

Załącznik Nr 2

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie

Wydział Lekarski

II Katedra Chorób Wewnętrznych im. Prof. Andrzeja Szczeklika

Klinika Alergii i Immunologii

Autoreferat

Stanisława Bazan-Socha

Kraków 2016

1. Imię i nazwisko: Stanisława Bazan-Socha

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe - podanie nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej.

- 1996 r.- **lekarz** - dyplom ukończenia studiów z **wynikiem bardzo dobrym** na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, Nr dyplomu 977/30/96.
- 2000 r. - ukończone **studia doktoranckie** z dziedziny biologii molekularnej na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.
- 2001 r. - tytuł **doktora nauk medycznych** uzyskany z **wyróżnieniem** za pracę pt. **”Genetyczna ekspresja syntazy leukotrienu C4 w eozynofilach krwi obwodowej u chorych na astmę oskrzelową”**, przyznany w dniu 23 marca 2001 roku uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, Nr dyplomu 2166, Promotor pracy: Prof. dr hab. med. Andrzej Szczeklik.

Za pracę naukową w tym okresie otrzymałam **Stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla Młodych Naukowców**, Warszawa 2001.

Ponadto za rozprawę doktorską uzyskałam dwie ważne nagrody:

- **Nagrodę Prezesa Rady Ministrów** za rozprawę doktorską, Warszawa 2002
- **Wyróżnienie w Konkursie Aurelii Baczek** na najlepszą pracę doktorską z dziedziny medycyny w roku 2002, przyznane przez Towarzystwo Popierania i Krzewienia Nauk, Warszawa 2002.

Posiadane specjalizacje lekarskie:

- 1999 r.- **lekarz chorób wewnętrznych** - dyplom uzyskania pierwszego stopnia specjalizacji w zakresie chorób wewnętrznych pod kierunkiem Prof. dr hab. med. Jacka Musiała, Nr dyplomu 2021/175.
- 2005 r.- **specjalista chorób wewnętrznych** - dyplom uzyskania tytułu specjalisty w zakresie chorób wewnętrznych pod kierunkiem Prof. dr hab. med. Andrzeja Szczeklika, Nr dyplomu 0705/2005.2/241
- 2010 r.- **specjalista alergolog** - dyplom uzyskania tytułu specjalisty w zakresie alergologii pod kierunkiem Prof. dr hab. med. Jacka Musiała, Nr dyplomu 0731/2010.2/7
- 2016 r. - otwarcie specjalizacji w zakresie **immunologii klinicznej**

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- w okresie studiów doktoranckich w latach 1996-2000 byłam zatrudniona jako asystent w Klinice Alergii i Immunologii w II Katedrze Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie,
- od września 2001 do czerwca 2002 przebywałam w USA na stypendium naukowym (Postdoctoral Fellowship) - od września 2001 do lutego 2002 w Sol Sherry Thrombosis Research Center, Temple University School of Medicine, Philadelphia PA, USA, a następnie od marca 2002 do czerwca 2002 w College of Science and Biotechnology, Temple University, Philadelphia PA, USA.

Podczas pobytu w Temple University za pracę naukową otrzymałam **I nagrodę w 22-gim dorocznym konkursie im. Dr Erwin Margulies** w dziedzinie badań nadkrzepliwościowych (**I-st Award in The 22-nd Annual Dr. Erwin Margulies Award in Thrombosis Research**), Sol Sherry Thrombosis Research Center, Temple University School of Medicine, Philadelphia (PA), USA, 2002,

- od 2007 roku jestem zatrudniona na stanowisku adiunkta w II Katedrze Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.
- ponadto od 1996 r. (z 10 miesięczną przerwą związaną z wyjazdem naukowym do USA) jestem zatrudniona na stanowisku asystenta (aktualnie starszego) Oddziału Kliniki Alergii i Immunologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Jestem lekarzem odpowiedzialnym za diagnostykę i terapię pacjentów w Oddziale Kliniki Alergii i Immunologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. W naszej Klinice leczeni są przede wszystkim chorzy na schorzenia autoimmunologiczne, w tym układowe choroby tkanki łącznej oraz układowe zapalenia naczyń. Prowadzimy również diagnostykę oraz leczenie wrodzonych i nabytych niedoborów odporności, tak humoralnych jak i komórkowych. Ważnym aspektem mojej działalności zawodowej jest praca w Przyklinicznej Poradni Alergologicznej. Największą grupę pacjentów ambulatoryjnych stanowią chorzy na astmę, schorzenie to jest także w centrum mojego zainteresowania naukowego. W pracy lekarskiej zajmuję się również immunoterapią, w tym na jady owadów błonkoskrzydłych oraz koordynuję w Klinice Alergii i Immunologii program leczenia omalizumabem chorych na ciężką astmę alergiczną. W mojej opiece jest także kilkunastu pacjentów z chorobą Fabry'ego, z których część otrzymuje pod moim nadzorem enzymatyczną terapię zastępczą.

4. Wskazane osiągnięcia wynikające 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

Na rozprawę habilitacyjną składa się cykl 9 publikacji pod zbiorczym tytułem:

"Rola wybranych receptorów integrynowych oraz ich selektywnych inhibitorów w modulacji reakcji zapalnej, ze szczególnym uwzględnieniem kolagenowych receptorów integrynowych w astmie".

