitowo i dojelitowo. Przegl. Gastroenterol. 2011 : Vol. 6, nr 5, s. 323-327. **IF: 0.067 MNiSW: 15.000**
- Jakubczyk Marlena, Pater Agnieszka, **Lis Kinga**, Szopiński Jacek, Różowicz A., Kupczyk K., Kusza Krzysztof. Analiza wpływu żywienia pozajelitowego na zapotrzebowanie i zasoby witaminy B1 w ustroju człowieka - doniesienia wstępne. Postępy Żyw. Klin. 2014 : T. 10, nr 4, s. 11-14. **MNiSW: 3.000**

Doniesienia zjazdowe:

- Jakubczyk Marlena, Rzepka A., Szopiński Jacek, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Baranowski Przemysław, Różowicz A., Kupczyk K., Jakubczyk P., Kusza Krzysztof. Analiza wpływu żywienia pozajelitowego na zapotrzebowanie i zasoby witaminy B1 w ustroju człowieka. Postępy Żyw. Klin. 2013 : T. 9, nr 2, s. 16. – **praca nagrodzona na XV Zjeździe Polskiego Towarzystwa Żywienia Pozajelitowego, Dojelitowego i Metabolizmu POLSPEN (PTŻPDiM)**

- Jakubczyk M., Kusza Krzysztof, Rzepka A., Baranowski Przemysław, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Szkulmowski Zbigniew. Analiza wybranych czynników wpływających na poziom leptyny i greliny w surowicy krwi u pacjentów w Oddziale Intensywnej Terapii (praca wykonana w ramach grantu BW UMK 10/2010). Anest. Intens. Ter. 2011 : T. 43, nr 3 suppl. 1, s. 64-65.
- Jakubczyk M., Kusza Krzysztof, Baranowski Przemysław, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Szkulmowski Zbigniew, Jakubczyk P., Rzepka A. Ocena stężenia leptyny i greliny - głównego wskaźnika głodu i sytości u pacjentów żywionych pozajelitowo i dojelitowo. Postępy Żyw. Klin. 2011 : T. numer zjazdowy, s. 15-16.
- Klek S., Jakubczyk M., Kusza K[rzysztof], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka]. The execution of ESPEN Guidelines in intensive care settings. Clin. Nutr. 2011 : Vol. 6 suppl. 1, s. 187.
- Klek S., Jakubczyk M., Kusza K[rzysztof], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka]. The influence of the type of nutrition and delivery method on the concentration of satiety and hunger hormones in adults. Clin. Nutr. 2011 : Vol. 6 suppl. 1, s. 134.
- Jakubczyk Marlena, Pałgan Izabela, Jankowska [Aldona] Katarzyna, Rzepka A., **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Kupczyk K., Kusza Krzysztof, Kurylak Andrzej. Rola hormonów leptyny i greliny jako wskaźników uczucia głodu i sytości u dzieci i młodzieży z zaburzeniami łaknienia w trakcie leczenia onkologicznego. W: VII Ogólnopolski Zjazd Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci. Ossa k. Rawy Mazowieckiej, 17-19 maja 2012 r. Abstrakty. Poznań: Termedia, 2012 s. 32-33.
- Rzepka A., Jakubczyk Marlena, Kędziora-Kornatowska Kornelia, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Baranowski Przemysław, Szopiński Jacek, Krajnik Małgorzata, Kusza Krzysztof. Rola przewodu pokarmowego w regulacji stężenia hormonu głodu - greliny u pacjentów powyżej 65 roku życia. W: Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa. XV-lecie Wydziału Nauk o Zdrowiu. Bydgoszcz, 19-20 III 2012. [Bydgoszcz, 2012]
- Jakubczyk M[arlena], Szopiński J[acek], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka], Baranowski P[rzemysław], Różowicz A., Kupczyk K., Kusza K[rzysztof]. Analysis of the influence of parenteral feeding on

requirements and reserves of thiamine in humans. Clin. Nutr. 2013 : Vol. 32 suppl. 1, s. S120.

- Mój udział w publikacjach/doniesieniach zjazdowych polegał na doborze metodyki oznaczania wybranych parametrów, przygotowaniu, zabezpieczeniu i opracowaniu materiału biologicznego do badań laboratoryjnych, wykonaniu analiz laboratoryjnych oraz wstępnej analizie i wstępnym opracowaniu uzyskanych wyników.
- **Współpraca z Szpitalem Specjalistycznym im. Stanley Dudricka w Skawinie - Oddział Chirurgii Ogólnej i Onkologicznej:**
 - efektem współpracy są doniesienia zjazdowe:
 - Klek S., Jakubczyk M., Kusza K[rzysztof], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka]. The execution of ESPEN Guidelines in intensive care settings. Clin. Nutr. 2011 : Vol. 6 suppl. 1, s. 187.
 - Klek S., Jakubczyk M., Kusza K[rzysztof], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka]. The influence of the type of nutrition and delivery method on the concentration of satiety and hunger hormones in adults. Clin. Nutr. 2011 : Vol. 6 suppl. 1, s. 134.
 - Mój udział w powstaniu wymienionych doniesień zjazdowych polegał na doborze metodyki oznaczania wybranych parametrów, przygotowaniu, zabezpieczeniu i opracowaniu materiału biologicznego do badań laboratoryjnych, wykonaniu analiz laboratoryjnych oraz wstępnej analizie i wstępnym opracowaniu uzyskanych wyników.

