

Monika Baj-Krzyworzeka
Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

AUTOREFERAT

KRAKÓW 2012

1. Imię i Nazwisko.

Monika Baj-Krzyworzeka

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/~~artystyczne~~ – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- 2007** specjalizacja w dziedzinie laboratoryjnej immunologii medycznej dla diagnostów laboratoryjnych
- 2002** Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
Collegium Medicum, Wydział Lekarski
doktor nauk biologicznych na podstawie rozprawy doktorskiej p.t.:
„Interakcje mikrofragmentów błonowych pochodzenia płytkowego z komórkami układu hemato/limfopoetycznego”
- 1997** Akademia Ekonomiczna w Krakowie
Szkoła Zarządzania i Przedsiębiorczości
studia podyplomowe, kierunek: Ekonomia i zarządzanie firmami
- 1995** Studium Pedagogiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego
- 1990-1995** Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi,
studia dzienne magisterskie, kierunek: biologia, specjalizacja: biologia molekularna (dyplom z wyróżnieniem)

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

- 03.2000r. - dotychczas**, Zakład Immunologii Klinicznej, Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, początkowo jako asystent, a od 2003 jako adiunkt.
- 11.1997r. - dotychczas**, Pracownia Typowania Tkankowego, Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie, od 2011 jako kierownik Pracowni Typowania Tkankowego USD.
- 11.1995r.- 11.1997r.** - Pracownia Tomografii MR, Instytut Fizyki Jądrowej im. H. Niewodniczańskiego w Krakowie.
- 02.1995r. - 10.1995r.** - Pracownia Cytogenetyki, Katedra Medycyny Pracy, Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego: jednotematyczny cykl prac pod tytułem

„Rola mikrofragmentów błonowych komórek nowotworowych w modulowaniu aktywności biologicznej monocytów człowieka”.

b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa),

1. Baj-Krzyworzeka M., Szatanek R., Węglarczyk K., Baran J., Urbanowicz B., Brański P., Ratajczak M.Z, Zembala M., Tumour – derived microvesicles carry several surface determinants and mRNA of tumour cells and transfer some of these determinants to monocytes. *Cancer Immunol. Immunother.* 2006, 55:808-818, IF - 4,313, MNiSW - 24, IC - 14,090.

2. Baj-Krzyworzeka M., Szatanek R., Węglarczyk K., Baran J., Zembala M. Tumour - derived microvesicles modulate biological activity of human monocytes. *Immunol. Lett.* 2007, 113:76-82, IF - 2,628, MNiSW - 20, IC - 12,350.

3. Baj-Krzyworzeka M., Baran J., Węglarczyk K., Szatanek R., Szaflarska A., Siedlar M., Zembala M, Tumour - derived microvesicles (TMV) mimic the effect of tumour cells on monocyte subpopulations. *Anticancer Res.* 2010, 30:3515-3519, IF - 1.656, MNiSW - 20.

4. Baj-Krzyworzeka M., Węglarczyk K., Mytar B., Szatanek R., Baran J, Zembala M. Tumour - derived microvesicles contain interleukin - 8 and modulate production of chemokines by human monocytes. *Anticancer Res.* 2011, 31:1329-1335, IF - 1,656, MNiSW - 20.

5. Baj-Krzyworzeka M., Baran J., Szatanek R., Mytar B., Siedlar M., Zembala M. Interactions of human monocytes with TMVs (tumour - derived microvesicles). *Biochem. Soc. Trans.* 2013, 41, (w druku), IF - 3,711, MNiSW - 30.