W skład pracy wchodzi sześć artykułów oryginalnych, dwie prace poglądowe oraz jeden rozdział w monografii międzynarodowej. We wszystkich publikacjach jestem pierwszym autorem. Ich sumaryczny współczynnik oddziaływania **IF** wynosi **18.051**, a liczba punktów **MNiSW** to **132**. Publikacje zaliczają się do dziedziny nauk podstawowych. Prace dotyczą roli wybranych integryn oraz ich selektywnych inhibitorów w modulacji reakcji zapalnej, ze szczególnym uwzględnieniem astmy, i związane są ściśle z moimi zainteresowaniami naukowymi. Stanowią one mój indywidualny wkład w naukę.

b)spis publikacji z zakresu omówionego osiągnięcia naukowego

Prace oryginalne:

1. **Bazan-Socha S**, Kisiel DG, Young B, Theakston RD, Calvete JJ, Sheppard D, Marcinkiewicz C. Structural requirements of MLD-containing disintegrins for functional interaction with $\alpha_4\beta_1$ and $\alpha_9\beta_1$ integrins. *Biochemistry* 2004; 43: 1639-47. IF 4.008, MNiSW 14 pkt.

Mój udział w pracy polegał na przygotowaniu i wykonaniu części eksperymentalnej związanej z metodami adhezji komórkowej, przeprowadzeniu badań laboratoryjnych z wykorzystaniem metody ELISA, jak również napisaniu manuskryptu. Uczestniczyłam także we wszystkich pracach z zakresu spektrometrii masowej MALDI-TOF oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Swój udział w powstaniu pracy oceniam na około 52%.

2. **Bazan-Socha S**, Bukiej A, Pulka G, Marcinkiewicz C, Musiał J. Increased expression of collagen receptors: $\alpha_1\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$ integrins on blood eosinophils in bronchial asthma. *Clin. Exp. Allergy* 2006; 36: 1184-91. IF 3.668, MNiSW 24 pkt.

Mój wkład to: współpomysłodawca badania, zaprojektowanie badania, rekrutacja pacjentów do badania, optymalizacja układów eksperymentalnych i główny wykonawca większości eksperymentów cytometrycznych i adhezyjnych. Opracowanie wyników badań i przygotowanie manuskryptu. Swój udział oceniam na około 68%.

3. **Bazan-Socha S**, Żuk J, Musiał J. Increased expression of selected very late antigen integrin subunits on CD4 and CD8 blood T lymphocytes in patients with clinically stable, asymptomatic atopic asthma. *Postep Derm i Alergol* 2012; 5: 337-342. IF 0.664, MNiSW 15 pkt.

Mój udział w przygotowanej pracy polegał na pomyśle i przygotowaniu badania, rekrutacji pacjentów do badania i wykonaniu w większości części laboratoryjnej, jak również na napisaniu manuskryptu. Swój udział oceniam na około 70%.

4. **Bazan-Socha S**, Zuk J, Jakiela B, Pulka G, Pelka K, Musiał J. Increased expression of α_2 (CD49b), α_4 (CD49d) and β_1 (CD29) integrin subunits on peripheral blood T-lymphocytes in clinically stable mild to moderate persistent asthma. *Pol Arch Med Wewn.* 2012; 122: 585-90. IF 1.833, MNiSW 10 pkt.

Mój udział w przygotowanej pracy polegał na pomyśle, przygotowaniu badania oraz wykonania badania zarówno jego części klinicznej jak i laboratoryjnej oraz napisaniu manuskryptu. Swój udział oceniam na około 63%.

5. **Bazan-Socha S**, Zuk J, Plutecka H, Marcinkiewicz C, Zareba L, Musiał J. Collagen receptors $\alpha_1\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$ integrins are involved in transmigration of peripheral blood eosinophils, but not mononuclear cells through human microvascular endothelial cells monolayer. *J Physiol Pharmacol.* 2012; 63: 373-9. IF 2.476, MNiSW 25 pkt.

Mój udział w pracy polegał na zaprojektowaniu i przygotowaniu badania, rekrutacji pacjentów do badania i wykonaniu przeważającej części jej eksperymentów laboratoryjnych, jak również na napisaniu manuskryptu. Swój udział oceniam na około 63%.

6. **Bazan-Socha S**, Żuk J, Plutecka H, Jakiela B, Mlicka-Kowalczyk E, Krzyżanowski B, Marcinkiewicz C, Zareba L, Bazan JG, Musiał J. Blocking of $\alpha_1\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$ adhesion molecules inhibits eosinophil migration through human lung microvascular endothelial cell monolayer. *Postepy Hig Med Dosw.* 2014; 12, 68: 1444-51. IF 0.573, MNiSW 15 pkt.

Mój udział w pracy polegał na zaprojektowaniu i przygotowaniu badania, rekrutacji pacjentów do badania, wykonaniu przeważającej części eksperymentów laboratoryjnych, opracowaniu wyników, jak również napisaniu manuskryptu. Swoj udział oceniam na 60%.

Prace poglądowe:

1. **Bazan-Socha S**, Marcinkiewicz C, Musiał J. Dezintegryny jądów węży – źródło wiedzy i poznania nowych leków. Pol. Arch. Med. Wewn. 2003; 5: 1345-1351. MNiSW 5 pkt.

Mój udział w pracy polegał na przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Swoj udział w pracy oceniam na 85%.

2. **Bazan-Socha S**, Bukiej A, Marcinkiewicz C, Musiał J. Integrins in pulmonary inflammatory diseases. Curr. Pharm. Des. 2005; 11: 893-901. IF 4.829, MNiSW 24 pkt.

Mój udział w pracy polegał na przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Swoj udział w pracy oceniam na ok. 75%.

Rozdział w monografii międzynarodowej:

Bazan-Socha S, Zuk J, Jakiela B, Musiał J. Human eosinophil transmigration, pp 157-64. In Methods Mol Biol. ed. Garry M. Walsh, New York, Springer 2014;1178. doi: 10.1007/978-1-4939-1016-8_14. MNiSW 5 pkt.