5.5. Współpraca naukowa z innymi jednostkami (w tym współpraca międzywydziałowa)

Efektom współpracy z wymienionymi ośrodkami są publikacje, których jestem współautorem, wymienione w bibliografii oraz badania będące podstawą prac doktorskich i publikacji będących podstawą wielu postępowań habilitacyjnych innych naukowców. W ramach tych współprac byłam odpowiedzialna za merytoryczne opracowanie metodyki badań, przygotowanie i zabezpieczenie materiału biologicznego oraz wykonanie badań laboratoryjnych i wstępne opracowanie wyników. Bez mojego wkładu i mojej pracy publikacje badawcze, prace doktorskie i habilitacyjne, będące efektem współpracy z wymienionymi ośrodkami nie mogłyby powstać.

- **W latach 2000-2014**, jako asystent w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Farmaceutycznego CM UMK, współpracowałam z następującymi jednostkami naukowymi Wydziału Lekarskiego CM UMK – projektowałam zakres badań i wykonywałam badania laboratoryjne dla potrzeb prac naukowych, publikacji oraz prac doktorskich:
 - **Katedra Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski)** – efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:
 - Pluta Agnieszka, Stróżecki Paweł, Kęsy J., **Lis Kinga**, Sulikowska Beata, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Manitius Jacek. Beneficial effects of 6-month supplementation with omega-3 acids on selected inflammatory markers in patients with chronic kidney disease stages 1-3. *BioMed Res. Int.* 2017 : Vol. 2017, s. 1-7. **IF: 2.583**
MNiSW: 25.000
 - Pluta Agnieszka, Stróżecki Paweł, Kęsy J., **Lis Kinga**, Manitius Jacek. Wpływ 6-miesięcznej suplementacji kwasami omega-3 na wybrane wskaźniki stanu zapalnego u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek w stadium 1-3. *Nefrol. Dial. Pol.* 2016 : T. 20, nr 2, s. 168.
 - **Katedra Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii (Wydział Lekarski)** – efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:
 - Pałgan Izabela, Czerwionka-Szaflarska Mieczysława, Pałgan Krzysztof, Szaflarska-Popławska Anna, **Lis Kinga**, Odrowąż-Sypniewska Grażyna. Ocena stężeń wybranych czynników angiogennych u zdrowych dzieci. *Wiad. Lek.* 2004 : T. 57, nr 7-8, s. 343-346. **MNiSW: 5.000**
 - Chrobot Agnieszka, Szaflarska-Popławska Anna, **Lis Kinga**. Ocena stężenia insulinopodobnego czynnika wzrostu u dzieci z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby. *Pediatr. Pol.* 2005 : T. 80, nr 8, s. 612-615. **MNiSW: 4.000**
 - Pałgan Izabela, Wysocki Mariusz, Szaflarska-Popławska Anna, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Czerwionka-Szaflarska Mieczysława, **Lis Kinga**, Dębski Robert, Pałgan Krzysztof. Ocena stężeń czynników angiogennych (VEGF i bFGF) w surowicy krwi u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną. *Med. Wieku Rozw.* 2005 : T. 9 supl. do, nr 2, s. 288-289.
 - **Katedra Ortopedii i Traumatologii (Wydział Lekarski)** - efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:

- Sypniewska Grażyna, **Lis Kinga**, Biliński Piotr J[acek]. Bone turnover makers and cytokines in joint fluid. Acta Orthop. Scand. 2002 : Vol. 73, nr 5, s. 518-522. *IF:1.169 MNiSW: 9.000*
- Odrowąż-Sypniewska Grażyna, **Lis Kinga**, Biliński Piotr J[acek]. Cytokiny i markery obrotu kostnego - badania własne. Przegl. Epidemiol. 2002 : T. 56 supl. 4 - IV Warsztaty Naukowo-Szkoleniowe pod patronatem Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych. Pod red. Waldemara Haloty i Małgorzaty Pawłowskiej, s. 39-45. **MNiSW: 4.000**
- Lis Kinga. Cytokiny w patogenezie i diagnostyce laboratoryjnej choroby zwyrodnieniowej stawów. Twój Mag. Med. 2002 : T. 7, nr 87, s. 4-10. **MNiSW: 2.000**
- **Lis Kinga**, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Biliński Piotr J[acek], Mątewski Dariusz, Krygier I. Oligometryczne białko macierzy chrząstki (COMP) i glikoproteina YKL-40) jako markery degradacji chrząstki i procesu zapalnego w chorobie zwyrodnieniowej stawu biodrowego. Diagn. Lab. 2003 : T. 39, nr 2, s. 133-141. **MNiSW: 3.000**
- **Lis Kinga**, Sypniewska Grażyna, Nowacki Wiesław. IGF-1, citokini i biokemijski bilżezi kostane pregradnje u sinovijalnoj tekucini i serumu bolesnika s primarnim i sekundarnim osteoartritisom kuka. (tekst równoległy w j. angielskim) Biochem. Med. 2006 : Vol. 16, nr 2, s. 127-136. **MNiSW: 3.000**
- **Lis Kinga**, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Nowacki Wiesław. Ocena stężenia IGF-1 w surowicy krwi i płynie stawowym u kobiet ze zmianami zwyrodnieniowymi stawu biodrowego o różnej etiologii. Chir. Narządów Ruchu Ortop. Pol. 2006 : T. 70, nr 6, s. 407-410. **MNiSW: 5.000**
- Sypniewska G[rażyna], **Zielonka K[inga]**, Dymek G[rażyna], Biliński P[iotr] J[acek]. The use of synovial fluid cytokine measurement and markers of joint destruction in prosthetic surgery. Clin. Chem. Lab. Med. 2001 : Vol. 38 spec. suppl, S30.
- **Zielonka K[inga]**, Sypniewska G[rażyna], Lejman H. Markery uszkodzenia stawów w surowicy i w płynie stawowym u pacjentów ze zmianami zwyrodnieniowymi o charakterze reumatoidalnym lub idiopatycznym. Diagn. Lab. 2001 : T. 37 supl. 2, s. 91.
- Sypniewska G[rażyna], **Zielonka K[inga]**, Biliński P[iotr] J[acek]. Synovial fluid markers of cartilage damage and inflammation in osteoarthritis. Eur. J. Clin. Invest. 2001 : Vol. 31 suppl. 1, s. 17.
- Sypniewska G[rażyna] R., **Lis K[inga]**, Biliński P[iotr] J[acek], Dymek G[rażyna]. Comparison of serum and synovial fluid markers of inflammation in patients with arthropathies. Clin. Chem. 2002 : Vol. 48, nr 6 suppl, s. A146.

