

KATEDRA BIOLOGII I BIOCHEMII MEDYCZNEJ

85-092 Bydgoszcz, ul. Karłowicza 24
tel. (52) 585-37-37; fax (52) 585-37-42
e-mail: kizbiolog@cm.umk.pl

Załącznik nr 4

AUTOREFERAT

HANNA PAWLUK

BYDGOSZCZ 2023

1. IMIĘ I NAZWISKO:

Hanna Pawluk

2. WYKAZ POSIADANYCH DYPLOMÓW, STOPNI NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ:

- **studia podyplomowe** w zakresie analityki medycznej w Studium Kształcenia Podyplomowego Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy UMK w Toruniu; Bydgoszcz 02.2016 r.
- **doktor nauk medycznych** w zakresie biologii medycznej - Wydział Lekarski, Akademia Medyczna w Bydgoszczy (obecnie Collegium Medicum UMK); Bydgoszcz 02.12.1998 r.
Praca realizowana w Katedrze Biochemii Akademii Medycznej w Bydgoszczy Wydział Lekarski (obecnie Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy UMK w Toruniu).
Promotor: prof. dr hab. Bronisław Zachara
Tytuł rozprawy doktorskiej: „**ROZKŁAD SELENU W NARZĄDACH OSÓB ZMARŁYCH Z POWODU ZAWAŁU MIĘŚNIA SERCOWEGO I NIEKTÓRYCH INNYCH CHORÓB W REGIONIE POMORSKO-KUJAWSKIM**”
- **magister biologii**, specjalność biologia ogólna, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu; Toruń, 06.1990 r.
Promotor: Prof. dr hab. Andrzej Przystalski
Tytuł pracy magisterskiej: „**ROZMIARY ŚLIZÓWKI PRZEWODU POKARMOWEGO RYJÓWKI AKSAMITNEJ (SOREX ARANEUS) I NORNICY RUDEJ (CLETHRIONOMYS GLAREOLUS)**”
Praca realizowana w Zakładzie Zoologii Kręgowców Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ARTYSTYCZNYCH:

- 01.06.2019 - do chwili obecnej
adiunkt w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 01.10.2011-31.05.2019
starszy wykładowca w Katedrze i Zakładzie Biochemii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 01.01.1999 - 30.09.2011
adiunkt w Katedrze i Zakładzie Biochemii Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, od 2004 r. Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu
- 01.12.1990 - 31.12.1999
asystent w Katedrze i Zakładzie Biochemii, Akademia Medyczna im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (Dz. U. 2016 POZ. 882 ZE ZM. W Dz.U. 2016 POZ. 1311):

4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

OCENA WYKŁADNIKÓW STRESU OKSYDACYJNEGO I STANU ZAPALNEGO W PRZEBIEGU UDARU NIEDOKRWIENNEGO MÓZGU

4.2. WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem 4 przedstawionych poniżej prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o sumarycznym współczynniku:

IF = 21,332 i MNiSW = 480

Lp	AUTORZY	TYTUŁ	CZASOPISMO ROK, VOL, STRONY, DOI	IF	MNi SW
1.	Pawluk Hanna , Grześk Grzegorz, Kołodziejska Renata, Kozakiewicz Mariusz, Woźniak Alina, Grzechowiak Elżbieta, Szumny Maciej, Sobolewski Piotr, Bieniaszewski Leszek, Kozera Grzegorz.	Effect of IL-6 and hsCRP serum levels on functional prognosis in stroke patients undergoing IV-thrombolysis: retrospective analysis.	<i>Clin. Interv. Aging</i> , 2020, 15, 1295-1303. DOI: 10.2147/CIA.S258381	4,458	100,0
2.	Pawluk Hanna , Woźniak Alina, Grześk Grzegorz, Kołodziejska Renata, Kozakiewicz Mariusz, Kopkowska Ewa, Grzechowiak Elżbieta, Kozera Grzegorz.	The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke.	<i>Clin. Interv. Aging</i> , 2020, 15, 469-484. DOI: 10.2147/CIA.S	4,458	100,0
3.	Pawluk Hanna , Kołodziejska Renata, Grześk Grzegorz, Kozakiewicz Mariusz, Woźniak Alina, Pawluk Mateusz, Kosińska Agnieszka, Grześk Magdalena, Wojtasik Jakub, Kozera Grzegorz.	Selected mediators of inflammation in patients with acute ischemic stroke.	<i>Int. J. Mol. Sci.</i> , 2022, 23, 1-16, 10614. DOI: 10.3390/ijms231810614	6,2	140,0
4.	Pawluk Hanna , Kołodziejska Renata, Grześk Grzegorz, Woźniak Alina, Kozakiewicz Mariusz, Kosinska Agnieszka, Pawluk Mateusz, Grzechowiak Elżbieta, Wojtasik Jakub, Kozera Grzegorz.	Increased oxidative stress markers in acute ischemic stroke patients treated with thrombolytics.	<i>Int. J. Mol. Sci.</i> , 2022, 23, 1-15, 15625. DOI: 10.3390/ijms232415625	6,208	140,0

- oświadczenia współautorów o indywidualnym wkładzie autorskim znajdują się w *Załączniku nr 6*
- kopie powyższych prac znajdują się z *Załączniku nr 7*

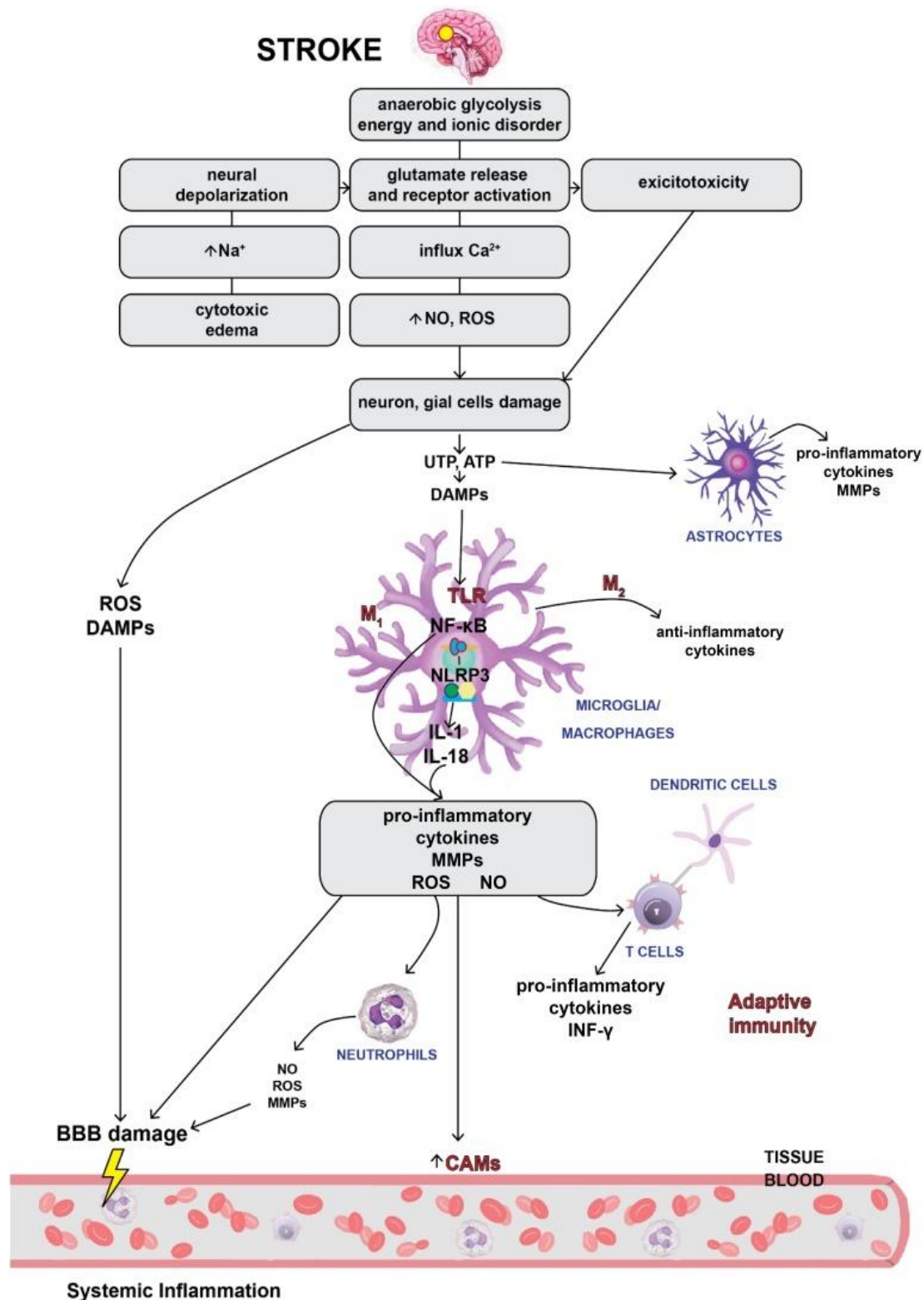
4.3. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

W ciągu życia w organizmie człowieka zachodzą różnorodne przemiany biochemiczne i molekularne, a akumulacja w komórkach czy tkankach nieprawidłowych modyfikacji tych przemian prowadzi do upośledzonego funkcjonowania organizmu, co może sprzyjać rozwojowi szeregu jednostek chorobowych. Jedną z chorób neurologicznych, której skutkiem jest utrata sprawności, a nawet trwałe kalectwo czy zgon jest udar mózgu. W Polsce choruje na niego średnio 150/100 000 mieszkańców co stanowi około 85–90% pacjentów.

Udar mózgu najczęściej spowodowany jest zatorem kardiogennym, zaburzeniami mikrokrążenia mózgowego (mikroangiopatią mózgową), miażdżycą tętnic zewnątrz i wewnątrzczaszkowych oraz zaburzeniami krzepnięcia krwi.