Mój udział w pracy polegał na zaprojektowaniu i przygotowaniu nowatorskiej metody transmigracji eozynofili oraz na opisanu jej w niniejszej monografii. Swoj udział oceniam na 82%.

Wymieniony cykl prac został sfinansowany przez środki przyznane z funduszy Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w ramach wspierania rozwoju potencjału naukowego w latach 2008-2014, jak również częściowo przez granty otrzymane z Komitetu Badań Naukowych (numery: 2 P05B 030 27 oraz N N402 186835), grant Organizacji Traktatu Północnoatlantyckiego (ang. North Atlantic Treaty Organization) - NATO Collaborative Linkage Grant (No: 990133001) i grant Narodowego Centrum Nauki (Nr: N/NZ5/01368).

W oparciu o prezentowane w tym cyklu wyniki pozyskano kolejny grant z Narodowego Centrum Nauki, komisji badań medycznych, na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ5/00758. Jest on obecnie w trakcie realizacji, a ja jestem jego kierownikiem. Tytuł tego projektu to: **"Rola receptorów kolagenowych, integryn $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$, w powstawaniu reakcji zapalnej i zmian strukturalnych w drogach oddechowych w astmie - spojrzenie na drzewo oskrzelowe"**.

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

"Rola wybranych receptorów integrynowych oraz ich selektywnych inhibitorów w modulacji reakcji zapalnej, ze szczególnym uwzględnieniem kolagenowych receptorów integrynowych w astmie "

Wprowadzenie

Astma jest przewlekłą chorobą zapalną dróg oddechowych. Jej częstość w populacji z roku na rok wyraźnie wzrasta. Obecnie szacuje się, że nawet 5-10% ludzi na świecie może mieć

okresowo jej objawy. Patofizjologia astmy nie została jeszcze do końca poznana. Wielu badaczy uważa jednak, że nie jest ona jednolita. Obecnie na rynku farmaceutycznym istnieje wiele leków, które kontrolują objawy tej choroby poprzez hamowanie odczynu zapalnego. Nadal jednak istnieje pewna grupa osób, u których z racji ciężkiego przebiegu schorzenia, czy też może zupełnie innej patofizjologii reakcji zapalnej dróg oddechowych, nie udaje się uzyskać pełnej kontroli objawów. Kolejnym odrębnym problemem w astmie jest przebudowa dróg oddechowych, która wiąże się między innymi z odkładaniem białek macierzy międzykomórkowej, np. kolagenów w ścianie oskrzeli. Statystyki podają, że nawet 40% chorych na astmę oskrzelową ma stałe objawy choroby, pomimo właściwego leczenia, a u 5% występuje tzw. astma trudna do leczenia. Wydaje się więc, iż badania nad patofizjologią typowego dla astmy odczynu zapalnego dróg oddechowych mogą mieć istotne znaczenie w opracowaniu nowych alternatyw terapeutycznych w tej chorobie.

Pośród komórkowych **molekuł adhezyjnych**, decydujących o wzajemnym oddziaływaniu międzykomórkowym i komórek z ich podłożem, należy wymienić trzy grupy związków: integryny, receptory o budowie podobnej do immunoglobulin oraz selektyny.

Integryny to glikoproteiny, które występują w postaci złożonej z 2 podjednostek: α i β . Są one szeroko rozpowszechnione w przyrodzie i można je odnaleźć na powierzchni wszystkich komórek. Dotychczas na komórkach ludzkich opisano 18 podjednostek α i 8 β . Oddziaływania integryn z macierzą międzykomórkową, jak również z innymi cząstkami adhezyjnymi stanowią ważny element fizjologii organizmów wyższych oraz patofizjologii wielu chorób, a szczególnie tych o etiologii zapalnej (jak astma) i nowotworowej. Dla formowania się nacieku zapalnego najważniejsze są te integryny, które zawierają podjednostkę β_2 , ale także wybrane z grupy β_1 . Integryna $\alpha_4\beta_1$ (very late antigen-4 [VLA4], CD49d/CD29), która występuje na powierzchni eozynofilów, limfocytów i monocytów, odpowiedzialna jest za przyleganie tych komórek do śródbłonna za pośrednictwem naczyniowej cząsteczki przylegania *vascular cell adhesion molecule-1* [VCAM-1] oraz w mniejszym stopniu *mucosal addressin cell adhesion molecule* [MAdCAM-1]. Inną integryną uczestniczącą w migracji eozynofilów przez ścianę naczyniową jest $\alpha_4\beta_7$. Obie te integryny zawierające podjednostkę α_4 stanowiły od wielu lat obiekt zainteresowania, jako cel interwencji terapeutycznej w przewlekłych chorobach zapalnych. **One też, wraz z ich selektywnymi inhibitorami, stanowiły obiekt badawczy, który został podjęty w publikacji Nr 1 mojego cyklu habilitacyjnego. Natomiast w dalszej części prezentowanej rozprawy wysunięto hipotezę, iż również integryny $\alpha_1\beta_1$ oraz $\alpha_2\beta_1$, które są głównymi receptorami kolagenów, mogą odgrywać pewną rolę w patofizjologii astmy.**