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Badania stanowiące osiągnięcie naukowe dotyczą oddziaływania monocytów człowieka z mikrofragmentami błonowymi uwalnianymi przez komórki nowotworowe. Monocyty i pochodzące z nich makrofagi stanowią główną populację leukocytów naciekających guz nowotworowy. Rola monocytów i makrofagów w odpowiedzi przeciwnowotworowej gospodarza jest jednak niejednoznaczna. W wyniku kontaktu z komórkami nowotworowymi monocyty/makrofagi produkują czynniki zarówno pro- jak i przeciwnowotworowe. Produkcja cytokin prozapalnych oraz wolnych rodników tlenowych (ROI, reactive oxygen intermediates) warunkuje spontaniczną cytotoksyczność monocytów, która hamuje rozwój nowotworu (polaryzacja monocytów typu M1). Przewaga produkcji cytokin przeciwzapalnych, czynników proangiogennych, obniżenie produkcji ROI i reaktywnych form azotu (RNI, reactive nitrogen

intermediates) skutkuje zahamowaniem aktywności przeciwnowotworowej monocytów i ich polaryzacją w kierunku typu M2. Taki typ polaryzacji wykazują komórki nazywane TAM (tumour associated macrophages) lub TIM (tumour infiltrating macrophages). W trakcie rozwoju nowotworu obserwuje się „selektywną areaktywność” monocytów charakteryzującą się spadkiem produkcji cytokin pozapalnych na rzecz immunosupresyjnych np. IL-10, co odpowiada polaryzacji typu M2.

Oddziaływanie monocytów/makrofagów z komórkami nowotworowymi przebiega na drodze bezpośredniego kontaktu, jak i poprzez oddziaływania pośrednie na drodze parakrynej. W literaturze obok klasycznie rozumianego oddziaływania parakrynnego pojawia się oddziaływanie „reocrine” będące jego odmianą uwzględniającą sekrecję i ponowne wykorzystanie mikrofragmentów błonowych (MV). MV to sferyczne fragmenty błony komórkowej, uwalniane w procesie proliferacji, różnicowania, aktywacji, apoptozy czy starzenia się komórki. W procesie uwalniania MV istotną rolę odgrywają translokazy błonowe tj. flopaza, flipaza oraz skramblaza. Uwalnianiu MV towarzyszy zaburzenie asymetrii lipidowej błony z transportem fosfatydyloseryny na stronę zewnątrzkomórkową. Komórki eukariotyczne uwalniają również inne typy mikrofragmentów, np. egzosomy, czyli sferyczne fragmenty błon wewnątrzkomórkowych (uwalniane przez późne endosomy tzw. multivesicular bodies, MVBs). Powszechnie, jako kryterium odróżniające egzosomy od MV przyjmuje się ich wielkość (do 100 nm) oraz obecność charakterystycznych markerów np. tetraspanin (CD9, CD63, CD81), białek TSG101 i Alix. MV, to struktury większe niż 100 nm, a mniejsze niż 1000 nm, dla których nie opisano charakterystycznych markerów.

Założeniem przedstawianych badań było scharakteryzowanie MV uwalnianych przez komórki nowotworowe (TMV, tumour - derived microvesicles) oraz sprawdzenie, czy i w jaki sposób mogą one oddziaływać z komórkami układu odpornościowego, na przykładzie monocytów człowieka. W pracy pt. „**Tumour – derived microvesicles carry several surface determinants and mRNA of tumour cells and transfer some of these determinants to monocytes**” opisano opracowany sposób hodowli linii komórkowych umożliwiający uzyskiwanie TMV bez kontaminacji MV pochodzenia zwierzęcego (z surowicy stosowanej do hodowli) oraz endotoksyną. Opracowano również metodę izolacji TMV w oparciu o sekwencyjne wirowanie nadsączy z hodowli komórkowych. Wykazano, że komórki ustalonych linii nowotworowych (rak trzustki HPC-4, rak jelita grubego DeTa oraz rak płuc A549) uwalniają TMV spontanicznie lub w wyniku stymulacji PMA (octan mirystynianu forbolu), przy czym stymulacja wzmaga proces uwalniania TMV. Uzyskane TMV zostały scharakteryzowane pod względem wielkości przy użyciu techniki mikroskopii elektronowej oraz cytometrii przepływowej z zastosowaniem