Biochemiczne podłoże procesów patofizjologicznych w udarze niedokrwiennym mózgu to złożony cykl wzajemnie powiązanych mechanizmów molekularnych i komórkowych. Stan zapalny odgrywa istotną rolę na wszystkich etapach kaskady niedokrwiennej, od momentu niedotlenienia do późnych procesów regeneracyjnych związanych z naprawą niedokrwionych tkanek. Deficyt energetyczny spowodowany utratą zdolności neuronów do syntezy ATP jest głównym mechanizmem śmierci komórek w obszarze zawału mózgu. Zmniejsza się aktywność ATPazy Na^+/K^+ i dochodzi do wzrostu zewnątrzkomórkowego stężenia jonów K^+ i niekontrolowanego napływu Na^+ , Ca^{2+} i jonów Cl^- . Obserwuje się stopniową depolaryzację błony komórkowej i utratę potencjału błonowego, co z kolei zwiększa przepływ sodu i umożliwia osmotyczny transport wody do komórek. Nagromadzenie jonów Na^+ i Ca^{2+} prowadzi do degeneracji organelli, utraty integralności błony i śmierci komórki. W wyniku zaburzenia syntezy ATP następuje zmniejszenie wychwytu zwrotnego glutaminianu, a jego pozakomórkowa akumulacja prowadzi do śmierci neuronów w obszarze półcienia. Skutkiem nadmiernej aktywacji receptorów glutaminianu jest ekscytotoksyczność i akumulacja jonów Ca^{2+} prowadząca do aktywacji enzymów katabolicznych poprzez syntezę kwasu arachidonowego i zwiększenia stężenia reaktywnych form tlenu (RFT). Powoduje to uaktywnienie mikrogleju i astrocytów, które wydzielają mediatory stanu zapalnego: cytokiny i chemokiny oraz metaloproteiny macierzy (MMP) indukujące ekspresję cząsteczek adhezji komórek na powierzchni śródbłona i cząsteczki adhezji międzykomórkowej-1 (ICAM-1). Umożliwia to napływ neutrofili do niedokrwionych obszarów mózgu oraz ekspresję chemokin w celu doprowadzenia leukocytów do miejsca uszkodzenia. Naciekające komórki odpornościowe, niezależnie od ich korzystnej roli, mogą również uszkadzać niedokrwiony mózg poprzez wytwarzanie różnych destrukcyjnych mediatorów cytotoksycznych w tym NO, RFT i prostanoidów, które przedłużają odpowiedź zapalną. Może to prowadzić do wtórnych powikłań, takich jak obrzęk i przemiana krwotoczna. Limfocytopenia z kolei przyczynia się do znacznej immunosupresji, co zwiększa ryzyko infekcji po udarze mózgu. Ponadto nieproporcjonalne stężenie mediatorów prozapalnych aktywuje autonomiczny układ nerwowy i dochodzi do zahamowania szlaków prozapalnych i pobudzenia mechanizmów przeciwzapalnych poprzez uwalnianie interleukin i czynników wzrostu. Ponadto neurony nekrotyczne uwalniają „sygnały zagrożenia”, które aktywują układ odpornościowy i wydzielają wzorce molekularne (DAMP). DAMP indukuje receptory Toll-podobne (TLR) na mikrogleju, co z kolei stymuluje NF- κ B do syntezy większości prozapalnych cytokin. Inflamasom NLRP3 aktywuje kaspazę-1, co ostatecznie prowadzi do dojrzewania i wydzielania cytokin interleukina 1 (IL-1 β) i interleukina 18 (IL-18). Mikroglej M1 wytwarza cytokiny prozapalne IL-1 β , interleukina 6 (IL-6), IL-18 i czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) oraz chemokiny, podczas gdy mikroglej M2 wytwarza cytokiny przeciwzapalne interleukina 10 (IL-10), interleukina 4 (IL-4) i transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β), które są uwalniane kilka dni po ostrym uszkodzeniu mózgu prowadzącym do zahamowania stanu zapalnego. MMP, wydzielany

przez mikroglej, astrocyty i neurony, pośredniczy w niszczeniu płytki podstawowej, zwiększając przepuszczalność bariery krew-mózg (BBB) i ułatwiając wejście dodatkowych obwodowych komórek odpornościowych do obszaru mózgu dotkniętego udarem. Dzieje się tak, ponieważ ostre niedokrwienie mózgu powoduje nie tylko miejscową reakcję zapalną, ale także wyzwała ogólnoustrojową odpowiedź immunologiczną (Rysunek 1).



Rysunek 1. Patomechanizm udaru mózgu.

Podczas udaru zaangażowana jest zarówno wrodzony układ odpornościowy jak i adaptacyjny. Modulacja odporności nabytej może stanowić ochronę niedokrwiennego mózgu co stwarza perspektywę dla nowych terapii udarów. Lepsze zrozumienie interakcji między układem odpornościowym a udarem mózgu jest niezbędne do wykorzystania pełnego potencjału terapeutycznego immunologii udarowej.

Głównymi cytokinami prozapalnymi odpowiedzialnymi za indukcję syntezy białek ostrej fazy (APPs) są: IL-6, IL-1 oraz TNF- α i TNF- β .

IL-6 jest uwalniana przez różne komórki, w tym komórki mikrogleju, astrocyty, leukocyty i komórki śródbłónka jako część odpowiedzi na uszkodzenie mózgu. Stymuluje hepatocyty do syntezy APP, głównie białka C-reaktywnego (CRP) i fibrynogenu. IL-6 wpływa na fosforylację czynnika transkrypcyjnego NF-IL-6 odpowiedzialnego za wzbudzenie transkrypcji wielu genów. Synteza IL-6 wymaga IL-1 i TNF, które stymulują fibroblasty, komórki śródbłónka i keratynocyty. Uważa się, że IL-6 jest cytokiną prozapalną, która zwiększa migrację leukocytów oraz reguluje produkcję chemokin i ekspresję cząsteczek adhezyjnych oraz jest ważnym mediatorem dysfunkcji układu nerwowo-naczyniowego, neurodegeneracji i zapalenia nerwu. Pomimo, że IL-6 pełni głównie rolę cytokiny prozapalnej, odgrywa również ważną rolę jako czynnik neurotroficzny w późnej fazie udaru mózgu.

Inną cytokiną, uwalnianą podczas udaru jest TNF- α , wcześniej nazywany kachektyną lub czynnikiem różnicowania, białko zaangażowane w odpowiedź zapalną i immunologiczną. Ta prozapalna cytokina jest produkowana przez monocyty, limfocyty T, komórki tuczne, makrofagi, neutrofile, keratynocyty i fibroblasty. TNF- α stymuluje pericyty mózgu do zwiększenia syntezy IL-6 poprzez aktywację NF- κ B. TNF- α ma dwie formy: transbłonową (tmTNF- α), która reguluje stan zapalny miejscowo poprzez interakcje komórka-komórka oraz rozpuszczalną, biologicznie aktywną formę (sTNF- α) generowaną przez enzym konwertujący alfa czynnika martwicy nowotworu (TACE). Forma rozpuszczalna działa ogólnoustrojowo, zwiększając aktywność fagocytarną i cytotoksyczną makrofagów oraz regulując ekspresję innych cytokin, takich jak IL-6 i IL-1.

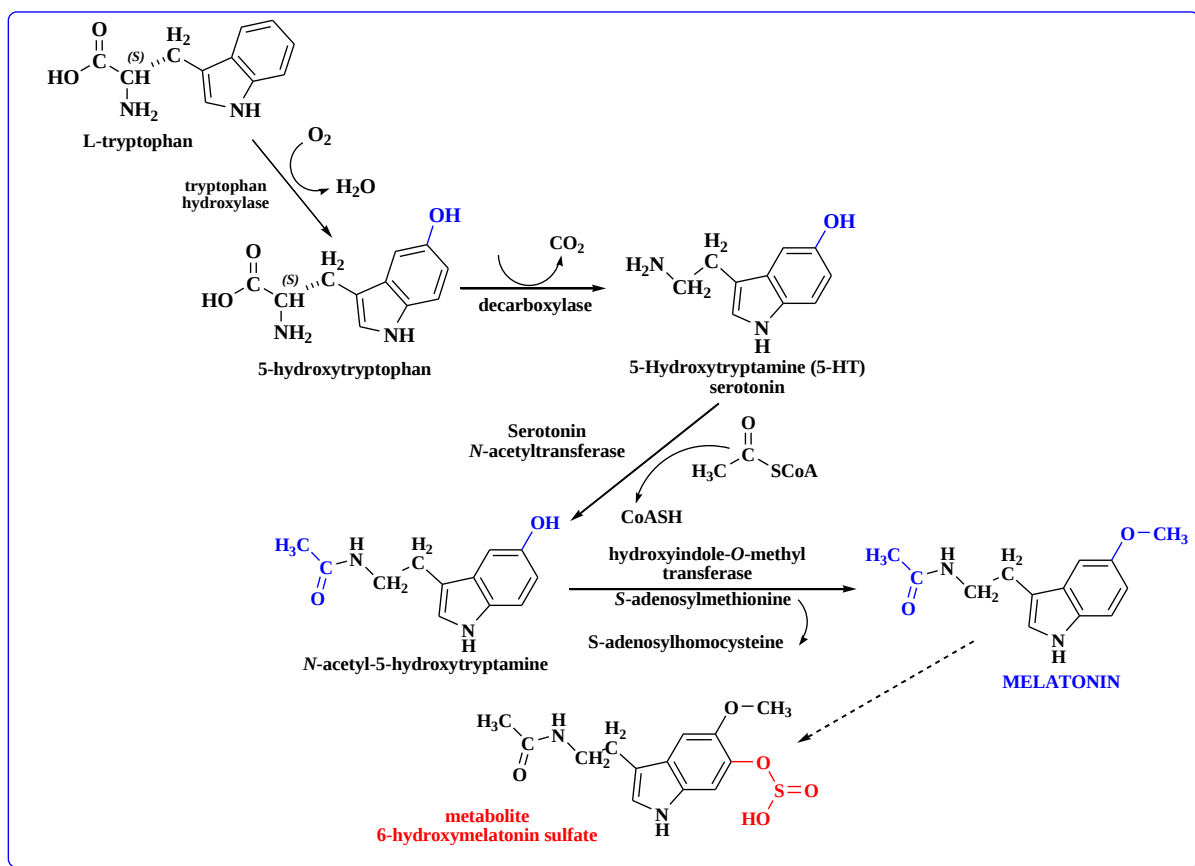
Patomechanizm udaru mózgu związany jest z reakcją zapalną, która przebiega wieloetapowo. Modyfikacja odpowiedzi immunologicznej może pomóc w ustaleniu roli cytokin prozapalnych jako wczesnych biomarkerów, co w konsekwencji umożliwi zmniejszenie uszkodzenia tkanki nerwowej i pozwoli na perspektywną interwencję terapeutyczną w ostrej fazie udaru mózgu.

U pacjentów z udarem dochodzi także do zaburzenia homeostazy oksydacyjno-antyoksydacyjnej i nasilenia stresu oksydacyjnego. Jest on niezwykle ważnym elementem patogenezy niedokrwiennego uszkodzenia komórek nerwowych, w którym pośredniczy wapń. RFT mogą być konstytutywnie produkowane przez uszkodzone mitochondria oraz wytwarzane przez aktywację receptorów komórkowych, transdukujących sygnały z mediatorów zapalnych. Są one wytwarzane podczas faz niedokrwiennych i reperfuzyjnych zaburzając równowagę potencjału redoks w komórce. Skutkiem działania RFT jest peroksydacja białek, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz uszkodzenia wewnątrzkomórkowe tj. inaktywacja enzymów, zmiany strukturalne w cząsteczkach węglowodanów a w konsekwencji apoptoza.

Utlenianie reszt aminokwasowych prowadzi do powstania stosunkowo stabilnych grup karbonylowych, które mogą być markerami jakościowymi i ilościowymi umożliwiającymi ocenę uszkodzenia oksydacyjnego białek. Karbonylowanie białek jest nieenzymatycznym dodatkiem aldehydów lub ketonów do określonych reszt aminokwasowych.

Organizmy aerobowe ze względu na fakt, iż w procesach oddychania wykorzystują tlen jako substrat, wykształciły mechanizmy obronne zabezpieczające przed skutkami działania RFT. W skład tego systemu wchodzi zarówno układ enzymatyczny, dysmutazy nadadtlenkowe (SODs; EC 1.15.1.1), katalaza (CAT; EC 1.11.1.6), peroksydazy glutationowe (GPxs; EC 1.11.1.9), reduktaza glutationowa (GR; EC 1.6.4.2), który neutralizuje RFT oraz zapobiega uszkodzeniom ważnych struktur komórkowych jak i związków niskocząsteczkowych. Jednym z ważniejszych nieenzymatycznych

antyoksydantów oprócz zredukowanego glutationu (GSH), kwasu askorbinowego, kwasu moczowego, tokoferoli, karotenoidów uważa się melatoninę, hormon szyszynki, który moduluje rytm okołodobowy. Substratem w syntezie melatoniny (5-metoksy-*N*-acetylotryptamina, MEL) jest aminokwas tryptofan, który w kolejnych etapach ulega hydroksylacji, dekarboksylacji, acetylowaniu i metylowaniu grupy -OH. MEL wydalany jest z organizmu wraz z moczem między innymi w postaci siarczanu 6-hydroksymelatoniny przy udziale cytochromu P450. Szlak syntezy melatoniny przedstawia Rysunek 2.