Kolageny w macierzy międzykomórkowej stanowią strukturalną podporę komórek. Są one niezbędne we wszystkich tkankach organizmu. Błona podstawowa naczyń włosowatych zawiera głównie kolagen IV, podczas gdy kolagen I, a częściowo także III, są głównymi składnikami macierzy międzykomórkowej płuc. W niektórych postaciach ciężkiej astmy wykazano zwiększoną zawartość kolagenów w bioptatach płucnych, co interpretuje się jako wynik procesów przebudowy. **Integryny $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ wykazują kilka istotnych podobieństw.** Mają podobną budowę strukturalną, pojawiają się po aktywacji immunologicznej w sposób opóźniony (stąd ich historyczna nazwa VLAs - *very late*

antigens), ale ich rola biologiczna jest nieco różna. **Integryna $\alpha_1\beta_1$** jest swoistym receptorem dla kolagenu IV. Stąd może być zaangażowana w migrację leukocytów, rozwój przerzutów nowotworowych i gojenie ran. Integryna ta wydaje się również uczestniczyć w formowaniu nowych naczyń krwionośnych. Korzystny efekt stosowania antagonistów tej integryny obserwowano w modelach zwierzęcych niektórych chorób uwarunkowanych immunologicznie, np. w nieswoistych zapaleniach jelit, reumatoidalnym zapaleniu stawów, a także w owczym modelu astmy oskrzelowej. Ta ostatnia obserwacja sugeruje, iż receptor ten mógłby stać się nowym celem terapeutycznym w leczeniu np. ciężkich postaci astmy. **Integryna $\alpha_2\beta_1$** , czyli glikoproteina Ia-IIa, jest przede wszystkim receptorem kolagenu I. Jej obecność wykryto między innymi na megakariocytach i płytkach krwi, fibroblastach, komórkach nabłonkowych i śródbłonkowych. Jej funkcję poznano głównie w kontekście fizjologii płytek krwi i procesów hemostazy.

Dezintegryny i lektyny, to anty-adhezyjne, drobnocząsteczkowe białka uzyskiwane z jadów węży. Stanowią one bardzo specyficzne i silne inhibitory receptorów integrynowych. Rola dezintegryn w jadzie węży nie jest znana. Jednak ich sekwencja genetyczna jest obecna w konfiguracji nici DNA wielu metaloproteinaz, które są kluczowe dla działania jadu. Być może po secrecji do gruczołu jadowego metaloproteinaza posiadająca domenę dezintegrynową ulega degradacji, wiodąc do nadmiaru wolnych dezintegryn. Same dezintegryny nie są białkami toksycznymi. Podane nawet w dużych stężeniach zwierzętom doświadczalnym nie powodują żadnych poważnych działań ubocznych, poza niewielkim wydłużeniem czasu krwawienia. Na uwagę zasługuje fakt, że także u ludzi występują białka, które w swoim składzie posiadają m.in. element o strukturze dezintegryn. Białka te zawierają kilka czynnościowo różnych domen, między innymi domenę o aktywności metaloproteinyazy, domenę o charakterze dezintegryny, domenę bogatą w reszty cysteinyłowe, a także o właściwościach podobnych do czynników wzrostowych, oraz domeny strukturalne - cytoplazmatyczną i błonową. Białka te określono mianem rodziny ADAM (***a disintegrin and metalloproteinase***) lub MDC (***metalloproteinase/disintegrin/cysteine-rich protein***). Obecnie znamy kilkadziesiąt reprezentantów tej rodziny, a ponadto prawie tyle samo białek określonych jako ADAMTS, które posiadają dodatkowo domenę podobną do trombospondyny. **Miejsce aktywne dezintegryn** stanowią zwykle trzy aminokwasy wyeksponowane poprzez pętlę utworzoną przez mostki dwusiarczkowe pochodzące z reszt cysteinyłowych. Charakterystyczne jest jednak, że ta raczej złożona grupa związków chemicznych wykazuje dużą homologię w położeniu reszt cysteinyłowych i charakterze miejsca aktywnego. Większość znanych dezintegryn w miejscu aktywnym pętli posiada trzy aminokwasy: arginę, glicynę i kwas asparaginowy (RGD). Sekwencja ta została odkryta jako miejsce wiązania tzw. RGD-zależnych integryn, do których należą płytkowy receptor fibrynogenu ($\alpha_{IIb}\beta_3$), receptor witronektyny ($\alpha_v\beta_3$) i receptor fibronektyny ($\alpha_5\beta_1$). Wszystkie dezintegryny zawierające sekwencję RGD silnie blokują agregację płytek krwi poprzez wiązanie do receptora fibrynogenu, a ponadto większość z nich blokuje również funkcje fibronektyny i witronektyny. Dezintegryny w zależności od budowy można podzielić na monomeryczne i dimeryczne. Ich nazwy własne pochodzą od łacińskich nazw węży, z których je oczyszczono. Przykładowo jedna z pierwszych odkrytych dezintegryn trigramina pochodzi z jadu azjatyckiego grzechotnika *Trimeresurus gramineus* (trwożnica bambusowa),

eristostatyna z jadu afrykańskiej żmij *Eristocophis macmahoni* (żmija Macmahona), a echistatyna z *Echis carinatus*. Nasza Katedra od wielu lat współpracuje z laboratorium w Temple University w Filadelfii, kierowanym obecnie przez profesora Cezarego Marcinkiewicza, w którym od około 30 lat prowadzone są badania nad dezintegrynami izolowanymi z jadów węży. To z tego laboratorium otrzymywano wykorzystane w cyklu prac białka antyadhezyjne.

Sądzę, iż zaprezentowane w pracy habilitacyjnej wyniki badań przyczyniły się w sposób istotny do poznania funkcji wybranych integrzyn i scharakteryzowania ich selektywnych inhibitorów. Mam również nadzieję, iż wykorzystane w nich związki anty-adhezyjne będą stanowić w przyszłości wzorzec chemiczny do opracowania nowych leków przeciwzapalnych stosowanych np. w terapii wybranych fenotypów ciężkiej astmy (*per analogiam* do integriliny i tirofibanu, leków hamujących czynność ludzkich płytek krwi, których budowa została oparta na strukturze dezintegryn typu RGD).