standardów wielkości [Baj-Krzyworzeka i wsp., Cancer Immunol. Immunoth. 2006]. Wykazano, że TMV stanowią heterogenną pod względem wielkości populację mikrofragmentów (nie większych jednak niż 1 μm), z dużą komponentą mikrofragmentów o rozmiarach odpowiadających egzosomom (co znalazło potwierdzenie w dalszych badaniach w oparciu o mikroskopię sił atomowych i technikę Nanotracing Analysis). Wstępne badania wskazywały również na dużą zdolność TMV do agregowania, co zdecydowanie utrudnia ich analizę metodą cytofluorymetryczną. Następnie oceniono fenotyp TMV i porównano go z fenotypem komórek źródłowych. Wykazano, że TMV mają ekspresję determinant HLA klasy I, molekuł kostymulujących (CD86), cząsteczek adhezyjnych (CD29, CD44), receptorów chemokinowych (CCR3, CCR6, CX3C1) oraz markerów nowotworowych: CD44v6, CD44v7/8, EMMPRIN (Extracellular Matric Metalloproteinase Inducer), EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule). Wykazano, że nie wszystkie determinanty obecne na komórkach nowotworowych są obecne na TMV, a poziom ich ekspresji na TMV nie zawsze odpowiada ekspresji na komórkach źródłowych. Wykazano również, że determinanty obecne na TMV mogą być przenoszone na inne komórki. I tak, np. receptor CCR6 oraz izoformy molekuly CD44 (v7-8) mogą być przenoszone na monocyty człowieka, co wykazano metodą cytofluorymetryczną. W wyniku transferu receptora CCR6 stwierdzono wzrost chemotaksji monocytów do chemokiny MIP-3 α , co świadczyć może o aktywności biologicznej przeniesionego receptora [Baj-Krzyworzeka i wsp., Cancer Immunol. Immunoth. 2006]. Zmiany fenotypu monocytów człowieka po kontakcie z TMV wynikać mogą z transferu białek (np. CCR6), ale także być wynikiem aktywacji monocytów (wzrost ekspresji HLA-DR). W późniejszych badaniach wykazano zmiany morfologii monocytów pod wpływem TMV [Baj-Krzyworzeka i wsp., Application of Flow Cytometry in the Studies of Microparticles, w "Flow Cytometry - Recent Perspectives" red. Ingrid Schmid, Intech, 2012]. Charakterystyka TMV dotyczyła również ekspresji mRNA dla czynników wzrostowych np. HGF, VEGF oraz CD44 i β aktyny. W pracy „**Tumour – derived microvesicles carry several surface determinants and mRNA of tumour cells and transfer some of these determinants to monocytes**” wykazano po raz pierwszy na świecie (praca dostępna była online od 9 listopada 2005 r.), że TMV mogą być nośnikiem mRNA. Wykazanie obecności mRNA w TMV stanowiło niezwykle ważny etap w badaniu MV, które wcześniej traktowane były jedynie jako „śmieci komórkowe” lub struktury biernie przenoszące białka.

Kolejnym etapem badań było znalezienie odpowiedzi na pytanie, czy TMV mogą być „wchłaniane” przez monocyty. Przy użyciu mikroskopii konfokalnej i cytometrii przepływowej wykazano, że TMV adherują do błony komórkowej, a po upływie 24 godzin większość z nich znajduje się wewnątrz monocytów. Endocytoza może być jednym ze sposobów „wchłaniania”

TMV, na co wskazuje zahamowanie tego procesu po zastosowaniu inhibitora polimeryzacji aktyny, cytochalazyny D, oraz przeprowadzenie doświadczenia w niższej temperaturze [Baj-Krzyworzeka i wsp., Cancer Immunol. Immunoth. 2006]. Nie wykluczony jest również udział makropinocytozy lub fuzji błon, szczególnie w przypadku egzosomów i małych MV.