Rysunek 2. Szlak syntezy melatoniny.

Aktywność melatoniny w organizmie jest regulowana poprzez dwa specyficzne receptory MT1 i MT2, receptory transbłonowe białek G. Melatonina chroni przed zmianami wywołanymi stresem, wymiatając wolne rodniki w tym rodnik hydroksylowy ($\bullet OH$), anion nadtlendioazotanowy(III) ($ONOO^-$) i kwas nadtlendioazotanowy(III) ($ONOOH$) lub jego aktywowaną postać $ONOOH^*$ oraz przed tlenową singletową toksycznością. Melatonina wykazuje również właściwości przeciwzapalne, przeciwangiogenne i neuroprotektoryjne. Polegają one między innymi na regulowaniu ścieżki sygnałowej PI3K/Akt, podczas której dochodzi do aktywacji antyapoptotycznych białek z rodziny Bcl-2. Ze względu na swoje właściwości i funkcje, melatonina może być ważnym parametrem diagnostycznym w przebiegu udaru niedokrwinnego mózgu.

Ze względu na liczne przesłanki wskazujące na udział stanu zapalnego w chorobach cywilizacyjnych, postanowiłam ocenić udział markerów modulujących odpowiedź immunologiczną w patogenezie udaru niedokrwinnego mózgu pacjentów trombolitycznych. Wyniki tych badań zostały przedstawione w pracach wykazanych jako osiągnięcie naukowe pod numerem 2 i 3.

Uszkodzeniu mózgu towarzyszy stan zapalny mający wpływ na ogólnoustrojową reakcję immunologiczną z towarzyszącą limfocytopenią. Szczególne znaczeniu w udarze mózgu mają $TNF-\alpha$ i

IL-6, która jest odpowiedzialna za syntezę białek ostrej fazy (APPs). Odpowiedź immunologiczna organizmu pozostaje kwestią kontrowersyjną i przedmiotem wielu sporów, zwłaszcza czy rola układu odpornościowego niesie ze sobą korzystne czy szkodliwe konsekwencje. Istnieje opinia, że układ odpornościowy może działać jako obiecujące i ważne narzędzie wykorzystywane w modulowaniu uszkodzeń mózgu podczas i po udarze. Jednak pomimo szeroko zakrojonych badań nie udało się wyodrębnić żadnych znaczących markerów, które mogłyby być przydatne w diagnostyce i prewencji udaru. Ponadto w literaturze nie ma jednoznacznych doniesień na temat prognostycznej roli IL-6, wysokoczułego CRP (hsCRP) i TNF- α w trombolizie dożylniej.

Przedmiotem kontrowersji pozostaje także wpływ biomarkerów stanu zapalnego na odległe rokowanie chorych leczonych rekombinowanym tkankowym aktywatorem plazminogenu (rt-PA) stosowanym w dożylniej terapii trombolitycznej i wewnątrznaczyniowej. Sugeruje się, że cząsteczkami wpływającymi na rokowanie pacjenta są cytokiny, jednak nie ma jasnych informacji odnośnie ich wpływu na przebieg udaru mózgu.

W podjętych badaniach zilustrowano udział biomarkerów stanu zapalnego, takich jak IL-6, hsCRP, TNF- α w etiologii ostrego udaru niedokrwionego (AIS; Arterial Ischemic Stroke). Biomarkery stanu zapalnego oceniono w różnych odstępach czasowych, tj. < 4,5 h w 1 i 7 dobie od udaru i porównano je z poziomem ich stężeń u osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolę. Uzyskane wyniki badań pozwoliły ocenić rolę tych mediatorów zapalnych w przewidywaniu rokowania czynnościowego po leczeniu trombolitycznym. Dokładna analiza tych parametrów pomaga również lepiej zrozumieć, w jaki sposób stan zapalny przyczynia się do progresji udaru mózgu w zaburzeniach krążenia mózgowego.

Wydaje się to być cenne wskazanie do modulowania mechanizmów odpowiedzi immunologicznej w celu ograniczenia uszkodzenia tkanki nerwowej po niedokrwieniu.

W **pracy nr 2** oceniono poziom hsCRP oraz korelację tego parametru ze stężeniem IL-6 między grupami pacjentów z korzystnym (0–2 punkty w mRS (modified Rankin Scale)) i niekorzystnym (3–6 punktów w mRS) wynikiem czynnościowym zarówno w momencie wypisu ze szpitala jak i po 90 dniu od wystąpienia udaru mózgu. U pacjentów z AIS, na podstawie uzyskanych wyników, stwierdziłam dodatnią korelację między badanymi parametrami, **co świadczy, że hsCRP jest nie tylko wskaźnikiem zakażenia w fazie podostrej, ale może być również markerem uszkodzenia naczyń w przebiegu miażdżycy.** Podczas gdy podobnie jak inni autorzy nie potwierdziłam wcześniejszych doniesień wykazujących związek między hsCRP a rokowaniem leczenia trombolitycznego.

Wykazałam również, że infekcja związana z udarem (ponad trzy dni po chorobie) może mieć wpływ na rokowanie krótko i długoterminowe i to niezależnie od wartości stężeń hsCRP i IL-6 oznaczanych w momencie przyjęcia pacjenta do szpitala. Stwierdziłam także brak negatywnego wpływu cukrzycy na rokowanie terapii trombolitycznej u pacjentów z lekkimi i umiarkowanymi objawami choroby, co potwierdza zasadność liberalizacji wytycznych terapii trombolitycznej udaru mózgu u chorych z cukrzycą.

W kolejnym badaniu (**praca nr 3**) zbadano korelacje między stężeniami dwóch biomarkerów IL-6 i TNF- α oraz ich wpływ na stan funkcjonalny oraz wczesne i długoterminowe rokowania pacjentów.

W badaniu wykazałam, że stężenia IL-6 w surowicy przed rozpoczęciem trombolizy dożylniej oraz w 1 dobie od udaru były niższe w podgrupie pacjentów z korzystnym wynikiem czynnościowym (mRS: 0–2 punktów) w porównaniu do grupy pacjentów z uzyskanym niekorzystnym wynikiem czynnościowym (mRS: 3–6 punktów) ocenionym przy przyjęciu, wypisie, po 3 miesiącach i po roku. Wykazałam również istotne statystycznie różnice w stężeniach IL-6 ocenionej po 24 h dla pacjentów z mRS: 0–2 pkt i mRS: 3–6 pkt zarówno przy przyjęciu, wypisie i po trzech miesiącach, a także po 7 dniach ocenionym przy przyjęciu. Stwierdziłam także istotne statystycznie różnice stężenia biomarkera TNF- α < 4,5 h w podgrupie pacjentów z korzystnym wynikiem funkcjonalnym w porównaniu do pacjentów z niekorzystnym wynikiem w momencie wypisu ze szpitala, po trzech miesiącach oraz po roku. Podobne

wyniki statystyczne uzyskano dla stężenia IL-6 oznaczonej po 24 h dla grupy pacjentów których stan neurologiczny był oceniany po roku.

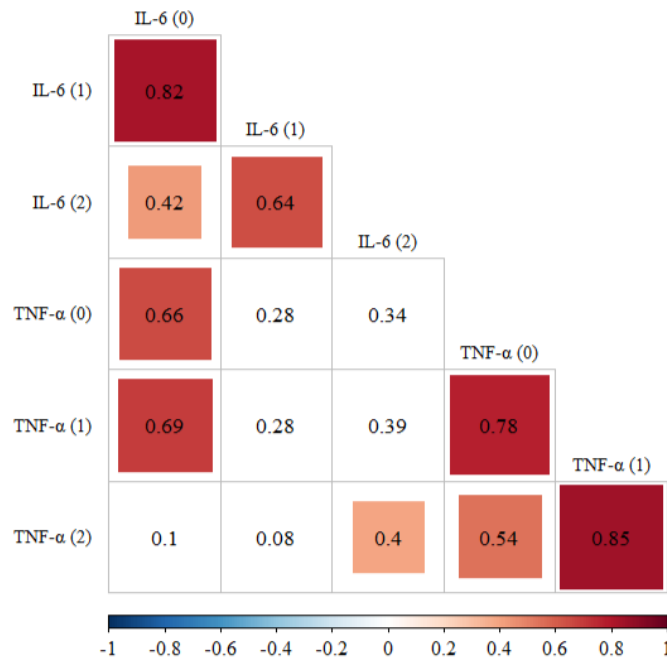
Wykazałam, również, że wyższe stężenie IL-6 w ostrej fazie udaru mózgu oraz ocenionej w 1 dobie i w 7 dobie tylko przy wypisie wiązało się z gorszym wczesnym i odległym rokowaniem pacjentów leczonych trombolizą dożylną. Stwierdziłam korelację pomiędzy stężeniem TNF- α oznaczonym w czasie on-set, ze skalą NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) przy przyjęciu oraz mRS ocenioną w 3 miesiącu po przebytych udarze mózgu. Potwierdziłam zatem związek między poziomem IL-6 i TNF- α a nasileniem deficytu neurologicznego. **Wykazałam, że badane biomarkery mogą być czynnikami prognostycznymi w leczeniu trombolitycznym AIS, domniemanymi markerami ciężkości udaru.**

Ze względu na fakt, że stwierdzono istotny związek między poziomem cytokin a wynikiem funkcjonalnym w grupie pacjentów bez wcześniejszej infekcji i innych zapalnych chorób przewlekłych, można wnioskować, że są one zapalnymi markerami ostrego niedokrwinnego uszkodzenia mózgu, a ich poziom nie jest wynikiem przewlekłego stanu zapalnego. We wcześniejszych doniesieniach innych autorów wzrost stężenia IL-6 często wiązał się ze słabymi wynikami czynnościowymi, ale nie było jasne, czy był to efekt niezależny, czy też związany z współistniejącą infekcją.

W badaniu wykazałam wyższe stężenie biomarkerów stanu zapalnego (IL-6, TNF- α) w czasie on-set oraz w ciągu 24 h i po 7 dniach od chwili wystąpienia udaru w porównaniu do osób zdrowych, które stanowiły grupę kontrolną. Co ciekawe najwyższy ich wzrost zaobserwowano w 24 h od momentu pojawienia się zmian klinicznych udaru.

Ze względu na fakt, iż stężenie IL-6 i TNF- α wzrosło już w okresie kilku godzin od wystąpieniu niedokrwienia można przypuszczać, że są one kluczowymi markerami zapalnymi udaru i mogą mieć wpływ na ewolucję zawału, jeśli zostaną uwolnione w miejscu neuronów niedokrwiniennych. Cytokiny te są przede wszystkim odpowiedzialne za początek niedokrwiennej kaskady zapalnej i biorą udział w ewolucji zawału oraz mogą mieć wpływ na nasilenie i wynik choroby. Należy jednak wziąć pod uwagę, że TNF- α i IL-6 odgrywają również rolę w ochronie miąższu mózgu przed uszkodzeniem spowodowanym udarem niedokrwinnym w kolejnych stadiach niedokrwiniennych. W związku z tym te biomarkery wydają się mieć dwojakie działanie na zapalenie mózgu. W rzeczywistości odgrywają rolę prozapalną podczas pierwszego etapu zapalenia w ośrodkowym układzie nerwowym oraz rolę immunosupresyjną i neurotropową w fazie przewlekłej.