- Odrowąż-Sypniewska Grażyna, **Lis Kinga**, Biliński Piotr J[acek]. Insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1) jako wskaźnik destrukcji chrząstki stawowej u kobiet z nadwagą i otyłością. Med. Metabol. 2002 : T. 6, nr 4 suppl, s. 82.
 - **Lis K[inga]**, Sypniewska G[rażyna], Biliński P[iotr] J[acek]. Interleukin-6, insulin-like growth factor 1 and markers of bone and cartilage destruction in serum and synovial fluid. Eur. J. Clin. Invest. 2002 : Vol. 32 suppl. 2, s. 15.
 - **Lis K[inga]**, Sypniewska G[rażyna], Biliński P[iotr], Dymek G[rażyna]. Synovial fluid and blood markers of inflammation in patients with arthropathies. Clin. Chem. Lab. Med. 2002 : Vol. 40 spec. suppl, s. S275.
 - Pater A[gnieszka], Nowacki W[iesław], Pollak J[oanna], Manysiak S[ławomir], **Lis K[inga]**, Sypniewska G[rażyna]. Is there an association of thyroid-stimulating hormone within normal range with fractures in euthyroid postmenopausal women? Biochim. Clin. 2013 : Vol. 37 SS, s. S502.
 - Pater A[gnieszka], Nowacki W[iesław], Siódmiak J[oanna], Szternel Ł[ukasz], Manysiak S[ławomir], **Lis K[inga]**, Sypniewska G[rażyna]. Association between low-normal thyroid-stimulating hormone and risk of osteoporotic fractures in euthyroid postmenopausal women. Clin. Chem. Lab. Med. 2014 : Vol. 52 special suppl, s. S352
- **Katedra Endokrynologii i Diabetologii (Wydział Lekarski)** - efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:
- Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Senterkiewicz Lilla, Stefańska Anna, **Lis Kinga**, Kuligowska M. Ocena wpływu stosowania niskich dawek estrogenów na obrót kostny u kobiet po menopauzie. Ann. Acad. Med. Bydg. 2004 : T. 18, nr 4, s. 113-117. *MNiSW: 2.000*
 - Pater Agnieszka, Sypniewska G[rażyna], Pilecki O., Truszczynska A., Senterkiewicz L[illa], Stefańska A[nna], **Lis K[inga]**, Gruszka M[arzenna]. Bone turnover markers at onset of type 1 diabetes. Clin. Chem. Lab. Med. 2007 : Vol. 45 spec. suppl, s. S262.
 - Mańkowska Aneta, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Rajewski P., **Lis Kinga**, Manysiak Sławomir. Adipocytokiny i ich związek z insulinoopornością u kobiet premenopauzalnych z nadmierną masą ciała. Endokryinol. Otyłość 2009 : T. 5, nr 3, s. 155.
- **Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii, Zespół Żywienia z Poradnią Żywienia Dojelitowego i Pozajelitowego (Wydział Lekarski)** - efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:

- Jakubczyk M., Kusza Krzysztof, Dąbrowiecki Stanisław, Rzepka A., Baranowski Przemysław, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Szkulmowski Zbigniew, Odrowąż-Sypniewska Grażyna, Paciorek Przemysław. Rola przewodu pokarmowego w regulacji stężenia hormonu głodu - greliny - pacjentów żywionych pozajelitowo i dojelitowo. *Przegl. Gastroenterol.* 2011 : Vol. 6, nr 5, s. 323-327. **IF: 0.067 MNiSW: 15.000**
- Jakubczyk M., Kusza Krzysztof, Rzepka A., Baranowski Przemysław, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Szkulmowski Zbigniew. Analiza wybranych czynników wpływających na poziom leptyny i greliny w surowicy krwi u pacjentów w Oddziale Intensywnej Terapii (praca wykonana w ramach grantu BW UMK 10/2010). *Anest. Intens. Ter.* 2011 : T. 43, nr 3 suppl. 1, s. 64-65.
- Jakubczyk M., Kusza Krzysztof, Baranowski Przemysław, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Szkulmowski Zbigniew, Jakubczyk P., Rzepka A. Ocena stężenia leptyny i greliny - głównego wskaźnika głodu i sytości u pacjentów żywionych pozajelitowo i dojelitowo. *Postępy Żyw. Klin.* 2011 : T. numer zjazdowy, s. 15-16.
- Klek S., Jakubczyk M., Kusza K[rzysztof], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka]. The execution of ESPEN Guidelines in intensive care settings. *Clin. Nutr.* 2011 : Vol. 6 suppl. 1, s. 187.
- Klek S., Jakubczyk M., Kusza K[rzysztof], Rzepka A., **Lis K[inga]**, Pater A[gnieszka]. The influence of the type of nutrition and delivery method on the concentration of satiety and hunger hormones in adults. *Clin. Nutr.* 2011 : Vol. 6 suppl. 1, s. 134.
- Jakubczyk Marlena, Pałgan Izabela, Jankowska [Aldona] Katarzyna, Rzepka A., **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Kupczyk K., Kusza Krzysztof, Kurylak Andrzej. Rola hormonów leptyny i greliny jako wskaźników uczucia głodu i sytości u dzieci i młodzieży z zaburzeniami łaknienia w trakcie leczenia onkologicznego. W: VII Ogólnopolski Zjazd Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci. Ossa k. Rawy Mazowieckiej, 17-19 maja 2012 r. Abstrakty. Poznań: Termedia, 2012 s. 32-33.
- Rzepka A., Jakubczyk Marlena, Kędziora-Kornatowska Kornelia, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Baranowski Przemysław, Szopiński Jacek, Krajnik Małgorzata, Kusza Krzysztof. Rola przewodu pokarmowego w regulacji stężenia hormonu głodu - greliny u pacjentów powyżej 65 roku życia. W: Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa. XV-lecie Wydziału Nauk o Zdrowiu. Bydgoszcz, 19-20 III 2012. [Bydgoszcz, 2012]
- Jakubczyk Marlena, Rzepka A., Szopiński Jacek, **Lis Kinga**, Pater Agnieszka, Baranowski Przemysław, Różowicz A., Kupczyk K., Jakubczyk P., Kusza Krzysztof. Analiza wpływu żywienia

pozajelitowego na zapotrzebowanie i zasoby witaminy B1 w ustroju człowieka. Postępy Żyw. Klin. 2013 : T. 9, nr 2, s. 16.

- Jakubczyk M[arlena], Szopiński J[acek], Rzepka A., **Lis Kinga**, Pater A[gnieszka], Baranowski P[rzemysław], Różowicz A., Kupczyk K., Kusza K[rzysztof]. Analysis of the influence of parenteral feeding on requirements and reserves of thiamine in humans. Clin. Nutr. 2013 : Vol. 32 suppl. 1, s. S120.
- **Od roku 2014**, jako adiunkt w Katedrze Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych (Wydział Lekarski) CM UMK, współpracowałam lub współpracuję nadal z następującymi jednostkami CM UMK – projektowałam zakres badań i wykonywałam badania laboratoryjne dla potrzeb prac naukowych, publikacji oraz prac doktorskich:
 - **Katedra Położnictwa, Chorób Kobietych i Ginekologii Onkologicznej (Wydział Lekarski)** – efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:
 - Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Dubiel Mariusz. Function of follicular cytokines: roles played during maturation, development and implantation of embryo. Medicina-Lithuania 2021 : Vol. 57, nr 11, s. 1-10, 1251. **IF: 2.948; MNiSW: 40.000**
 - Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Dubiel Mariusz. Concentrations of matrix metalloproteinase 9, interleukin 4, and interleukin 8 in follicular fluid, and the results of in vitro fertilization. J. Int. Med. Res. 2022 : Vol. 50, nr 9, s. 1-17. **IF: 1.600; MNiSW: 40.000**
 - Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Dubiel Mariusz. Progesterone-induced blocking factor I and cytokine profile of follicular fluid of infertile woman qualified to in vitro fertilization : the influence on fetus development and pregnancy outcome. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 2022 : Vol. 36 **IF: 3.500; MNiSW: 70.000**
 - Adamczak Rafał, Ukleja-Sokołowska Natalia, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Dubiel Mariusz. Assessment of RANTES, MIP4A, MMP7, MMP9, MMP14, TIMP 1, TIMP 2 and TIMP 3 concentration in the follicular fluid of patients undergoing in vitro fertilization/embryo transfer procedure. Postępy Dermatol. Alergol. 2023 : T. 40, nr 1, s. 119-125. **IF: 1.400; MNiSW: 70.000**