Opis publikacji stanowiących treść rozprawy habilitacyjnej

Publikacja Nr 1

Structural requirements of MLD-containing disintegrins for functional interaction with $\alpha_4\beta_1$ and $\alpha_9\beta_1$ integrins.

Wymagania strukturalne dezintegryn zawierających sekwencję MLD w czynnościowej interakcji z integrzynami $\alpha_4\beta_1$ i $\alpha_9\beta_1$.

Praca ta została zrealizowana w trakcie mojego pobytu naukowego w Temple University, Philadelphia PA, USA. Po raz pierwszy szczegółowo scharakteryzowano w niej budowę i funkcję trzech nowo odkrytych heterodimerycznych dezintegryn: VLO5, EO5 i EC3. Zostały one oczyszczone odpowiednio z następujących jadów węży *Echis carinatus sochureki* (EC3), *Vipera (=Macrovipera) lebetina obtusa* (VLO5) oraz *Echis ocellatus* (EO5) z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (ang. high-performance liquid chromatography [HPLC]). Za tą część pracy odpowiadał Prof. Cezary Marcinkiewicz, który jest biochemikiem. Następnie przeprowadzono serię eksperymentów biologicznych dotyczących metod adhezji komórkowej. W tym celu hodowano *in vitro* komórki nowotworowe z szeregu linii, z których każda posiadała ekspresję pojedynczej, znanej integryny. Były to w większości zakupione w firmach komercyjnych komórki odpowiednio ludzkiego i mysiego czerniaka, transfekowane pojedynczą znaną integryną. Z kolei do opłaszczenia podłoża adhezyjnego stosowano następujące białka (lub ich fragmenty biologicznie aktywne): tenascyna C, osteopontyna, fibrynogen, kolageny typu I i IV, witronektyna, fibronektyna, laminina, ludzkie rekombinowane cząstki adhezyjne VCAM-1 i MAdCAM-1 oraz mysi rekombinowany VCAM-1. W tej części eksperymentów jako inhibitory adhezji wykorzystano funkcjonalnie czynne przeciwciała monoklonalne, skierowane przeciwko następującym integrynom: $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_9\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_{11b}\beta_3$, $\alpha_v\beta_3$, oraz badane dezintegryny. W poniższej tabeli zamieszczono nazwy stosowanych

w eksperymentach linii komórkowych, ich ekspresje integrynowe, najważniejsze ligandy tych integryn oraz efektywność badanych dezintegryn w hamowaniu adhezji komórkowej, wyrażoną jako stężenie dezintegryny, które hamowało adhezję komórkową w 50% - (ang. half maximal inhibitory concentration [IC₅₀]).

linia komórkowa	integryna	główny ligand dla badanej integryny	IC ₅₀ (nmol/l)		
			EC3	VLO5	EO5
α_1 K562	$\alpha_1\beta_1$	kolagen IV	>10000	>10000	>10000
α_2 K562	$\alpha_2\beta_1$	kolagen I	>10000	>10000	>10000
α_6 K562	$\alpha_6\beta_1$	laminina	>10000	>10000	>10000
K562	$\alpha_5\beta_1$	fibronektyna	150	3400	690
Jurkat	$\alpha_4\beta_1$	VCAM-1	16	5.5	9.5
Ramos	$\alpha_4\beta_1$	VCAM-1	22	1.2	5.3
SW480 α_9	$\alpha_9\beta_1$	VCAM-1	35	2.6	7.2
SW480 α_9	$\alpha_9\beta_1$	osteopontyna	>10000	34	NO
SW480 α_9	$\alpha_9\beta_1$	tenascyna-C	>10000	29	NO
RPMI8866	$\alpha_4\beta_7$	MadCAM-1	17	185	120
A5	$\alpha_{11b}\beta_3$	fibrynogen	500	760	980
JY	$\alpha_v\beta_3$	witronektyna	>10000	>10000	>10000

Tabela przedstawia porównanie efektów hamujących dezintegryn: EC3, VLO5 i EO5, na wymienione integryny w badaniu adhezji komórkowej.

NO - nie oznaczano,

IC₅₀ - ang. half maximal inhibitory concentration - stężenie dezintegryny, które hamowało adhezję komórkową w 50%.

Specyficzność opisanych interakcji potwierdzono także w metodzie ELISA z wykorzystaniem oczyszczonych i wyizolowanych integryn $\alpha_4\beta_1$ i $\alpha_9\beta_1$.

Następnie dokonano analizy budowy strukturalnej i sekwencji aminokwasowej w badanych dezintegrynach. Początkowo polipeptydy pofragmentowano metodą trawienia enzymatycznego z zastosowaniem TPCCK-trypsyny, endoproteinazy Lys-C i endoproteinazy Asp-N. Później uzyskane polipeptydy izolowano z wykorzystaniem HPLC i oceniano w spektrometrii masowej MALDI-TOF. W kolejnym etapie używano aparatów Applied Biosystems 477A i Beckman Porton LF-3000 do scharakteryzowania aminokwasów z końca N otrzymanych polipeptydów, by wreszcie uzyskać ich ostateczne sekwencje z sekwenatora Beckman Gold Amino Acid Analyzer. Wykazano, iż wszystkie trzy badane dezintegryny mają budowę heterodimerską, a ich aktywność związana jest z motywem wiążącym o strukturze MLD (metionina-leucyna-kwas asparaginowy) w pętli, choć istotne były też aminokwasy poprzedzające wystąpienie sekwencji MLD. Dla VLO5 i EO5 tym aminokwasem była treonina, a dla EC3 alanina. Obserwację tę potwierdzono również poprzez zsyntetyzowanie polipeptydów: TMLD i AMLD - ich właściwości były podobne do opisywanych dla badanych dezintegryn.