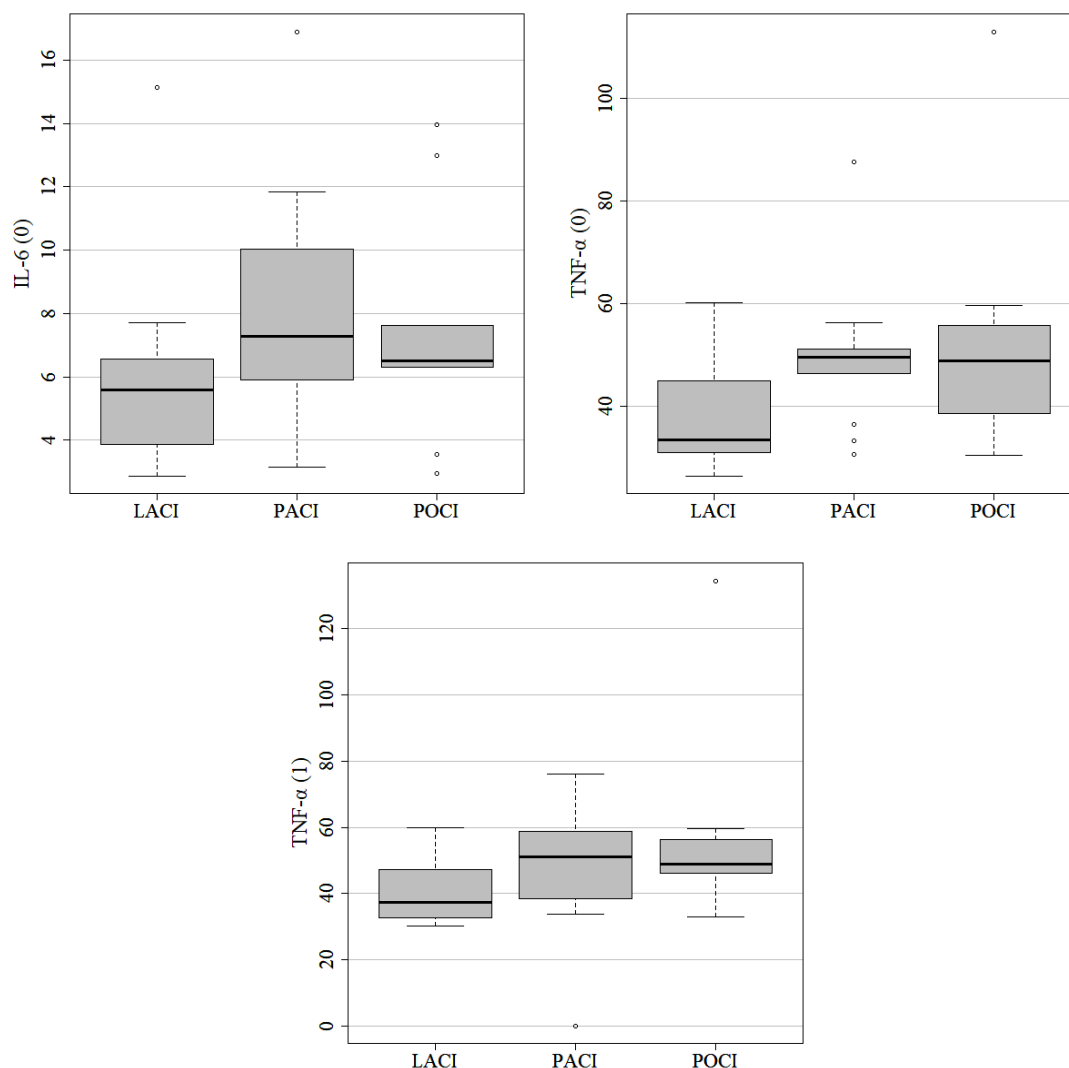
Co ciekawe, stwierdziłam także dodatnią korelację między stężeniem IL-6 i TNF- α u pacjentów z AIS w czasie on-set oraz w 1 dobie od zajścia udaru (Rysunek 3), co oznacza, że wraz ze wzrostem stężenia TNF- α rośnie stężenie IL-6. TNF- α pobudza perycyty mózgu do wzmożonej syntezy IL-6 poprzez aktywację czynnika kappa B (NF- κ B). Peryferyjne wytwarzanie TNF- α związane z wyraźnymi zmianami prozapalnymi w mózgu powstałymi na skutek ogniskowego niedokrwienia powoduje szeroką aktywację zapalnych cytokin w obwodowych narządach układu immunologicznego.



Rysunek 3. Korelacje między biomarkerami. Statystycznie istotne powiązania są zaznaczone kolorem (wartości korelacji wpisane są w kafelkach).

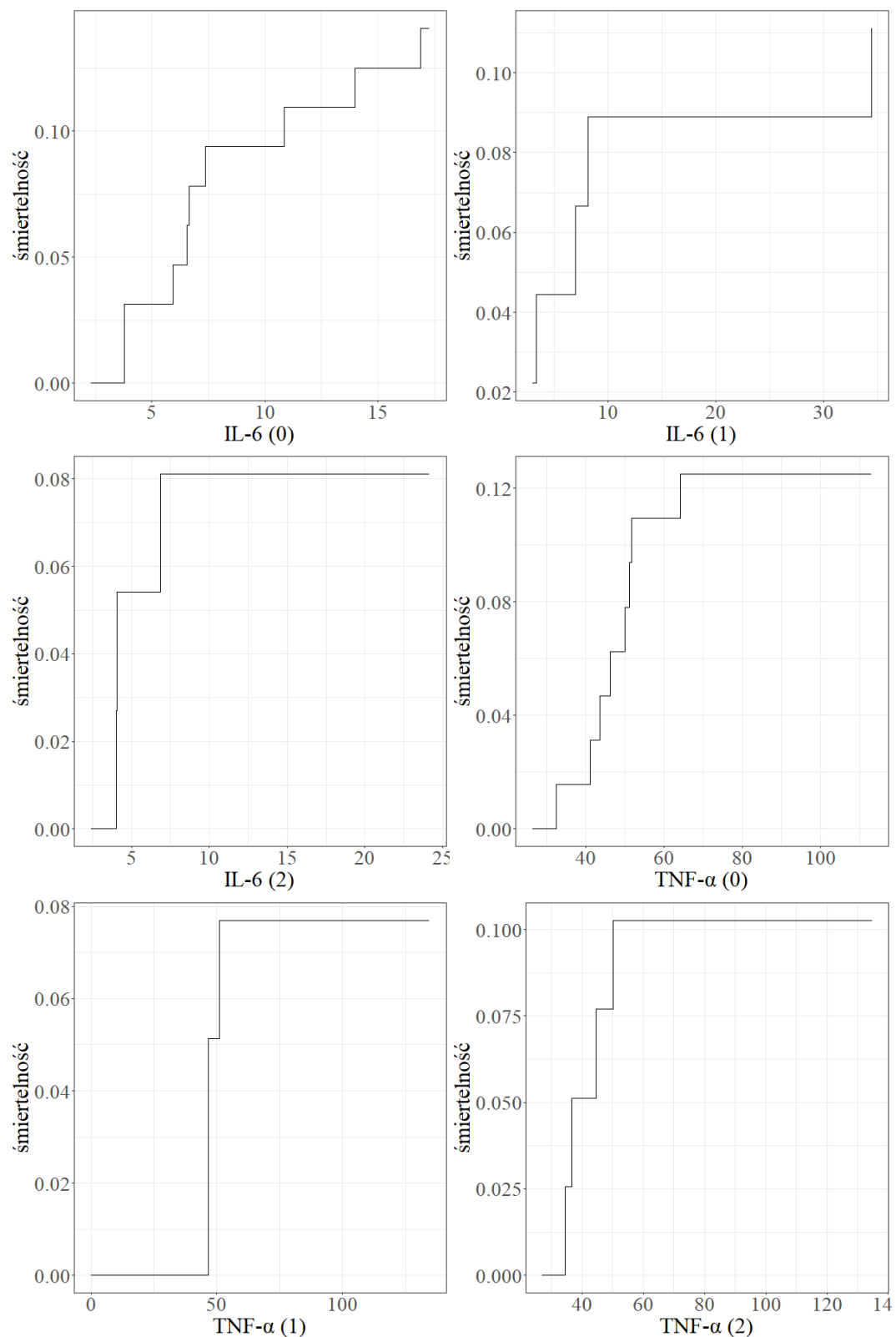
IL-6 (0) – interleukina 6 po 4,5 h; IL-6 (1) – interleukina 6 po 24 h; IL-6 (2) – interleukina 6 w 7 dobie; TNF-α (0) – czynnik martwicy nowotworu po 4,5 h; TNF-α (1) – czynnik martwicy nowotworu po 24 h; TNF-α (2) – czynnik martwicy nowotworu w siódmej dobie.

Przeprowadzając analizę biomarkerów zapalnych między różnymi typami udarów stwierdziłam statystycznie niższe stężenie IL-6 u pacjentów z AIS typu LACI (lacunar cerebral infarcts; udar lakunarny) w porównaniu do typu PACI (partial anterior circulation infarcts; zawału mózgu związany z częściową niedrożnością jednej z tętnic krążenia przedniego mózgu) w czasie < 4,5 h. Stwierdziłam również statystyczne różnice między LACI i POCI (posterior circulation infarcts; zawał mózgu w obszarze unaczynienia tylnego) dla TNF-α w czasie on-set oraz w pierwszej dobie udaru. Podobnie jak inni autorzy wykazałam niższe stężenia IL-6 i TNF-α w surowicy u pacjentów z udarem lakunarnym spowodowanym mikroangiopatią mózgową niż u pacjentów z inną etiologią AIS (Rysunek 4).



Rysunek 4. Biomarkery stanu zapalnego w zależności od podtypów udaru.

Kaskada zapalna, która utrzymuje się i funkcjonuje przez cały proces udaru, wpływa na pogorszenie stanu funkcjonalnego, zwiększając śmiertelność pacjenta. **W badaniach wykazałam, że stężenie w surowicy IL-6 już powyżej 4 pg/ml i $\text{TNF-}\alpha > 37 \text{ pg/ml}$ oznaczone w 7 dobie od udaru mózgu może świadczyć o wysokim prawdopodobieństwie zgonu pacjentów (Rysunek 5).** Są to dane **nowatorskie**. Wcześniej autorzy wykazali, że poziom IL-6 wynoszący 6,47 pg/ml jest progiem, powyżej którego zmniejsza się szansa przeżycia pacjentów z ostrym udarem mózgu.