- **Katedra Chorób Naczyń i Chorób Wewnętrznych (Wydział Nauk o Zdrowiu)** – efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:
 - Wawrzeniec Anna, Anaszewicz Marzena, Banaś Wioletta, Spychalska-Zwolińska Marta, Socha Ewa, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek .Relationship of serum leptin with parameters of nutritional status and body composition among patients with stable course of cardiovascular disorders. Med. Res. J. 2018 : Vol. 3, nr 2, s. 89-97. **MNiSW: 6.000**
 - Anaszewicz Marzena, Wawrzeniec Anna, Czerniak Beata, Banaś Wioletta, Socha Ewa, Lis Kinga, Żbikowska-Gotz Magdalena*, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Leptin, adiponectin, tumor necrosis factor α , and irisin concentrations as factors linking obesity with the risk of atrial fibrillation among inpatients with cardiovascular diseases. Kardiol. Pol. 2019 : T. 77, nr 11, s. 1055-1061. **IF: 1.874; MNiSW: 100.000**
 - Spychalska-Zwolińska Marta, Anaszewicz Marzena, Wiśniewska Joanna, Mieczkowski Artur, Banaś Wioletta, Czerniak Beata, Suppan Karol, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Blood adipocytokine concentration in patients with peripheral artery disease. Int. Angiol. 2020 : Vol. 39, nr 6, s. 500-8508 **IF: 2.789; MNiSW: 40.000**
 - Anaszewicz Marzena, Wiśniewska Joanna, Mieczkowski Artur, Wasielewski Marcin, Suppan Karol, Czerniak Beata, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek .Soluble vascular cell adhesion molecule-1 in patients with non-valvular atrial fibrillation. Med. Res. J. 2020 : Vol. 5, nr 3, s. 158-166. **MNiSW: 100.000**
 - Tojek Krzysztof, Anaszewicz Marzena, Szukay Beata, Czerniak Beata, Socha Ewa, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Banaszkiwicz Zbigniew, Budzyński Jacek. Circulating leptin, adiponectin, and tumor necrosis factor-alpha in patients undergoing surgery due to colorectal cancer. Digestion 2021 : Vol. 102, nr 2, s. 246-255. **IF: 3.672; MNiSW: 70.000**
 - Wawrzeniec Anna, Anaszewicz M., Szukay Beata, Banaś Wioletta, **Lis Kinga**, Żbikowska-Gotz Magdalena, Bartuzi Zbigniew, Budzyński Jacek. Selected adipocytokine concentrations in patients hospitalized for exacerbated chronic heart failure. Med. Res. J. 2022 : Vol. 7, nr 2, s. 142-150. **MNiSW: 100.000**

- **Katedra Kosmetologii i Dermatologii Estetycznej (Wydział Farmaceutyczny)** – efektem tej współpracy są następujące publikacje lub doniesienia zjazdowe:
 - Basałygo Magdalena, Śliwińska Joanna, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Socha Ewa, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Assessment of serum concentrations of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 2 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in atopic dermatitis in correlation with disease severity and epidermal barrier parameters. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2021 : T. 38, nr 5, s. 773-779. **IF: 1.664 MNiSW: 70.000**
 - Basałygo Magdalena, Śliwińska Joanna, Ragin Dominika*, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Socha Ewa, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Ocena drogi eozynofilowej w przebiegu AZS. *Forum Dermatol.* 2017 : T. 3, nr 3, s. 99.
 - Basałygo Magdalena, Śliwińska Joanna, Ragin Dominika, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Socha Ewa, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Ocena drogi neutrofilowej w przebiegu AZS. *Forum Dermatol.* 2017 : T. 3, nr 3, s. 112-113.
 - Basałygo Magdalena, Śliwińska Joanna, Ragin Dominika, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Socha Ewa, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Ocena stężenia IL-25 w przebiegu atopowego zapalenia skóry i trądziku różowatego. *Forum Dermatol.* 2019 : T. 5, nr 4, s. 141.
 - Basałygo Magdalena, Śliwińska Joanna, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Socha Ewa, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Ocena stężenia IL-8 w przebiegu atopowego zapalenia skóry i trądziku różowatego. *Forum Dermatol.* 2020 : T. 6, nr 1, s. 22.
 - Basałygo Magdalena, Śliwińska Joanna, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Ocena stężenia IL-17A w przebiegu atopowego zapalenia skóry i trądziku różowatego. *Przegl. Dermatol.* 2023 : T. 110, nr 3, s. 419-420.
 - Śliwińska Joanna, Basałygo Magdalena, Żbikowska-Gotz Magdalena, **Lis Kinga**, Socha Ewa, Bartuzi Zbigniew, Zegarska Barbara. Ocena stężenia IL-5 w przebiegu atopowego zapalenia skóry i trądziku różowatego. *Przegl. Dermatol.* 2023 : T. 110, nr 3, s. 420.
- **Katedra Psychiatrii (Wydział Lekarski)** – publikacja w przygotowaniu
- **Katedra Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii (Wydział Lekarski)** – publikacja w przygotowaniu

5.6. Współpraca redakcyjna w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o międzynarodowym zasięgu

- **Redaktor gościnny numerów specjalnych w czasopismach:**
 - Current Issues in Molecular Biology (CIMB, ISSN: 1467-3045; IF: 3.100; MNiSW: 70.000) - „Molecular Mechanisms and Regulation in Allergy and Immune Diseases, Immunodeficiencies”
 - Life (ISSN: 2075-1729; IF: 3.200; MNiSW: 70.000) - „Allergies and Allergic Diseases-Perspectives in Diagnosis and Management”
 - Foods (ISSN: 2304-8158; IF 5.200; MNiSW 140.000) - “Food Additives as a Cause of Hypersensitivity and Food Allergy - Mechanisms, Clinic and Diagnosis”
 - Antibodies (ISSN: 2073-4468; IF 4,7 MNiSW 70.000) - “Antibodies in Laboratory Diagnostic Techniques”
- **Członek tematycznego panelu doradczego (Topical Advisory Panel) w czasopismach:**
 - Current Issues in Molecular Biology (CIMB, ISSN: 1467-3045; IF: 3.100; MNiSW: 70.000): sekcja medycyna molekularna (Topical Advisory Panel, Molecular Medicine Section)
 - Allergies (ISSN: 2313-5786): sekcja alergologia pokarmowa (Topical Advisory Panel, Food Allergy Section).
- **Recenzent 43 prac naukowych (oryginalnych i poglądowych) zgłoszonych do publikacji w następujących czasopismach:**
 - Allergies ISSN: 2313-5786 (2)
 - Biomedicines ISSN: 2227-9059 (1)
 - Children ISSN: 2227-9067 (2)
 - Current Drug Discovery Technologies ISSN (Print): 1570-1638,ISSN (Online): 1875-6220 (7)
 - Current Issues in Molecular Biology CIMB ISSN: 1467-3045 (1)
 - Diagnostics ISSN: 2075-4418 (4)
 - Healthcare ISSN: 2227-9032 (1)
 - International Journal of Environmental Research and Public Health IJERPH ISSN: 1660-4601 (1)
 - International Journal of Molecular Sciences IJMS ISSN: 1422-0067 (9)