Wnioski:

W pracy po raz pierwszy opisano dokładną strukturę i funkcję nowo wyizolowanych dezintegryn VLO5, EO5 i EC3. Stwierdzono, iż:

1. Mają one budowę heterodimerską.
2. Wykazują szczególną aktywność przeciwko integrynom obecnym na powierzchni leukocytów, takim jak: $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$ i $\alpha_9\beta_1$. Przy czym, VLO5 i EO5 były bardziej swoiste w stosunku do ludzkich integrzyn $\alpha_4\beta_1$ i $\alpha_9\beta_1$, a EC3 wykazywało większą aktywność w hamowaniu integryny $\alpha_4\beta_7$.
3. Aktywność biologiczna tych związków była związana z motywem wiążącym o strukturze MLD (metionina-leucyna-kwas asparaginowy), choć istotne były też aminokwasy poprzedzające wystąpienie sekwencji MLD w pętli białka. Dla VLO5 i EO5 tym aminokwasem była treonina, a dla EC3 alanina.
4. Mam nadzieję, iż scharakteryzowane sekwencje aminokwasowe mogą w przyszłości okazać się przydatne do zsyntetyzowania nowych biologicznie czynnych peptydów antyadhezyjnych wykorzystywanych w medycynie, np. w leczeniu przewlekłych chorób zapalnych.

Publikacja Nr 2

Increased expression of collagen receptors: $\alpha_1\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$ integrins on blood eosinophils in bronchial asthma.

Podwyższona ekspresja receptorów kolagenowych: integrzyn $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ na powierzchni eozynofiliów z krwi w astmie oskrzelowej.

W pracy tej sprawdzano, czy integrynowe receptory kolagenowe, integryny $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$, mogłyby uczestniczyć w formowaniu nacieku zapalnego w drogach oddechowych w astmie. Eozynofile uważane są za podstawowe komórki efektorowe w tej chorobie. W związku z tym podjęto decyzję o badaniu na ich powierzchni ekspresji podjednostek integrzynowych α_1 i α_2 , jak również β_1 i β_7 . Obecność tych drugich na granulocytach kwasochłonnych krwi, jak również ich udział w procesach transmigracji tkankowej eozynofiliów były już udokumentowane w przeszłości.

Do wykonania opisanych w tej pracy eksperymentów eozynofile izolowano z pełnej krwi żyłnej metodą wirowania krwi w gradiencie gęstości, a następnie negatywnej immunomagnetycznej ich separacji z wykorzystaniem magnetycznych mikrogranulek sprzężonych z przeciwciałami anti-CD16 i separatora magnetycznego Vario MACS firmy Miltenyi Biotech (Bergisch Gladbach, Germany). Następnie w oczyszczonej populacji eozynofiliów badano ekspresję powierzchniową wymienionych powyżej podjednostek integrzynowych z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i metod adhezji komórkowej. Badania wykonano w grupie 15 chorych na astmę i 13 zdrowych ochotników, stanowiących grupę kontrolną. Stwierdzono, iż na powierzchni eozynofiliów uzyskanych od chorych na astmę możliwa jest detekcja obu podjednostek α_1 i α_2 integrzynowych receptorów

kolagenowych w stopniu przekraczającym sygnał uzyskany od komórek pochodzących od zdrowych dawców. Obecność tych integryn na powierzchni eozynofilów uzyskanych od astmatyków potwierdzono również metodą adhezji komórkowej.

Następnie badano wpływ inhibicji integryny $\alpha_1\beta_1$ na adhezję eozynofilów (otrzymanych od chorych na astmę) do powierzchni płytek opłaszczonych kolagenem IV, który jest podstawowym naturalnym ligandem dla tej integryny. Jako białka antyadhezyjne wykorzystano tutaj funkcjonalnie czynne przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko integrynie $\alpha_1\beta_1$ (domenie I) oraz dwie nowo zidentyfikowane dezintegryny: obtustatynę i wiperistatynę.

Obtustatyna została oczyszczona z jadu węża *Vipera lebetina obtusa*, a wiperistatyna z jadu *Vipera palestinae*. Obie wymienione dezintegryny są wysoce swoistymi antagonistami integryny $\alpha_1\beta_1$, a wiążą się do niej za pomocą nowo opisanej aktywnej sekwencji KTS (lizyna-treonina-seryna).

Nasze eksperymenty wykazały, że zarówno obtustatyna jak i wiperistatyna w stopniu zależnym od stężenia hamowały adhezję eozynofilów uzyskanych od astmatyków do kolagenu IV. Obtustatyna była skuteczna w stężeniach wyższych niż 0,15 mmol/l, natomiast oddziaływanie wiperistatyny było silniejsze - działała już w stężeniu przekraczającym 2,9 nmol/l. Obliczone wartości IC_{50} dla obu tych dezintegryn w teście hamowania adhezji to odpowiednio 1,15 mmol/l i 11 nmol/l.

Wnioski:

1. Po raz pierwszy wykazano, że kolagenowe receptory, integryny $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$, ulegają podwyższonej ekspresji na powierzchni granulocytów kwasochłonnych krwi obwodowej u chorych na astmę.
2. Obtustatyna i wiperistatyna, dwie wysoce selektywne KTS-zależne dezintegryny, specyficzne inhibitory integryny $\alpha_1\beta_1$, w stopniu zależnym od stężenia hamowały adhezję eozynofilów uzyskanych od chorych na astmę do kolagenu IV.
3. Nie można wykluczyć, iż w przyszłości związki te mogłyby być wykorzystane jako wzorce do zsyntetyzowania nowych antyadhezyjnych leków hamujących integrynę $\alpha_1\beta_1$.