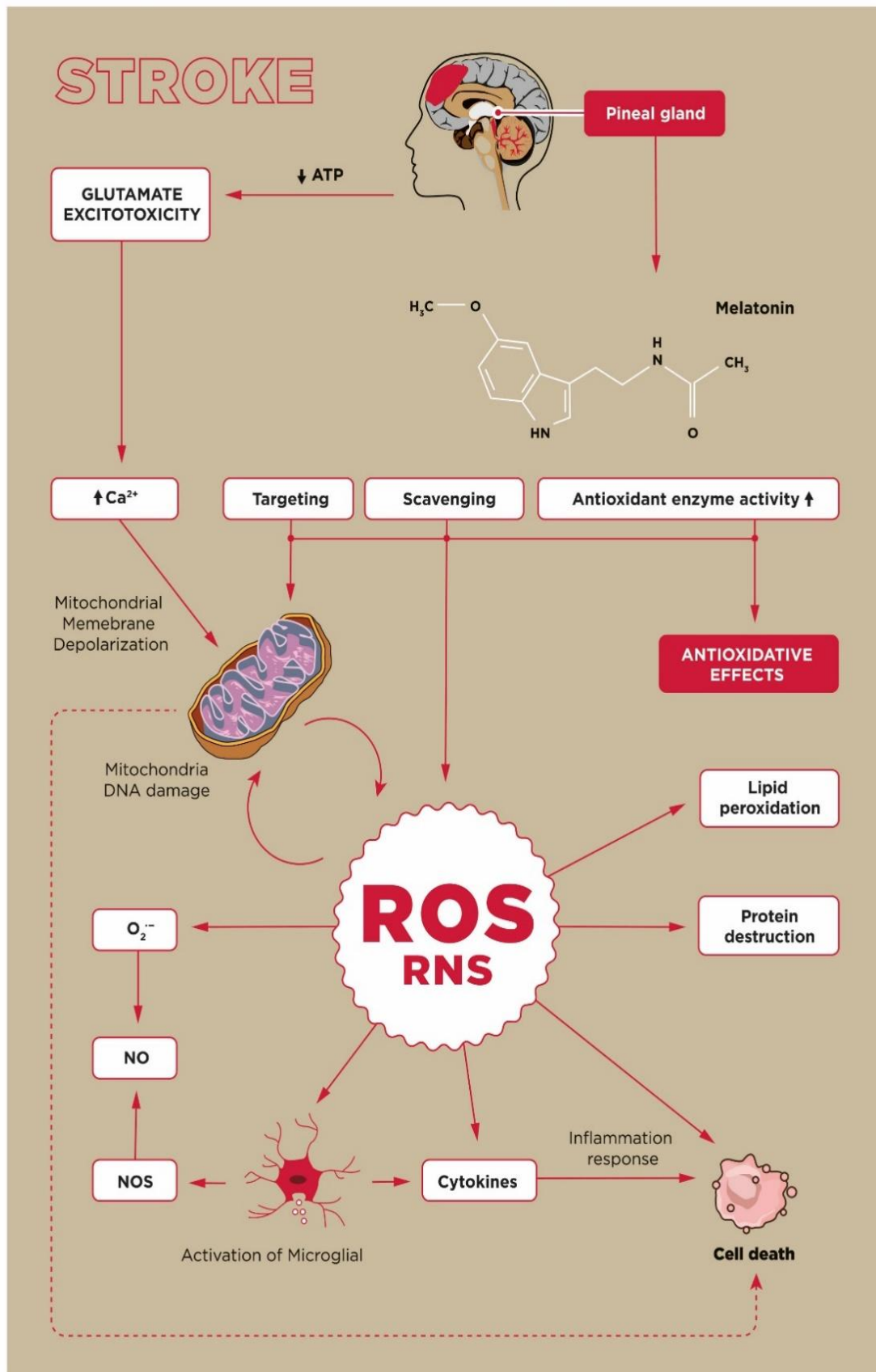


Rysunek 5. Wpływ wartości oznaczanych biomarkerów na śmiertelność pacjentów.

Coraz więcej dowodów potwierdza fakt, że nasilenie udaru niedokrwiennego i objętość zawału są związane z odpowiedzią zapalną. Odpowiedź immunologiczna podczas niedotlenienia mózgu może być obiecującym celem w rozwoju nowych terapii neuroprotekcyjnych. Interesujące może być również

rozważenie zastosowania terapii immunomodulacyjnej mającej na celu ograniczenie wczesnej odpowiedzi zapalnej w udarze poprzez hamowanie IL-6 i TNF- α . Skuteczność tej formy terapii z wykorzystaniem przeciwciała hamującego receptor IL-6, tocilizumabu, zaobserwowano już w leczeniu niektórych chorób. W badaniach przedklinicznych gdzie wykorzystano leczenie antagonistą receptora TNF- α (R-7050) również zapewniło ochronę przed deficytami neurologicznymi po udarze, zawałem mózgu, obrzękiem, stresem oksydacyjnym i aktywacją kaspazy 3. **Biomarkery zapalne mogą być zatem wykorzystane do wczesnego rozpoznania choroby i stać się istotnym narzędziem w procesie modulowania uszkodzenia mózgu ze względu na ich udział w etiologii udaru.**

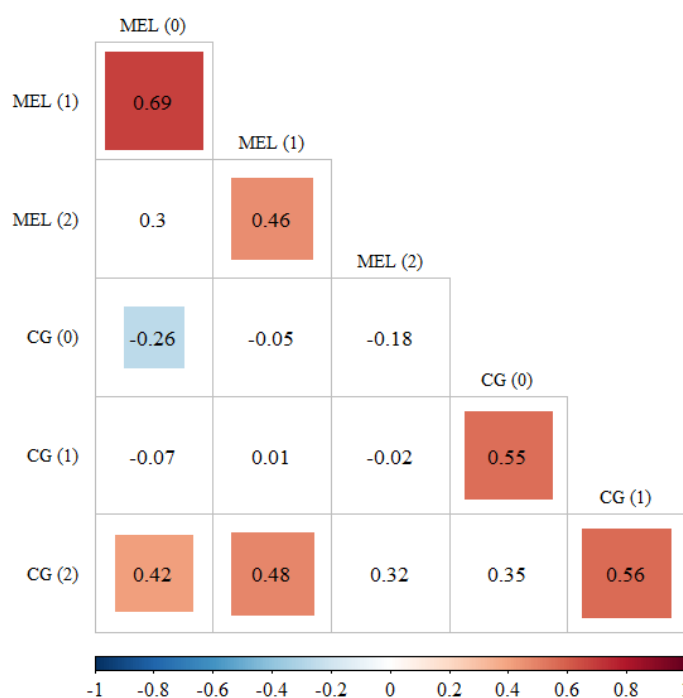
W patogenezie udaru oprócz stanu zapalnego ważną rolę odgrywa również stres oksydacyjny (Rysunek 6) dlatego postanowiłam ocenić stopień uszkodzenia białek oraz zawartość metabolitu melatoniny, siarczanu 6-hydroksymelatoniny (6-SM) w różnym przedziale czasowym u pacjentów trombolitycznych.



Rysunek 6. Stres oksydacyjny w udarze mózgu.

Oznaczony poziom biomarkerów stresu oksydacyjnego porównałam z uzyskanymi wynikami dla grupy kontrolnej oraz oceniłam korelację tych wskaźników ze stanem czynnościowym pacjentów z wykorzystaniem skal neurologicznych. Wyniki tych badań zostały przedstawione w **pracy** wykazanej jako osiągnięcie naukowe pod numerem 4.

Uszkodzenie oksydacyjne białek zostało udokumentowane jako zwiększone stężenie grup karbonylowych w białkach surowicy w porównaniu do grupy kontrolnej. **Zaobserwowano już w ostrej fazie udaru (< 4,5 h) wzrost stężenia grup karbonylowanych z ich maksymalnym stężeniem w pierwszej dobie od udaru i powolnym ich spadkiem w siódmej. Do tej pory nie oznaczono stężenia białek karbonylowych w czasie onset-to-needle. Jest to pierwsze tego typu badanie. Z kolei stężenie metabolitu melatoniny w moczu było niższe w porównaniu do grupy kontrolnej, co sugeruje że pacjenci leczeni trombolitycznie mają upośledzenie wydalanie metabolitu z moczem oraz niską ochronę antyoksydacyjną.** W badaniu zaobserwowałam wzrost stężenia metabolitu melatoniny w ciągu pierwszych 24 h w porównaniu do jej poziomu z przed < 4,5 h u chorych leczonych trombolitycznie oraz utrzymanie się jej poziomu w ciągu kolejnych dni. **Może to świadczyć o neuroprotektoryjnej roli melatoniny rozpoczynającej się już w fazie ostrej udaru.** Istotną statystycznie dodatnią korelację zaobserwowano też między stężeniem melatoniny oznaczonym w czasie < 4,5 h i 24 h a stężeniem grup karbonylowych oznaczonych w siódmej dobie (Rysunek 7).



Rysunek 7. Korelacje między stężeniami biomarkerów po < 4,5 godz., 24 godz. i po 7 dniach. Statystycznie istotne powiązania są zaznaczone kolorem (wartości korelacji wpisane są w kafelkach).

CG (0) – stężenie grup karbonylowych oznaczone po 4,5 h; CG (1) – stężenie grup karbonylowych oznaczone po 24 h; CG (2) – stężenie grup karbonylowych oznaczone po 7 dniach; MEL (0) – stężenie metabolitu melatoniny oznaczone po 4,5 h; MEL (1) – stężenie metabolitu melatoniny oznaczone po 24 h; MEL (2) – stężenie metabolitu melatoniny oznaczone po 7 dniach.

Ujemną natomiast korelację wykazano między stężeniem grup karbonylowych a poziomem melatoniny w czasie < 4,5 h, co może sugerować stopniowe uszkodzenie białek. Prawdopodobnie dopiero ≥ 24 h może dochodzić do maksymalnej produkcji reaktywnych form tlenu i dlatego obserwujemy wyższy poziom melatoniny w surowicy, aby zrekompensować zwiększone wytwarzanie produktów

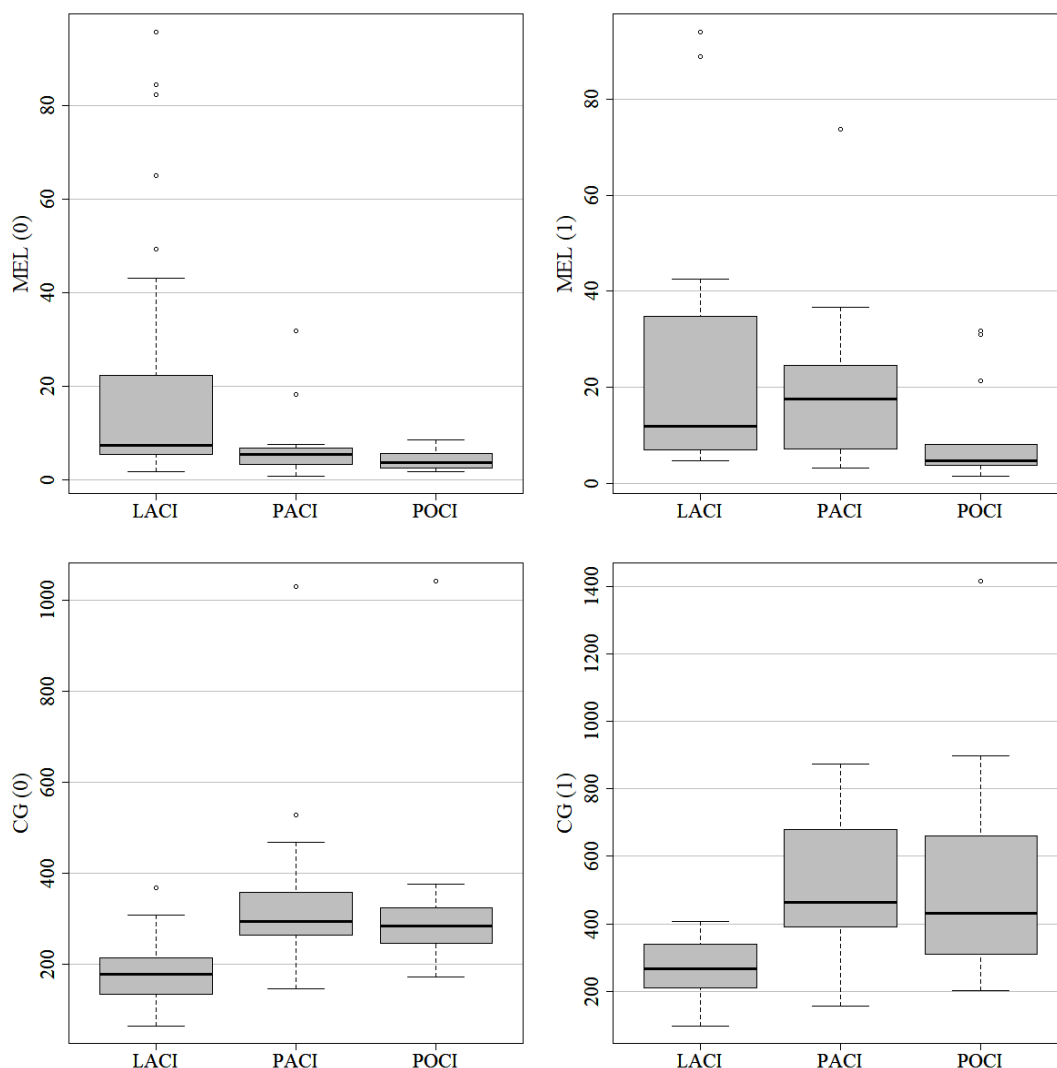
utleniających. Dochodzi tu do aktywacji endogennego układu antyoksydacyjnego dążącego do utrzymania homeostazy redoks, dlatego endogenna melatonina może wzrosnąć jako czynnik wtórny pierwotnego uszkodzenia mózgu.