- Journal of Clinical Medicine JCMISSN: 2077-0383 (2)
- Life ISSN: 2075-1729 (3)
- Molecules ISSN: 1420-3049 (2)
- Nutrients ISSN: 2072-6643 (7)
- Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej ISSN: 0032-5449 (1)

5.7. Współpraca w Redakcji innych czasopism naukowych:

- Członek Zespołu Redakcyjnego Kwartalnika „Diagnosta Laboratoryjny” – jest to kwartalnik wydawany przez Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych, dostępny on-line (przykładowy numer czasopisma https://kiidl.org.pl/get-file/13000_dl-223-na-strone.pdf).

5.8. Członkostwo w Towarzystwach Naukowych

- Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej (**PTDL**) – od roku 2001
 - członek Zarządu Głównego PTDL w kadencji 2022-2026 (aktualnie)
 - członek Zarządu oddziału Bydgoskiego PTDL (sprawuję funkcję zastępcy Skarbnika) w kadencji 2022-2026 (aktualnie)
- Polskie Towarzystwo Alergologiczne (**PTA**) - od roku 2015
 - Członek Komisji rewizyjnej oddziału Bydgoskiego (2 kadencja, aktualnie)
- Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej (**PTIDiK**) - od roku 2021

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

6.1. Granty edukacyjne

- **Projekt z nr 2023/ABM/06/00005** tytułem: "EDUKACJA MEDYCZNA pracowników ochrony zdrowia - INNOWACYJNE STUDIA PODYPLOMOWE realizowane przez Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy" (projekt został zgłoszony przez CM UMK i wygrał konkurs ogłoszony przez Agencję Badań

Medycznych, jest to grant o wartości blisko 4 milionów złotych) - Współrealizacja programu studiów podyplomowych pt. "Zasady organizacji i realizacja zadań zespołów interdyscyplinarnych w opiece medycznej" zgłoszony na konkurs ogłoszony przez Agencję Badań Medycznych nr ABM/2023/6 pt. "Opracowanie i realizacja autorskiego programu studiów podyplomowych z zakresu nauk biomedycznych".

6.2. Osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne

- Otrzymałam **Nagrodę Rektora** za osiągnięcia dydaktyczne w roku akademickim 2012/2013
- W latach 2006-2014 – pełniłam funkcję **Opiekuna i Koordynatora praktyk wakacyjnych** dla studentów 3 i 4 roku analityki medycznej (Wydział Farmaceutyczny CM UMK), ułożyłam program praktyk wakacyjnych i dostosowałam go do wymogów programowych kształcenia na kierunku analityka medyczna
- W latach 2006 – 2014 – byłam **członkiem rady programowej ds. analityki medycznej** (Wydział Farmaceutyczny CM UMK)
- W latach 2006-2014 – byłam **asystentem odpowiedzialnym za proces dydaktyczny** w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej CM UMK – odpowiadałam za rozplanowanie zajęć dydaktycznych i prawidłowość przebiegu procesu kształcenia oraz rozliczenie godzin dydaktycznych
- W latach 2004-2014 byłam promotorem **24 prac magisterskich i 13 licencjackich** studentów kierunku analityka medyczna, biomedycyna laboratoryjna/informatyczna (Wydział Farmaceutyczny) i biotechnologia (Wydział Lekarski) CM UMK; w związku z tą funkcją byłam również **członkiem komisji egzaminacyjnych** na egzaminach magisterskich i licencjackich studentów, którzy przygotowywali prace dyplomowe pod moim kierunkiem. Łącznie byłam promotorem 37 prac dyplomowych różnych typów.
- W latach 2004-2014 wspomagałam merytoryczną i praktyczną opiekę nad pracami magisterskimi powstającymi w Katedrze i Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej (nawet jeśli formalnie nie byłam ich promotorem/opiekunem)
- W latach 2006-2014 wielokrotnie byłam **członkiem Komisji Egzaminacyjnych** na egzaminach wstępnych (dla osób z tzw. starą maturą) na kierunki studiów prowadzone w Collegium Medicum UMK.
- Byłam **członkiem Komisji Rekrutacyjnej** z ramienia Wydziału Farmaceutycznego w procesie rekrutacji na rok akademicki 2001/2002