Monocyty są heterogenną populacją komórek charakteryzowanych m.in. na podstawie ekspresji markerów powierzchniowych, np. CD14 oraz FcR typu III (CD16) jako CD14⁺⁺CD16⁻ (klasyczne monocyty) oraz CD14⁺CD16⁺⁺ (nieklasyczne monocyty). Nie zaobserwowano różnic w adherencji TMV do różnych subpopulacji monocytów (CD14⁺CD16⁺⁺, CD14⁺⁺CD16⁻), ale istotnie większe „wchłanianie” TMV dotyczyło populacji CD14⁺⁺CD16⁻ mającej większą aktywność fagocytarną [Baj-Krzyworzeka i wsp., Anticancer Res. 2010].

Obecność TMV w hodowli monocytów (do 48 godzin) znacznie poprawiała ich przeżywalność i opóźniała proces spontanicznej apoptozy, co wykazano w teście wiązania aneksyny V, jak i poprzez ocenę poziomu aktywnej kaspazy - 3. Potwierdzeniem „troficznego” wpływu TMV na monocyty człowieka było również wykazanie fosforylacji kinazy AKT, będącej ważnym regulatorem procesów komórkowych związanych z przeżywalnością komórek. Nie zaobserwowano natomiast fosforylacji MAPKp44/42, kinaz związanych z proliferacją komórek. Przeprowadzone badania uzupełniły doniesienia literaturowe wskazujące na troficzny wpływ MV uwalnianych przez komórki apoptotyczne, o dane dotyczące TMV z zaznaczeniem, że są to MV nie wykazujące ekspresji FasL czy TRAIL. Następnym etapem prezentowanych badań była ocena wpływu TMV na aktywność biologiczną monocytów człowieka. W kolejnych prezentowanych publikacjach oceniano produkcję wybranych cytokin i chemokin, ROI i RNI przez monocyty oraz ich potencjał angiogeny. I tak, w pracy zatytułowanej „**Tumour - derived microvesicles modulate biological activity of human monocytes**” wykazano, że TMV indukują produkcję TNF, IL-12 oraz IL-10 przez monocyty, przy całkowitym braku możliwości transferu tych cytokin przez TMV (nie wykazano obecności cytokin ani mRNA dla nich w TMV). Obserwowany wzrost dotyczy zarówno sekrecji cytokin przez monocyty, jak i zwiększonej ekspresji mRNA dla cytokin w monocytach stymulowanych TMV. Metodą cytometrii przepływowej wykazano również wzrost produkcji anionu nadtlenkowego O₂⁻ przez monocyty stymulowane TMV. Należy zwrócić uwagę, że podobny profil produkcji cytokin wykazano w przypadku kontaktu monocytów z komórkami nowotworowymi, co pozwoliło na wysunięcie hipotezy o „naśladowaniu” komórek nowotworowych przez TMV. Ponadto, w tych oddziaływaniach, podobnie jak w przypadku komórek nowotworowych [Mytar i wsp., 2003], wykazano kluczową rolę molekuly CD44. Blokowanie molekuly CD44 na powierzchni monocytów obniżało lub całkowicie hamowało sekrecję TNF po stymulacji TMV. Takiego efektu

nie obserwowano podczas blokowania innych cząsteczek, np. CD14 [Baj-Krzyworzeka i wsp., Immunol Lett. 2007]. Późniejsze badania wykazały, że TMV mogą być nośnikiem hialuronianu stanowiącego główny ligand dla receptora CD44 [Baj-Krzyworzeka, niepublikowane].

W dalszych badaniach („**Tumour-derived microvesicles contain interleukin-8 and modulate production of chemokines by human monocytes**”) potwierdzono doniesienia literaturowe dotyczące proangiogennej aktywności TMV (stymulacja proliferacji komórek HUVEC, zwiększone unaczynienie Matrigel wszczepianego myszom SCID oraz NOD-SCID). Wykazano również, że TMV wzmagają proangiogenną aktywność monocytów. TMV stymulują monocyty do produkcji chemokin (CXCL8, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5), jak również same są „nośnikiem” chemokin, np. CXCL8 i mRNA dla nich [Baj-Krzyworzeka i wsp., Anticancer Res. 2011]. Tym samym wykazano, że udział TMV w procesie unaczynienia guza może być związany nie tylko z transferem opisywanego wcześniej fosforanu sfingozyny-1, ale również chemokin, jak i indukcji ich produkcji przez komórki naciekające guz.