W badaniu wykazałam, że stężenie grup karbonylowych przed trombolizą dożylną było niższe w podgrupie pacjentów z korzystnym wynikiem czynnościowym w porównaniu z grupą pacjentów z niekorzystnym wynikiem czynnościowym przy przyjęciu, przy wypisie, po 3 miesiącach i po roku od udaru. Ponadto wystąpiły również istotne statystycznie różnice w stężeniu metabolitu melatoniny ocenianym w 1 dobie udaru u pacjentów z korzystnym wynikiem czynnościowym w porównaniu z pacjentami z wynikiem niekorzystnym w momencie przyjęcia do szpitala.

Wykazałam również, że wyższe stężenie grup karbonylowych w ostrej fazie udaru, wiązało się z gorszym rokowaniem początkowym i późnym u chorych leczonych trombolizą dożylną. Stwierdzono korelację między poziomami grup karbonylowych mierzonymi w czasie zachorowania za pomocą skali NIHSS przy przyjęciu, wypisie oraz mRS ocenianym przy przyjęciu, wypisie, w trzecim miesiącu po udarze oraz po 1 roku. Zaobserwowałam także związek między siarczanem 6-hydroksymelatoniny ocenionym po 24 h a skalą nasilenia deficytu neurologicznego przy przyjęciu.

Wykazano zatem związek między poziomami grup karbonylowych i siarczanem 6-hydroksymelatoniny a nasileniem deficytu neurologicznego. **Po raz pierwszy stwierdzono istotną korelację między stopniem utlenienia reszt aminokwasowych oraz siarczanem 6-hydroksymelatoniny a zmodyfikowaną skalą Rankina, oceniającą stan czynnościowy pacjentów po udarze mózgu. Udowodniłam zatem, że badane biomarkery mogą działać jako czynniki prognostyczne w leczeniu trombolitycznym AIS. Szczególnie obiecującym biomarkerem wydają się być grupy karbonyłowe, które mogą być uznawane za potencjalny marker rozległości uszkodzenia tkankowego mózgu dokonującego się w fazie nad ostrej udaru i wynikających z tego ostatecznych konsekwencji klinicznych.**

Nikt do tej pory też nie podał informacji o stężeniach tych markerów w poszczególnych podtypach udaru klasyfikowanych według TOAST. **Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziłam niższe wartości stężeń grup karbonylowych w białkach oraz wzrost stężenia siarczanu 6-hydroksymelatoniny u chorych z udarem lakunarnym, wywołanym mikroangiopatią, w porównaniu do pozostałych podtypów udaru (Rysunek 8).**

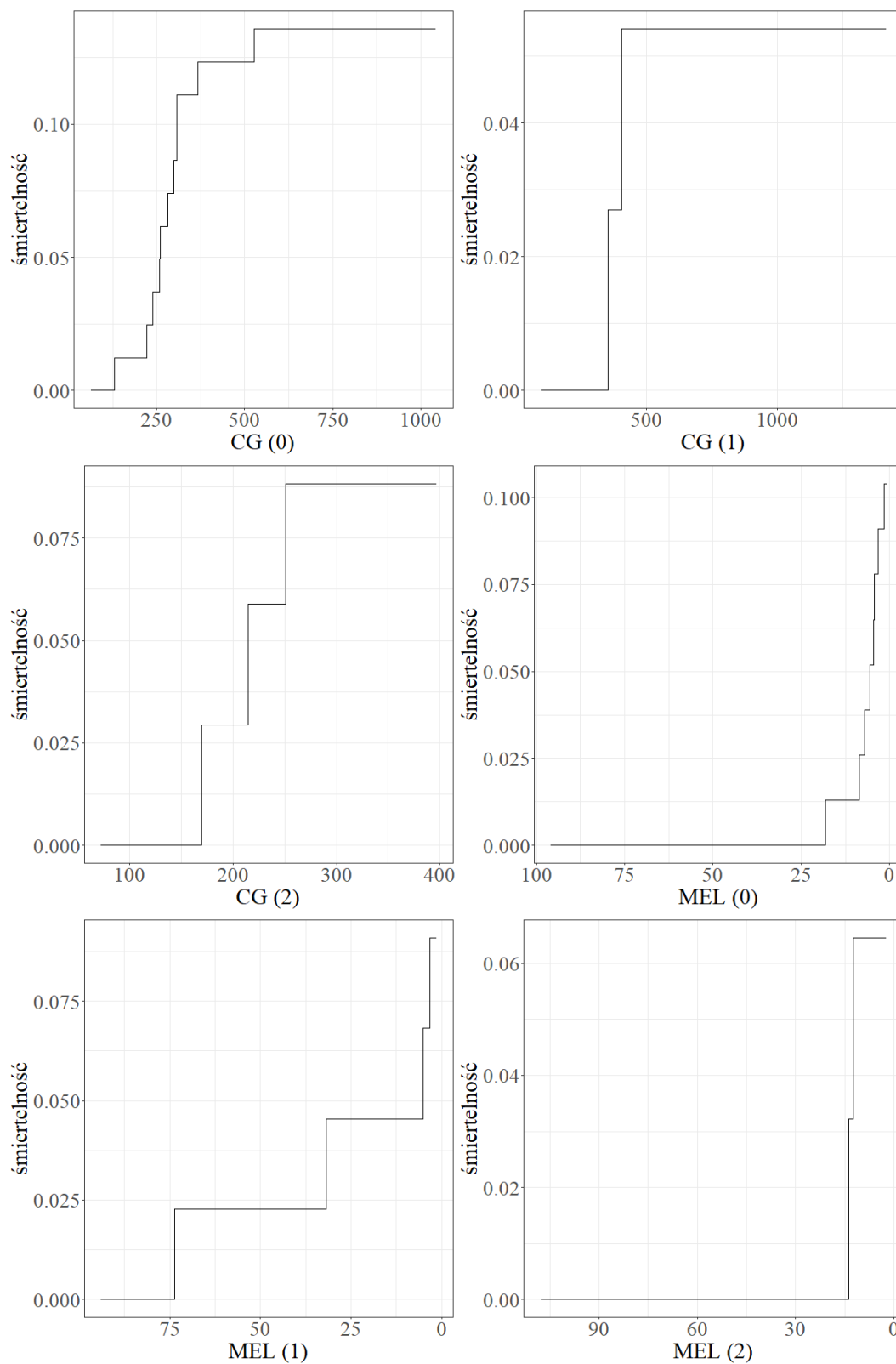


Rysunek 8. Wartości biomarkerów stresu oksydacyjnego w zależności od podtypów udaru.

W trakcie hospitalizacji, krytycznie chorzy pacjenci wykazują niższy poziom melatoniny w odniesieniu do grupy pacjentów z udarem lakunarnym. W rozległych zmianach korowych może wystąpić opóźnienie w wydzielaniu melatoniny podczas pierwszych dni po udarze a zaburzony status przeciwutleniacza u chorych może prowadzić do postępu zmian miażdżycowych i zwiększonego ryzyka zmian naczyniowomózgowych. Upośledzenie endogennego wydzielania melatoniny może być wynikiem deficytów neurologicznych oraz jej wykorzystania jako zmiatacza zarówno reagentów tlenowych, jak i azotowych które są podwyższone podczas niedokrwienia czy reperfuzji. Dodatkowo masowe uwalnianie glutaminianu do mózgu i jego dyfuzja do podwzgórza powoduje zakłócenie neuronów zegarowych podwzgórza. Czas uwalniania glutaminianu i jego rozprzestrzenianie się do podwzgórza jest osobnicze i może być powodem zaburzenia wydzielania melatoniny. Warto również wspomnieć, że nieprawidłowości w rytmie dobowym pacjentów po udarze mogą być ilościowo zależne od odległości udaru od podwzgórza. Nie można jednak wykluczyć bezpośredniego uszkodzenia jąder suprachiasmatycznych (supra-chiasmatic nuclei), jąder nadskrzyżowaniowych podwzgórza (SCN), których uszkodzenie może powodować desynchronizację procesów rytmicznych i zaburzenie wydzielania melatoniny.

Wykazałam również związek pomiędzy wartościami grup karbonylowych i 6-sulfatoksymelatoniny a śmiertelnością pacjentów z udarem (Rysunek 9). Podwyższony poziom melatoniny jest wynikiem

kompensacji dla utrzymania równowagi między stanem utleniacza i przeciwutleniacza. Niewystarczające jej stężenie może prowadzić do zwiększonej peroksydacji i ostatecznie do zgonu pacjentów.



Rysunek 9. Wpływ wartości oznaczanych biomarkerów na śmiertelność pacjentów.

Uzyskane wyniki badań mogą świadczyć o wzmożonym stresie oksydacyjnym u pacjentów trombolitycznych co potwierdza podwyższony poziom grup karbonylowych i obniżone stężenie

melatoniny. Poziom grup karbonylowych może być potencjalnym parametrem uszkodzenia białek u pacjentów trombolitycznych w AIS. Natomiast melatonina może pełnić funkcję neuroprotekcyjną w fazie ostrej i podostrej udaru. Z tego powodu należy rozważyć jej suplementację aby zapobiec defektom tak behawioralnym jak i neurofizjologicznym spowodowanym niedotlenieniem i niedokrwieniem mózgu, czy uszkodzeniem rdzenia kręgowego. Suplementacja hormonalna pozwoli zrozumieć interakcje między egzogenną melatoniną i jej endogennym rytmem oraz to jak te zależności mogą wpłynąć na wyniki pacjentów z udarem. Należy zatem zwrócić uwagę na projektowanie i prowadzenie badań klinicznych, które pozwolą dokładnie zbadać bezpieczeństwo i potencjalne zastosowanie melatoniny w terapii trombolitycznej u pacjentów z udarem mózgu.

4.4. WYKAZ DOROBKU Z OKRESU CAŁEJ KARIERY ZAWODOWEJ ORAZ INFORMACJE O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ REALIZOWANEJ WIĘCEJ NIŻ W JEDNEJ UCZELNI NA PODSTAWIE WSPÓŁPRACY Z INNYMI JEDNOSTKAMI O ZASIĘGU KRAJOWYM I MIĘDZYNARODOWYM

Charakterystykę pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, jakie uzyskałam w okresie mojej pracy zawodowej przedstawiam poniżej.