- Odpowiadałam za przygotowanie Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej do akredytacji w **procesie akredytacji** Wydziału Farmaceutycznego
- Byłam **koordynatorem przedmiotu** – diagnostyka laboratoryjna w biotechnologii, studia 1 stopnia kierunku biotechnologia Wydział Lekarski CM UMK – ułożyłam program zajęć i opracowałam komplet materiałów dydaktycznych do wykładów i ćwiczeń z tego przedmiotu.
- Prowadziłam **wykłady i ćwiczenia na kursach specjalizacyjnych** (Alergia Pokarmowa) **dla lekarzy** specjalizujących się w dziedzinie alergologia, organizowane przez Katedrę Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych CM UMK na potrzeby kształcenia specjalizacyjnego w ramach kursów organizowanych przez Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego (CMKP).
- Prowadziłam **wykłady i ćwiczenia na kursach specjalizacyjnych dla diagnostów laboratoryjnych** specjalizujących się w dziedzinie Laboratoryjna Diagnostyka Medyczna - według programu specjalizacji z roku 2005 i 2018 - kurs w module III z zakresu „badania układu odpornościowego” oraz w module V „laboratoryjna diagnostyka narządowa w świetle rozwoju wiedzy medycznej i technik badawczych – zakres tematyczny kursu: diagnostyka chorób układowych i z autoagresji”.
- Jestem **Kierownikiem Naukowym kursu specjalizacyjnego dla diagnostów laboratoryjnych** specjalizujących się w dziedzinie Laboratoryjna Diagnostyka Medyczna - według programu specjalizacji z roku 2018 – kurs w module IV „badania układu odpornościowego” 24 godziny (3 dni robocze).
- Jestem **Kierownikiem Specjalizacji** w dziedzinie Laboratoryjna Immunologia Medyczna

6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę

- Wygłosiłam 10 wykładów popularno-naukowych z Cyklu **Medyczna Środa** (Wykłady Popularno-Naukowe organizowane przez CM UMK, wstęp wolny)
 - Edycja VIII (20.10.2010) „Dlaczego na Badanie Laboratoryjne Musimy Przyjść Na Czczo?”
 - Edycja IX (25.05.2011) „Co się dzieje z moja próbką w Medycznym Laboratorium Diagnostycznym”
 - Edycja XII (07.11.2012) „Co się kryje w próbce moczu”

- Edycja XIII (15.05.2013) „Laboratorium medyczne w domu – co możemy zbadać sami”
 - Edycja XV (23.04.2014) „Tajemnica próbki kału”
 - Edycja XXI (26.04.2017) „Kot domowy – miłe zwierzątko czy groźny potwór”
 - Edycja XXIV (28.11.2018) „Jak można rozpoznać ciążę – krótka historia testu ciążowego”
 - Edycja XXV (08.05.2019) „O alergii na zwierzęta futerkowe słów kilka”
 - Edycja XXXIII (05.04.2023) „Jak się poruszać w labiryncie testów alergicznych”
 - Edycja XXXIV (25.10.2023) „Hypoalergiczny kot – czy to możliwe?”
- Wygłosiłam 2 wykłady popularno-naukowe z Cyklu **Medyczny Toruń** – wykłady organizowane w Centrum Nauki „Młyn Wiedzy”
 - 05.12.2018 „Jak można rozpoznać ciążę – błyskotliwa historia testu ciążowego”
 - 15.05.2019 „O alergii na zwierzęta futerkowe słów kilka”
- Wygłosiłam wykład popularno-naukowy na **X Bydgoskim Festiwalu Nauki** pt. „Sekretne życie pszczoł – co warto wiedzieć o alergii na jady owadów błonkoskrzydłych”
- Jestem autorem 38 **tekstów popularno-naukowych** z zakresu alergologii opublikowanych na portalu dla pacjentów **Strefa Alergii** (<https://strefaalergii.pl/>). Szczegółowy profil autora znajduje się pod linkiem <https://strefaalergii.pl/ekspert/dr-kinga-lis/>
- Otrzymałam nagrodę za najczęściej czytany tekst popularno-naukowy w roku 2022 na portalu Strefa Alergii (mój tekst <https://strefaalergii.pl/abc-alergii/testy-na-alergie-w-pigulce/> miał ponad 20 tys. Odśłon w ciągu 11 miesięcy od opublikowania)

6.4. Osiągnięcia związane z działalnością organizacyjną w zakresie konferencji, zjazdów i sympozjów naukowych

- Od roku 2015 wielokrotnie byłam członkiem komitetu organizacyjnego i wykładowcą Sympozjum Alergii na Pokarmy (Bydgoskie Spotkania Alergologiczne) organizowanego przez Katedrę Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych.
- Byłam członkiem Komitetu Organizacyjnego XII Międzynarodowego Kongresu PTA (9-12.09.2015, Bydgoszcz)
- Prowadziłam sesję wykładową na Konferencji Szkoleniowej Oddziału Bydgoskiego Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL), Łysomice, czerwiec 2022
- Prowadziłam sesję wykładową na Konferencji Szkoleniowej Oddziału Bydgoskiego Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL), Łysomice, październik 2023 i wygłosiłam wykład w czasie tej konferencji
- Współorganizowałam konferencję on-line „Trendy w diagnostyce - wybrane aspekty medycyny laboratoryjnej”, organizowaną przez Zarząd Główny PTDL z okazji Dnia Diagnostyki Laboratoryjnego (czerwiec 2023) i wygłosiłam wykład w czasie jej trwania
- Wygłosiłam ponad 10 wykładów w ramach różnych Sympozjów i Konferencji Naukowych oraz szkoleń w tym na:
 - Sympozjum Alergii na Pokarmy (od roku 2015, 10 wykładów w obszarze diagnostyki laboratoryjnej alergii na pokarmy oraz ukrytych i/lub nowych alergenów w tym alergenów pochodzących z nowej żywności jak np. owady jadalne)
 - 27.04.2019 (Lublin) wykład na Konferencji Alergologia Dyscyplinarna
 - 24.05.2021 (Wrocław, on-line) wykład na szkoleniu dla lekarzy organizowanym przez firmę Stallergenes – „Diagnostyka alergii na kota”
 - 05.10.2023 (Konferencja PTDL o/Bydgoszcz, Łysomice) - wykład pt. „Czy alergia ma płęć?”
 - 23.05-18.06.2023 (e-konferencja Trendy w diagnostyce - wybrane aspekty medycyny laboratoryjnej) – wykład pt. „BAT jako laboratoryjna alternatywa dla próby prowokacji w diagnostyce alergii”
 - Prowadziłam Warsztaty z zakresu Diagnostyki Molekularnej Alergii