Subpopulacje monocytów wykazują różną aktywność przeciwnowotworową. I tak, subpopulacja CD14⁺CD16⁺⁺ wykazuje zwiększoną aktywność przeciwnowotworową w porównaniu do monocytów klasycznych. Podobnie, na stymulację TMV subpopulacje monocytów odpowiadają w różny sposób, co opisano w pracy „**Tumour-derived microvesicles (TMV) mimic the effect of tumour cells on monocyte subpopulations**”. TMV stymulowały klasyczne monocyty CD14⁺⁺CD16⁻ do produkcji ROI (H₂O₂ i O₂⁻) oraz zwiększonej sekrecji IL-10. Monocyty CD14⁺CD16⁺⁺ stymulowane TMV uwalniały natomiast więcej TNF i IL-12, ale nie IL-10. Równocześnie TMV indukowały w monocytach nieklasycznych produkcję NO, ale nie ROI [Baj-Krzyworzeka i wsp., Anticancer Res. 2010].

Podsumowując, TMV wpływają w sposób znaczący na aktywność biologiczną subpopulacji monocytów. Co więcej odpowiedź monocytów na TMV w wielu aspektach (produkcja cytokin, chemokin, rodników tlenowych) jest podobna do odpowiedzi na komórki nowotworowe. **TMV mogą być więc traktowane jako czynnik wystarczający do indukowania odpowiedzi monocytów.**

Prowadzone aktualnie badania mają na celu ustalenie roli TMV w procesie polaryzacji monocytów/makrofagów, a tym samym określenie roli TMV w selektywnej areaktywności monocytów. Podsumowaniem mojego wkładu w badania nad oddziaływaniem monocytów z TMV jest praca „**Interactions of human monocytes with TMVs (tumour - derived microvesicles)**” napisana w formie pracy przeglądowej na zaproszenie organizatorów konferencji „Microvesiculation and diseases 2012”. Omówione w niej hipotezy dotyczące wpływu TMV na

proces różnicowania i polaryzacji monocytów stanowią przedmiot moich aktualnych badań naukowych [Baj-Krzyworzeka i wsp., Biochem. Soc. Trans. 2013, w druku].

Do najważniejszych osiągnięć poznawczych, dotyczących TMV oraz ich wpływu na monocyty człowieka zawarty w przedstawianym osiągnięciu naukowym, zaliczyć należy:

- **scharakteryzowanie TMV** uwalnianych przez różne linie nowotworowe pod względem ich wielkości i fenotypu [Cancer Immunol. Immunother. 2006, 55:808-818, Cancer Immunol Immunother. 2010, 59:841-850],
- **wykazanie, że TMV posiadają ekspresję markerów nowotworowych** (EMMPRIN, EpCAM, CD44v7-8) i mogą je przenosić pomiędzy komórkami [Cancer Immunol. Immunother. 2006, 55:808-18, Cancer Immunol Immunother. 2010, 59:841-850],
- **wykazanie po raz pierwszy w literaturze, że mikrofragmenty błonowe są nośnikiem mRNA** dla czynników wzrostowych, chemokin i białek strukturalnych [Cancer Immunol. Immunother. 2006, 55:808-818], co przyczyniło się do większego zainteresowania mikrofragmentami, jako nośnikami różnych form RNA,
- **udowodnienie, że przenoszone przez TMV molekuly posiadają aktywność biologiczną.** Stwierdzenie, że monocyty po kontakcie z TMV wykazującymi ekspresję CCR6 nabywają funkcjonalnie czynnych cząsteczek CCR6 warunkujących ich chemotaksję do MIP-3 α (ligand dla CCR6) [Cancer Immunol. Immunother. 2006, 55:808-818],
- **wykazanie, po raz pierwszy w literaturze, obecności w TMV biologicznie aktywnej chemokiny (CXCL8)** [Anticancer Res 2011, 31:1329-1336] i wpływu TMV na aktywność proangiogenną monocytów,
- **wykazanie, że MO wchodzi w interakcje z TMV.** Początkowo TMV przylegają do błony komórkowej MO (transfer białek powierzchniowych), a następnie są internalizowane w procesie endocytozy [Cancer Immunol. Immunother. 2006, 55:808-818],
- **wykazanie, że TMV, podobnie jak uwalniające je komórki nowotworowe, indukują produkcję cytokin i chemokin przez monocyty** [Anticancer Res 2011, 31:1329-1336 i Immunology Lett. 2007, 113:76-82],
- **wykazanie różnic w oddziaływaniu subpopulacji monocytów CD14⁺CD16⁺⁺ i CD14⁺⁺CD16⁻ z TMV.** Wykazanie analogii w odpowiedzi monocytów na TMV i komórki nowotworowe [Anticancer Res. 2010, 9:3515-3519],
- **wykazanie roli CD44 w przekazywaniu sygnału do indukcji TNF** przez monocyty stymulowane TMV [Immunol Lett. 2007, 113:76-82].