Studia na kierunku biologia, specjalizacja biologia ogólna na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu rozpoczęłam w roku 1986. Badania stanowiące podstawę mojej pracy magisterskiej prowadziłam w Zakładzie Kręgowców Instytutu Biologii. W tym samym czasie jako studentka V roku byłam zatrudniona na etacie techniczno-naukowym w Katedrze Biochemii UMK, której kierownikiem był dr hab. Michał Komoszyński. W pracowni naukowo-badawczej miałam okazję poznać szerokie spektrum analitycznych metod biochemicznych związanych z izolacją, oczyszczaniem enzymów oraz badaniem ich właściwości fizykochemicznych. Zapoznałam się także z metodami chromatografii cienkowarstwowej i wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz z preparatyką enzymów roślinnych z wykorzystaniem techniki ultrawirowania.

Po ukończeniu studiów, pragnęłam nadal rozwijać swoje zainteresowania naukowe, szczególnie w zakresie nauk biochemicznych. W grudniu 1990 roku podjęłam pracę na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Biochemii Akademii Medycznej w Bydgoszczy (obecnie Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu). Praca w w/w Jednostce umożliwiła mi poszerzenie swojego warsztatu badawczego, gdzie zapoznałam się z preparatyką materiału biologicznego tj.: krew oraz tkanki ludzkie i zwierzęce. Opanowałam techniką fluorymetrycznej metody oznaczania seleniu (Se) oraz spektrofotometryczne metody oznaczania stężeń produktów peroksydacji lipidów – MDA, aktywności enzymów antyoksydacyjnych, antyoksydantów niskocząsteczkowych oraz inne metody oceny poziomów biomarkerów stresu oksydacyjnego.

Badania, które stanowiły temat mojej pracy doktorskiej, przeprowadziłam pod opieką Pana Prof. dr hab. Bronisława Andrzeja Zachary. W pracy doktorskiej dotyczącej poziomu Se pobrano próbki tkanek podczas sekcji od 46 osób zdrowych, które zginęły w wyniku wypadku oraz od 75 osób zmarłych z powodu różnych jednostek chorobowych. Wartości Se w badanych tkankach pozwoliły ocenić zawartość tego pierwiastka u ludzi w Polsce. Wykazano, że poziom seleniu w przeliczeniu na jednostkę masy (wszystkie wyrażone jako ng/g wilgotnej tkanki) w tkankach zmniejszył się w następującej kolejności: nerki > wątroba > śledziona > trzustka > serce > mózg > płuca > kość > mięsień szkieletowy. Najwyższy udział Se stwierdzono w mięśniach szkieletowych, znacznie mniejszy w kościach i krwi. W tkankach pochodzących od osób zmarłych z powodu chorób nowotworowych poziom Se był znacznie niższy niż w grupie kontrolnej. Natomiast najniższe poziomy seleniu stwierdzono w wątrobach u

alkoholików. Odnotowane poziomy selenu w Polsce w badanych tkankach były znacznie niższe niż w innych krajach między innymi w Niemczech, Japonii, Stanach Zjednoczonych oraz Kanadzie. Niski poziom Se w tkankach mieszkańców Polski wynika z niedostatecznego jego poziomu w glebie, który był zbliżony do wartości Se stwierdzonego w Nowej Zelandii. Otrzymane wyniki badań mogą stanowić wskazanie do suplementacji selenu. **Pragnę podkreślić, że były to badania pionierskie, których nikt w Polsce jeszcze nie opublikował.**

Wyniki badań pracy doktorskiej zostały przedstawione w artykule opublikowanym w czasopiśmie z listy filadelfijskiej (II.C.I.2). Prace dotyczące mojej tematyki badawczej przedstawiłam również w czasopiśmie krajowych oraz w materiałach zjazdowych (II.A.1, II.C.II.1-2, II.D.II.1-2).

Pracę doktorską pt. „Rozkład selenu w narządach osób zmarłych z powodu zawału mięśnia sercowego i niektórych innych chorób w regionie pomorsko-kujawskim” obroniłam w listopadzie 1998 roku. W styczniu 2000 roku zostałam zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze i Zakładzie Biochemii ówczesnej Akademii Medycznej w Bydgoszczy.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych z zakresu biologii medycznej moje zainteresowania naukowe skupiły się na zagadnieniach związanych z poziomem Se w wybranych tkankach niemowląt i noworodków. Oprócz pracy laboratoryjnej i opracowania statystycznego przeprowadziłam merytoryczne uzasadnienie otrzymanych wyników badań. Praca oznaczona pozycją II.C.I.1 **stanowiła również jedną z pionierskich badań nad selenem.**

Wykazałam istotną statystycznie dodatnią korelację między stężeniami Se w nerkach i w sercu a czasem trwania ciąży. Poziom Se u niemowląt w niektórych tkankach, za wyjątkiem serca, był od 1,2-2,5 razy niższy w porównaniu do jego wartości u dorosłych osób zdrowych. Nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych w średnich stężeniach Se w tkankach niemowląt, które zmarły z powodu zespołu niewydolności oddechowej czy wrodzonej choroby serca. Prawdopodobnie niski poziom Se w badanych tkankach, w porównaniu z danymi z innych krajów, był wynikiem związanym z niskim spożyciem Se przez kobiety ciężarne w Polsce. Potwierdzeniem tych wniosków była praca nad zawartością Se w diecie (II.C.II.3).

W dalszej karierze naukowej prowadziłam badania związane z zaburzeniem potencjału redoks, które dotyczyły różnych jednostek chorobowych, szczególnie chorób przewlekłych towarzyszących osobom starszym. W Katedrze wdrożyłam metody analityczne niezbędne do przeprowadzenia badań laboratoryjnych pozwalających oznaczenie parametrów stresu oksydacyjnego u ludzi w wieku podeszłym. Badania te przeprowadzano we współpracy z Katedrą i Kliniką Geriatrii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Badania obejmowały parametru stresu oksydacyjnego u pacjentów w wieku podeszłym z różnymi jednostkami chorobowymi o podłożu wolnorodnikowym. **Wyniki badań mogą mieć kluczowe znaczenie dla opracowania skutecznych strategii profilaktycznych i terapeutycznych w kontrolowaniu stanu pacjenta.**

W doświadczeniu przeprowadzonym u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym w wieku powyżej 65 lat stwierdzono wyższy poziom oksydacyjnych uszkodzeń białek określanym na podstawie stężenia grup karbonylowych, obniżoną biodostępność wazodylatacyjnego tlenu azotu NO (azotan/azotan) w osoczu krwi oraz wyższą aktywność ceruloplazminy (Cp) w porównaniu do grupy kontrolnej (II.A.2, II.C.I.3, II.C.I.18, II.D.II.3). Stwierdzono także istotnie statystycznie wyższe stężenia MDA - markera peroksydacji lipidów w porównaniu do grupy osób zdrowych. Określono również wpływ perindoprilu na badane parametry biochemiczne gdzie wykazano jego korzystne działanie antyoksydacyjne (II.C.I.4, II.C.I.6, II.C.II.4-5, II.D.II.4-7).

W kolejnym eksperymencie oceniono wpływ terapii hipotensyjnej z udziałem diuretyków i leków z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny na wykładniki stresu oksydacyjnego u pacjentów powyżej 65 r. życia z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Zastosowanie tych leków w terapii pacjentów miało korzystny wpływ na utrzymanie równowagi redoks. Terapia inhibitorem konwertazy angiotensyny

miała znaczące działanie przeciwutleniające, z kolei skutkiem podawania perindoprilu był wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz spadek stężenia MDA i aktywności oksydazy Cp, czego nie stwierdzono po podaniu hydrochlorotiazynu (II.C.I.4).

Z kolei w innych pracach (II.C.I.15-18, II.C.II.8-9, II.D.II.9, II.D.II.25, II.D.II.28) dotyczących regulacji ciśnienie tętniczego wykazano udział antyoksydacyjnego układu glutationozależnego i wykazano zaburzenia równowagi potencjału redoks. **Co więcej przeprowadzone badania wskazują na możliwy udział reaktywnych form tlenu (RFT), nie tylko w fizjologicznym procesie starzenia, ale przede wszystkim w patogenezie chorób wieku podeszłego, w tym nadciśnienia tętniczego.**

Brałam także aktywny udział w projektach, w których pacjenci byli poddani suplementacji różnymi nieenzymatycznymi substancjami aktywnymi biologicznie. Szczególne zainteresowanie naszego zespołu wzbudziła możliwość suplementacji melatoniny, hormonu o właściwościach antyoksydacyjnych. Wykazano jej korzystne właściwości antyoksydacyjne (II.C.I.10, II.C.II.9, II.D.II.11, II.D.II.20). Stwierdzono, że hormon ten może być wykorzystany jako terapia wspomagająca w leczeniu nadciśnienia tętniczego w wieku podeszłym (II.C.I.12, II.C.II.7, II.C.II.13, II.D.II.8, II.D.II.12, II.D.II.20). Ponadto wykazano wpływ suplementacji melatoniną na homeostazę pro- i antyoksydacyjną również u pacjentów z cukrzycą typu 2 (II.C.I.13, II.C.I.7, II.D.II.11, II.D.II.14, II.D.II.17, II.D.II.22). Dodatkowo badano wpływ balneoterapii na całkowity potencjał antyoksydacyjny u chorych z cukrzycą (II.D.II.30).

W innych badaniach z moim udziałem wykazano wpływ nieenzymatycznego antyoksydanta koenzymu Q10 na parametry stresu oksydacyjnego w etiologii badanych jednostek chorobowych (II.C.I.9, II.C.I.11, II.C.I.14, II.D.II.13, II.D.II.18).

Kontynuując tematykę wraz z zespołem zaobserwowaliśmy również zaburzoną równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną u osób poddanych ekspozycji hiperbarycznej (II.C.I.5, II.C.I.8, II.C.II.6, II.C.II.11, II.D.II.10, II.D.II.15-16) co było możliwe dzięki współpracy z Zakładem Medycyny Morskiej Wojskowego Instytutu Medycznego w Gdyni.

Oprócz opisanych badań, wiedza i umiejętności zdobyte podczas prac eksperymentalnych, czy laboratoryjnych pozwoliły na zaangażowanie się w inne projekty związane z szeroko pojętymi zmianami wolnorodnikowymi w układach na poziomie molekularnym. Dotyczyły one głównie przebiegu procesów fizjologicznego starzenia się i chorób przewlekłych, ale także wpływu warunków środowiska zewnętrznego na przebieg reakcji o charakterze wolnorodnikowym. Uczestniczyłam w badaniach dotyczących mechanizmu obrony antyoksydacyjnej u pacjentów w różnym wieku (II.C.I.15, II.C.II.8-9). U badanych chorych w wieku podeszłym zaobserwowaliśmy zaburzoną równowagę antyoksydacyjną oraz obniżoną zdolność neutrofili do odpowiedzi immunologicznej nie tylko w przypadku pierwotnego nadciśnienia tętniczego, ale także w i cukrzycy typu 2 (II.C.II.12, II.D.II.19). Moje zainteresowanie fizjopatologicznymi aspektami związanymi z wolnorodnikowymi procesami zachodzącymi w trakcie procesu starzenia się organizmu dało również podstawę do współuczestnictwa w projekcie badawczym zamawianym przez Ministerstwo Edukacji i Szkolnictwa Wyższego zatytułowanym „Aspekty medyczne, psychologiczne, socjologiczne i ekonomiczne starzenia się ludzi w Polsce – Program *PolSenior*”. Pracując w Katedrze i Zakładzie Biochemii brałam czynny udział w przygotowywaniu wniosku do podprojektu, pełniłam rolę koordynatora badań, zajmowałam się analizą i realizacją oznaczeń laboratoryjnych dotyczących wykładników stresu oksydacyjnego oraz opracowaniem merytorycznym wyników badań. Wszystkie badania przeprowadzono we ścisłej współpracy z Katedrą Geriatrii Collegium Medicum w Bydgoszczy UMK w Toruniu. Dzięki tym relacjom udało nam się zaprezentować wyniki badań na zjazdach krajowych i międzynarodowych (II.D.II.21, II.D.II.24, II.D.II.29). Następnie uczestniczyłam w realizacji projektu wykonanego przy współpracy z Kliniką Kardiologii i Kardiochirurgii 10 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOZ w Bydgoszczy. Badania dotyczyły analizy układu oksydacyjno-antyoksydacyjnego u pacjentów w podeszłym wieku w przebiegu choroby niedokrwiennej serca i jej terapii przy użyciu

metody angioplastyki tętnic wieńcowych. W ramach tego projektu badawczego aktywnie uczestniczyłam w przeprowadzeniu badań oraz w analizie aktywności enzymów antyoksydacyjnych, produktów peroksydacji lipidów, oznaczeniach stężenia melatoniny, zredukowanego glutationu. Dodatkowo wykazaliśmy, że u pacjentów z potwierdzoną koronarograficznie chorobą wieńcową serca dochodzi do zwiększonego stresu oksydacyjnego i do obniżenia stężenia hormonu melatoniny u pacjentów bez zmian w obrębie naczyń wieńcowych (II.D.II.26, II.D.II.27).