- Sympozjum Alergii na Pokarmy (w roku 2018, 2019, 2020, 2021, 2022)
- Konferencja Naukowo-Szkoleniowa PTA w Wiśle (maj 2019)
- Wygłosiłam wykłady na spotkaniach naukowo-szkoleniowych PTDL
- 16.03.2020 – „Od zupy alergenowej do pojedynczej molekuly” (PTDL oddział Gdańsk)
- 24.05.2020 – „Od zupy alergenowej do pojedynczej molekuly” (PTDL oddział Poznań)
- 16.03.2023 – „Oswoić molekuly” (PTDL oddział Bydgoszcz)

7. Inne informacje, dotyczące kariery zawodowej

- **Autorstwo i/lub współautorstwo książek / podręczników:**
 - **Autor** 3 rozdziałów (11. Choroba zwyrodnieniowa stawów, str. 61-71; 15. Badanie płynu stawowego w rozpoznawaniu chorób reumatycznych, str. 125-149; 16. Biochemiczne wskaźniki choroby zwyrodnieniowej stawów, str. 149-163) W: Diagnostyka laboratoryjna wybranych chorób reumatycznych. red. Grażyna Odrowąż-Sypniewska; Wrocław : MedPharm Polska, 2011 (MNiSW: 20.000)
 - **Współautor** rozdziału „Nadwrażliwość na pokarmy” W: Alergologia w praktyce klinicznej cz. 1; red. K. Jahnz-Różyk, M. Kupczyk, R. Gawlik; Warszawa; PZWL Wydaw. Lek., 2023, s. 37-72 (MNiSW: 20.000) – podręcznik wymagany do egzaminu specjalizacyjnego z alergologii
- Jestem **Koordynatorem ds. Pracowni Immunologiczno-Alergologicznej** Kliniki Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. Dr Jana Biziela w Bydgoszczy – nadzór kierowniczy nad Pracownią sprawuję od roku 2015 stanowisko i zakres obowiązków odpowiadają funkcji kierownika.
- Jestem **członkiem Zespołu do Spraw Potwierdzania i Uznawania Kwalifikacji Zawodowych Diagnosty Laboratoryjnego** działającego w ramach organów Samorządu Zawodowego Diagnostów Laboratoryjnych, tj. Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych – KIDL (w aktualnej, VI kadencji KIDL).
- Jestem członkiem **Zespołu Redakcyjnego kwartalnika wydawanego przez Krajową Izbę Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL) „Diagnosta Laboratoryjny”** (w aktualnej, VI kadencji KIDL).
- Otrzymałam **List Gratulacyjny Ministra Zdrowia** za wysokie wyniki Państwowego Egzaminu Specjalizacyjnego w roku 2022 (w dziedzinie Laboratoryjna Immunologia Medyczna)

8. Podsumowanie danych naukometrycznych

- **Łączna wartość punktacji KBN/MEiN: 2633.000**
 - W tym list do redakcji: wartość punktacji KBN/MEiN: 120.000
- **Łączna wartość wskaźnika IF: 92.014**
 - W tym list do redakcji: wartość wskaźnika IF: 11.790

Składowe punktacji:

Przed uzyskaniem stopnia doktora		
	Wskaźnik IF	Punktacja KBN/MNiSzW
Jako pierwszy autor		13.000
Jako jedyny autor		
Jako autor drugi i/lub kolejny	1.169	18.000
Łącznie	1.169	31.000
Po uzyskaniu stopnia doktora		
	Wskaźnik IF	Punktacja KBN/MNiSzW
Jako pierwszy autor	22.000 <i>(w tym 11.900 przypada na główne osiągnięcie naukowe)</i>	821.000 <i>(w tym 280.000 przypada na główne osiągnięcie naukowe)</i>
Jako jedyny autor	4.700	152.000
Jako autor drugi i/lub kolejny	64.145 <i>(w tym 3.298 przypada na główne osiągnięcie naukowe)</i>	1629.000 <i>(w tym 70.000 przypada na główne osiągnięcie naukowe)</i>
Łącznie	90.845 <i>(w tym 26.700 jako pierwszy lub jedyny autor)</i>	2602.000 <i>(w tym 973.000 jako pierwszy lub jedyny autor)</i>

Index H:

Index H=9 (Scopus)	Cytowania: 207	Cytowania bez autocytowań: 172
Index H=7 (Web of Science Core Collection)	Cytowania: 169	Cytowania bez autocytowań: 137

.....
podpis wnioskodawcy