Publikacja Nr 3

Increased expression of selected very late antigen integrin subunits on CD4 and CD8 blood T lymphocytes in patients with clinically stable, asymptomatic atopic asthma.

Podwyższona ekspresja wybranych podjednostek integrynowych z grupy integryn pojawiających się po aktywacji z opóźnieniem (ang. very late antigens) na powierzchni limfocytów T CD4 i CD8 we krwi u pacjentów z klinicznie stabilną, bezobjawową astmą atopową.

W poprzednim projekcie wykazano, iż integryny $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ występują w podwyższonej ekspresji na powierzchni eozynofilów krwi obwodowej u chorych na astmę. Postanowiono więc zbadać, czy podobna obserwacja będzie dotyczyć również limfocytów krwi w tym schorzeniu. Limfocyty T, a w szczególności komórki pomocnicze (T helper [Th]) wydzielające profil cytokin typu 2 (IL-4, IL-5 i IL-13) (Th2) są uważane za podstawowe komórki kierujące powstawaniem nacieku zapalnego dróg oddechowych w astmie; warunkują także napływ do płuc komórek kwasochłonnych. W literaturze wykazano, iż limfocyty T w astmie są zaktywowane w drogach oddechowych nawet wówczas, gdy choroba jest bezobjawowa. Ponadto w modelu zwierzęcym udokumentowano, iż przeniesienie limfocytów T z krwi uczulonego zwierzęcia do zdrowego, skutkowało u tego drugiego podwyższoną eozynofilią i rozwojem nadreaktywności dróg oddechowych w odpowiedzi na alergen.

W niniejszej pracy badano więc ekspresję podjednostek integrynowych α_1 i α_2 , oraz α_4 , i β_1 na powierzchni CD4+ i CD8+ limfocytów T krwi obwodowej z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Badanie przeprowadzono u 25 dorosłych astmatyków z potwierdzoną atopią i dobrze kontrolowaną astmą alergiczną łagodną do umiarkowanej i 17 zdrowych przedstawicieli grupy kontrolnej.

Wykazano, że:

1. U chorych na astmę alergiczną ekspresja łańcuchów α_4 i β_1 była wyższa na limfocytach T, ale statystycznie znamienne tylko w odniesieniu do komórek CD4+. Na komórkach CD8+ sygnały fluorescencyjne pochodzące od tych receptorów były wyższe odpowiednio o 24% i 30%, ale różnica była jedynie na granicy istotności statystycznej.
2. Łańcuch α_1 był obecny na powierzchni limfocytów tylko u bardzo niewielu astmatyków, a zdecydowana większość tych chorych, podobnie jak grupa kontrolna, nie wykazywała obecności na powierzchni tej podjednostki.
3. Ekspresja podjednostki α_2 była wykrywalna na obu typach limfocytów T w obu badanych grupach, z tendencją do wyższych wartości w astmie (o 28% na CD4+ i o 29% na CD8+), ale było to bez statystycznej znamienności. Jedynie u osób, które chorowały na astmę dłużej niż 4 lata, lub u których wystąpiło co najmniej 1 zaostrzenie choroby w ostatnim roku potwierdzono istotnie wyższą ekspresję α_2 na oby typach limfocytów w porównaniu do kontroli.

Publikacja Nr 4

Increased expression of α_2 (CD49b), α_4 (CD49d) and β_1 (CD29) integrin subunits on peripheral blood T-lymphocytes in clinically stable mild to moderate persistent asthma.

Podwyższona ekspresja podjednostek integrynowych α_2 (CD49b), α_4 (CD49d) i β_1 (CD29) na powierzchni limfocytów T krwi obwodowej w klinicznie stabilnej łagodnej do umiarkowanej przewlekłej astmie.

Niniejsza publikacja stanowi kontynuację zagadnienia podejmowanego w pracy Nr 3. W poprzednim projekcie wykazano, iż ekspresja podjednostek integrynowych α_4 i β_1 była podwyższona na powierzchni limfocytów T CD4+ krwi obwodowej u chorych na przewlekłą astmę alergiczną łagodną bądź umiarkowaną. Co ważne, u astmatyków zauważono wówczas tendencję do wyższej ekspresji obu tych podjednostek integrynowych (α_4 i β_1) także na komórkach T CD8+, jak również łańcucha α_2 na limfocytach T, choć różnice w żadnym z tych przypadków nie osiągnęły statystycznej znamienności. Jednak badanie to zostało wykonane jedynie w grupie 25 chorych na astmę alergiczną, w związku z tym zadano pytanie, czy opisywana różnica dotyczy tylko astmy z potwierdzoną atopią, oraz czy po zwiększeniu badanej grupy potwierdzi się podwyższona ekspresja granicznie różnych podjednostek integrynowych u chorych na to schorzenie.

Badania opisane w Publikacji Nr 4 przeprowadzono w grupie 54 chorych na astmę i 40 przedstawicieli zdrowej kontroli. Ponieważ nie zauważono różnic pomiędzy astmatykami z potwierdzoną i wykluczoną atopią, grupy te opisano w niniejszym manuskrypcie łącznie. Część laboratoryjną wykonano w pełnej krwi żyłnej z wykorzystaniem cytometrii przepływowej oraz mysich przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko następującym ludzkim antygenom: anti-CD3 (klon SK7) sprzężone z PerCP, anti-CD4 (klon SK3) sprzężone z FITC, anti-CD8 (klon SK1) sprzężone z FITC, oraz sprzężone z PE: anti- α_1 (klon SR84), anti- α_2 (klon 12F1), anti- α_4 (klon 9F10) i anti- β_1 (clone HUTS-21), jak również odpowiednie przeciwciała izotypowe.