Od 2016 roku kieruję projektem badawczym związanym ze stresem oksydacyjnym i stanem zapalnym u chorych z udarem niedokrwiennym mózgu. Jestem pomysłodawcą i wykonawcą tych badań. Podjęta przeze mnie tematyka naukowa spowodowana była brakiem odpowiedniego parametru diagnostycznego, czynnika prognostycznego w udarze niedokrwiennym mózgu, który obecnie stanowi ważny problem zdrowotny i jest główną przyczyną śmierci czy kalectwa u ludzi. Oprócz badań laboratoryjnych zajęłam się merytorycznym edytowaniem wyników badań, ich analizą oraz wyciągnięciem odpowiednich wniosków jak również doбором odpowiedniej literatury i edycją całego tekstu. Opisanie powyższych prac naukowych powstały dzięki współpracy z Kliniką Neurologii – Szpitala Uniwersyteckiego im. A. Jurasza, Kliniką Neurologii Szpitala Zespołowego w Kielcach, Katedrą Kardiologii i Farmakologii Klinicznej Szpitala Uniwersyteckiego nr 2 im. dr. Jana Bizziela w Bydgoszczy, Zakładem Biochemii i Biogerontologii, Katedry Geriatrii w Bydgoszczy oraz Uniwersytetem Medycznym w Gdańsku i University College London.

Dzięki tej wielośrodkowej współpracy udało mi się zaprezentować kilka prac związanych z tą tematyką badawczą, które opisałam w moim osiągnięciu naukowym (I.B.1-4). Wyniki badań zostały również przedstawione na konferencjach naukowych o zasięgu tak ogólnopolskim jak i międzynarodowym (II.D.I.1-7, II.D.II.34, 36, 39, 41). Dodatkowo wygłosiłam również wykłady online o zasięgu krajowym i międzynarodowym (Aging Gerontology mar 8th 2021, USA oraz na VII Zjeździe Polskiego Towarzystwa Udaru Mózgu, Warszawa 10 - 11 czerwca 2021, Skolamed) potwierdzające udział stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w przebiegu udaru niedokrwiennego mózgu. Uzyskane wyniki badań pozwoliły na wskazanie ważnych czynników prognostycznych w udarze niedokrwiennym mózgu. Dały podstawę do zastanowienia się o możliwości wdrożenia neurohormonalnej suplementacji pacjentów w czasie ich terapii udarowej.

Aktywnie uczestniczę także w realizacji projektów badań związanych z wykorzystaniem potencjału katalitycznego enzymów z klasy hydrolaz i oksydoreduktaz w syntezie asymetrycznej. W toku wieloletnich badań w wyniku enzymatycznej/mikrobiologicznej desymetryzacji związków prochiralnych zarówno o hybrydyzacji sp^2 i sp^3 uzyskaliśmy enancjomerycznie czyste chiralne bloki budulcowe, prekursorów związków aktywnych biologicznie. Na podstawie uzyskanych wyników wykazaliśmy skuteczność katalizy enzymatycznej. Biokatalizatory w porównaniu do katalizatorów chemicznych są biodegradowalne, wielokrotnego użytku, wydajniejsze ze względu na wysoką regio-, chemio- i stereoselektywność, idealnie wpasowują się w ogólnoswiatowy trend „zielonej chemii”. Z tą tematyką związane są prace opisane w załączniku 3 pod pozycją II.B.5, II.C.I.19-23, II.C.II.16, II.D.I.5-6, II.D.II.31-33, 35, 37-38, 40.

5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

Oprócz pracy naukowej w Katedrze, aktywnie realizuję działania pozwalające na rozwój mojej działalności dydaktycznej. Od wielu lat jako nauczyciel akademicki prowadzę zajęcia laboratoryjne wykładowe i seminaryjne ze studentami Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego. W latach 2002-2013 pełniłam funkcję kierownika dydaktycznego w Katedrze Biochemii będąc autorem programu nauczania przedmiotu oraz opiekunem dydaktycznym studentów medycyny. Moi wychowankowie uczestnicząc w konkursach ogólnopolskich „Wiedzy Biochemicznej Wydziałów Lekarskich Wyższych

Uczelni” osiągnęli czołowe pozycje spośród innych Wyższych Uczelni Medycznych w kraju. Za swoją działalność dydaktyczną zostałam wielokrotnie wyróżniana przez Rektora Uczelni. Byłam również autorem programu nauczania biochemii na kierunku Optyka Okularowa i Inżynieria Biomedyczna na Wydziale Inżynierii Mechanicznej. Obecnie pełnię funkcję koordynatora przedmiotu z biochemii na kierunku Optyka Okularowa. Jestem także współautorką materiałów dydaktycznych do nauki biochemii na Wydziale Lekarskim (II.B.II.1-4). W czasie swojej wieloletniej pracy dydaktycznej zdobyta wiedza i umiejętności pozwoliły na wdrożenie wiele nowych metod laboratoryjnych pozwalających na sprawny przebieg zajęć ze studentami.

Najważniejsze osiągnięcia dydaktyczne zostały przedstawione poniżej:

1. W trakcie zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Biochemii (lata 1990-2013) prowadzenie zajęć laboratoryjnych ze studentami I i II roku na:

Wydziale Lekarskim z przedmiotów:

- „Biochemia” dla kierunku lekarskiego

Wydziale Inżynierii Mechanicznej z przedmiotu:

- „Biochemia” dla kierunku inżynieria biomedyczna

2. W trakcie zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Biochemii (lata 2013-2018) prowadzenie zajęć laboratoryjnych oraz wykładów ze studentami I roku na:

Wydziale Lekarskim z przedmiotów:

- „Biochemia z elementami chemii” dla kierunku lekarskiego
- „Chemia ogólna i nieorganiczna” oraz „Chemia organiczna dla kierunku biotechnologia
- „Biochemia” dla kierunku optyka okularowa

Wydziale Farmaceutycznym z przedmiotów:

- „Chemia ogólna i nieorganiczna” oraz „Chemia organiczna” dla kierunku analityka medyczna

3. W trakcie zatrudnienia w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej, Zakład Biochemii Medycznej (lata 2018-nadal) prowadzenie zajęć laboratoryjnych:

Wydziale Lekarskim z przedmiotów:

- „Biochemia” dla kierunku lekarskiego (studenci I roku)
- „Ekologia w walce z chorobami cywilizacyjnymi” (studenci III roku)
- „Ecology in the fight against civilization diseases” (studenci III roku English Division)

4. Prowadzenie wykładów z przedmiotów (lata 1999-2022):

- „Biochemia dla studentów kierunku lekarskiego, Wydziału lekarskiego
- „Biochemia z elementami chemii” dla studentów kierunku lekarskiego, Wydziału lekarskiego
- „Biochemia Medyczna ” dla kierunku lekarskiego, Wydziału lekarskiego
- „Biochemia ” dla studentów kierunku optyka okularowa, Wydziału lekarskiego
- „Enzymy w biotechnologii” dla studentów kierunku biotechnologia, Wydziału lekarskiego
- „Biochemia” dla studentów kierunku Inżynieria biomedyczna

5. Tworzeniu programów nauczania dla przedmiotu

- „Biochemia”
- „Biochemia z elementami chemii” dla kierunku lekarskiego
- „Biochemia” dla kierunku inżynieria biomedyczna
- „Biochemia” dla kierunku optyka okularowa

6. Współautorstwo pytań na kolokwia i egzaminy i zaliczenia dla studentów I i II roku kierunku:

- lekarskiego z przedmiotu „Biochemia”, „Biochemia z elementami chemii”, „Biochemia Medyczna”
- biotechnologia z przedmiotu „Chemia ogólna i nieorganiczna”, „Chemia organiczna”
- analityka medyczna z przedmiotu „Chemia organiczna”
- biotechnologia z przedmiotu „Enzymy w biotechnologii”
- inżynieria biomedyczna z przedmiotu „Biochemia”

7. Autorstwo pytań na kolokwia i egzamin dla studentów I i II roku kierunku:

- lekarskiego z przedmiotu „Biochemia”
- optyka okularowa z przedmiotu „Biochemia”
- inżynieria biomedyczna z przedmiotu „Biochemia”

8. Prowadzenie zajęć z Biochemii dla uczniów ze Szkoły Podstawowej w ramach Promocji Uczelni 2018/2019

9. Opieka naukowa nad studentami i lekarzami w toku specjalizacji

W latach 2001-2022 pełniłam opiekę naukową i dydaktyczną, w charakterze promotora prac licencjackich i magisterskich, nad studentami kierunków: optyka okularowa, biotechnologia, analityka medyczna realizując prace licencjackie i magisterskie w Katedrze i w Katedrze i Zakładzie Biochemii oraz w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej CM UMK. Byłam również recenzentem prac dyplomowych.

6. INNE OSIĄGNIĘCIA

W latach: 2005-2023

1. Wiceprzewodnicząca oraz sekretarz Związków Zawodowych Collegium Medicum w Bydgoszczy.
2. Udział w Senacie CM UMK, Radach Wydziału Lekarskiego, Farmaceutycznego i Wydziału Nauk o Zdrowiu, Radach Dyscyplin Naukowych, Radach Dziekańskich Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego.

W latach: 2011-2021

1. Członek komisji egzaminacyjnej na studia magisterskie na kierunku optyka.
2. Członek komisji egzaminacyjnej na studia magisterskie na kierunku farmacja.

Nagrody:

1. Indywidualna Nagroda II^o za działalność dydaktyczną 20.12.2001.
2. Nagroda Ministra Zdrowia za cykl 9 prac dotyczących selenu oraz niektórych antyoksydantów w materiale biologicznym mieszkańców Polski, 25.09.2002.
3. Indywidualna Nagroda za osiągnięcia uzyskane za działalność dydaktyczną w roku 2004, 15.07.2005.
4. Zespołowa Nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu za osiągnięcia w dziedzinie dydaktyczno-wychowawczej i organizacji procesu nauczania w 2006 roku, 9.11.2007.
5. Zespołowa Nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu III^o za osiągnięcia w dziedzinie dydaktyczno-wychowawczej w 2008 roku, 17.11.2009.
6. Nagroda Zespołowa Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowej za rok 2020, 15.06.2021.

Bydgoszcz 26.04.2023

Halina Pawluk
(podpis wnioskodawcy)