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych):

Poza omówionym powyżej cyklem 5 publikacji, opublikowałam 23 prace, w tym 20 oryginalnych prac twórczych oraz 3 prace przeglądowe (wykaz w załączeniu, załącznik 4). Sumaryczny Impact Factor (na podstawie Journal Citation Reports; stan na dzień 10.12.2012) wynosi **65,301** (w tym **IF= 14,033** stanowią publikacje przedkładane jako osiągnięcie naukowe), prace były cytowane w literaturze światowej łącznie **731** razy (wg. ISI Web of Science z grudnia 2012), współczynnik Hirscha = **12** (wg. ISI Web of Science z grudnia 2012). Trzy moje prace (Blood. 2001, 98:3143-3149, Stem Cells. 2001;19:453-466, Exp Hematol. 2002; 30:450-459) były cytowane ponad 100 razy. Jestem współautorem rozdziałów w 4 monografiach. Wyniki moich badań były prezentowane na 36 konferencjach naukowych, w tym 19 o zasięgu międzynarodowym (załącznik 4), dwukrotnie zapraszana byłam na międzynarodowe kongresy dotyczące mikrofragmentów błonowych aby wygłosić wykład oraz jako prowadząca sesje plenarne.

Pozostałe badania naukowe, nie ujęte w osiągnięciu naukowym, dotyczą głównie oddziaływania monocytów człowieka z komórkami nowotworowymi oraz badań nad komórkami macierzystymi. W badaniach dotyczących komórek nowotworowych wykazano, że

- przedłużony kontakt monocytów człowieka z komórkami nowotworowymi prowadzi do funkcjonalnej deaktywacji (areaktywności) monocytów charakteryzującej się osłabioną odpowiedzią prozapalną na powtórny stymulację komórkami nowotworowymi (obniżona produkcja TNF i IL-12, zwiększona produkcja IL-10) [Mytar i wsp., J. Leuk. Biol. 2003],
- w warunkach *in vitro* można zapobiegać areaktywności monocytów spowodowanej kontaktem z komórkami nowotworowymi [Baj-Krzyworzeka i wsp., Cancer Immunity 2004, 25:4-8]. Opracowano strategię eksperymentalną, w której odpowiednia kombinacja cytokin prozapalnych i/lub blokowanie IL-10 przeciwciałem monoklonalnym może zapobiegać lub odwraca selektywną areaktywność monocytów,
- stymulacja monocytów różnymi szczepami *Mycobacterium vaccae* skutecznie zapobiega lub odwraca areaktywność monocytów wywołaną kontaktem z komórkami nowotworowymi. Wykazano również, że w tym aspekcie skuteczność *M. vaccae* jest niższa niż BCG [Baran i wsp., Cancer Immunol. Immunother. 2004, 53:1127-34],
- monocyty CD14⁺CD16⁺⁺ stanowią główną subpopulację monocytów wykazujących aktywność przeciwnowotworową, co wykazano na podstawie zwiększonej produkcji cytokin prozapalnych oraz RNI [Szafarska i wsp., Exp Hematol 2004, 32:748-755],

- wykrywanie pojedynczych komórek nowotworowych krążących we krwi pacjentów z rakiem żołądka jest możliwe. Jest to pierwszy krok do zindywidualizowanej terapii pacjentów z grup wysokiego ryzyka. W badaniach tych wykorzystano izolację komórek nowotworowych metodą sortowania cytofluometrycznego i ich identyfikację w oparciu o ekspresję cytokeratyny 19 i 20. [Zembala i wsp., Przegląd Epidemiologiczny 2002, 56:273-280],
- w osoczu pacjentów z rakiem żołądka występują mikrofragmenty błonowe wykazujące ekspresję markerów nowotworowych. Charakterystykę mikrofragmentów obecnych w osoczu przeprowadzono nowatorskimi technikami, tj. mikroskopia sił atomowych (AFM) oraz metoda dynamicznego rozpraszania światła (DLS) [Baran i wsp., Cancer Immunol Immunother. 2010, 59:841-850].

W badaniach nad komórkami macierzystymi wykazano, że:

- mikrofragmenty płytkowe przenoszą markery płytkowe na komórki macierzyste CD34+ zwiększając ich zdolność do wszczepiania [Janowska-Wieczorek i wsp., Blood. 2001, 15; 98:3143-9]. Efektem tych badań było postawienie hipotezy wyjaśniającej lepsze wszczepianie komórek macierzystych pochodzących z krwi mobilizowanej, niż ze szpiku kostnego oraz szczegółowa charakterystyka mikrofragmentów płytkowych, co było podstawą mojej rozprawy doktorskiej,
- komórki macierzyste ukierunkowane tkankowo „rywalizują” o miejsca „bogate” w SDF-1 [Pituch-Noworolska i wsp., Folia Histochem Cytobiol 2003, 41,1:13-21],
- z komórek macierzystych CD34+ można uzyskać monocyty o potencjale przeciwnowotworowym, co może dać podstawy do zindywidualizowanej terapii pacjentów z rakiem jelita grubego [Stec i wsp., Exp Hematol. 2012, 40:914-921],
- subpopulacje monocytów uzyskiwane z komórek CD34+ różnią się poziomem ekspresji receptorów dla chemokin oraz profilem uwalnianych chemokin w odpowiedzi na stymulację komórkami nowotworowymi [Stec i wsp., Anticancer Res 2012,32: 4749-4753].

6. Pozostałe osiągnięcia:

Od początku pracy w Zakładzie Immunologii Klinicznej prowadzę również zajęcia dydaktyczne z zakresu diagnostyki immunologicznej dla studentów Wydziału Analityki Medycznej CM UJ oraz osób specjalizujących się w tej dziedzinie (załącznik 4) . Poza działalnością naukową i dydaktyczną, jestem też diagnostą laboratoryjnym w Pracowni Typowania Tkankowego Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie, którą kieruję od roku 2011. Działalność diagnostyczna Pracowni obejmuje typowanie antygenów HLA przed przeszczepieniem komórek

hematopoetycznych oraz typowanie i dobór dawca-biorca przed przeszczepami narządowymi. Zaangażowanie w pracę diagnostyczną zaowocowało reorganizacją pracowni, przeniesieniem jej do nowych pomieszczeń, poszerzeniem panelu badań diagnostycznych i zwiększeniem ich liczby. Ponadto, wraz z Zespołem pracowni, opracowaliśmy rozdział pt.: „Asocjacje HLA z wybranymi jednostkami chorobowymi”, w pracy zbiorowej pt.: „Badania immunogenetyczne w transplantologii i diagnostyce” pod red. Katarzyny Boguni-Kubik (I-BIS, Wrocław, 2012).

Sumaryczny impact factor zgodnie z rokiem opublikowania: IF = 65,301

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: 731

Indeks Hirscha opublikowanych publikacji według bazy Web of Science: 12

Nonie Bey-Kybe