Wyniki:

1. U większości badanych osób, zarówno astmatyków jak i zdrowej kontroli, podjednostka α_1 nie była oznaczalna na limfocytach T zarówno CD4+ jak i CD8+ we krwi obwodowej. Jedynie u pojedynczych przedstawicieli obu grup zidentyfikowano jej obecność na tych komórkach. Jest to ciekawa obserwacja, która wymaga dalszego wyjaśnienia.
2. Ekspresja łańcucha α_2 była obecna na limfocytach T CD4+ i CD8+ obu badanych grup i znamienne wyższa na komórkach T CD4+ astmatyków w porównaniu z grupą kontrolną.
3. Zgodnie z przypuszczeniami, podjednostki α_4 oraz β_1 wykazywały podwyższoną ekspresję na obu podtypach limfocytów T (CD4+ i CD8+) w astmie.
3. Zarówno na limfocytach T CD4+ jak i CD8+ wykazano silną korelację pomiędzy ekspresją podjednostek α_4 i β_1 ($p < 0.00001$, $r = 0.67$ oraz $p < 0.00001$, $r = 0.57$; odpowiednio dla komórek T CD4+ i CD8+).
4. W obu badanych grupach obserwowano wyższą ekspresję α_4 na powierzchni limfocytów CD8+ niż CD4+.

Wnioski:

1. Dla limfocytów T krwi obwodowej w patologii astmy najpewniej istotna jest integryna $\alpha_4\beta_1$, która występuje w podwyższonej ekspresji na tych komórkach. Jest ona ważnym elementem transmigracji leukocytów przez ścianę naczyń mikrokrążenia, w związku z tym jej podwyższona ekspresja wskazuje na stan gotowości limfocytów krwi do przenikania tkankowego, nawet w okresie stabilizacji klinicznej choroby.
2. Dodatnia korelacja pomiędzy ekspresją podjednostek α_4 i β_1 potwierdza, iż zdecydowana większość podjednostki β_1 na limfocytach występuje w połączeniu z łańcuchem α_4 .
3. Podwyższona ekspresja łańcucha α_2 na komórkach T CD4+ w astmie sugeruje, że również integryna $\alpha_2\beta_1$ może odgrywać pewną rolę w patofizjologii tej choroby.

Publikacja Nr 5

Collagen receptors $\alpha_1\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$ integrins are involved in transmigration of peripheral blood eosinophils, but not mononuclear cells through human microvascular endothelial cells monolayer.

Receptory kolagenowe, integryny $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$, uczestniczą w transmigracji eozynofiliów, ale nie komórek jednojądrzastych krwi obwodowej przez warstwę ludzkich komórek śródbłonkowych mikrokrążenia.

Celem tego badania było określenie, czy hamowanie kolagenowych receptorów integrynowych, integryn $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$, wpływa na transmigrację eozynofiliów i komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (ang. peripheral blood mononuclear cells [PBMC]) przez warstwę hodowanych *in vitro* ludzkich komórek śródbłonkowych mikrokrążenia (ang. human microvascular endothelial cells [HMVEC]). Do eksperymentów opisanych w tej pracy wykorzystano HMVEC zakupione z firmy Cascade Biologics Inc. (Portland, Or, USA), jako izolowane ze skóry dorosłego dawcy. Komórki te hodowano *in vitro* z wykorzystaniem mediów i suplementów wzrostu, jak również warunków zalecanych przez producenta. Do eksperymentów pobierano komórki pomiędzy 5-9 pasażem. Eksperymenty transmigracyjne przeprowadzano z wykorzystaniem systemów dedykowanych do takich badań, produkowanych przez firmę Beckton Dickinson (inserty ze średnicą pora 3 μm oraz dopasowane do nich 24-dołkowe płytki hodowlane [BD Falcon Cell Culture Inserts, Franklin Lakes, NJ, USA]). Przed wysiewaniem komórek HMVEC inserty i naczynia hodowlane opłaszczano zawsze oczyszczonym kolagenem IV. W opisywanym projekcie badano eozynofile i PBMC uzyskane z krwi obwodowej od 9 astmatyków. Komórki krwi izolowano poprzez wirowanie pełnej krwi żyłnej w gradiencie gęstości. Dla eozynofiliów dodatkowo wykorzystywano metodę negatywnej immunomagnetycznej separacji w systemie Vario MACS (Miltenyi Biotech [Bergisch Gladbach, Germany]) z zastosowaniem mieszanki przeciwciał sprzężonych z magnetycznymi mikrogranulkami i skierowanych przeciwko

następującym antygenom: CD2, CD14, CD16, CD19, CD56, CD123 i CD 235a (Eosinophil isolation kit [Miltenyi Biotec, Auburn CA, USA]).

Jako białka antyadhezyjne stosowano następujące związki:

- mysie przeciwciało monoklonalne IgG₁, rozpoznające keyhole limpet hemocyanin antigen (KLH), stanowiące kontrolę izotypową - antygen KLH nie jest obecny na ludzkich komórkach, w związku z tym przeciwciało to służyło jako kontrola negatywna eksperymentu;
- mysie przeciwciało monoklonalne IgG skierowane przeciwko ludzkiej podjednostce integrynowej α_1 - funkcjonalnie czynne, blokujące domenę I tej integryny (Val151-Ala364),
- mysie przeciwciało monoklonalne IgG skierowane przeciwko ludzkiej podjednostce integrynowej α_2 - funkcjonalnie czynne,
- wiperistatyna - dezintegryna będąca silnym i selektywnym antagonistą integryny $\alpha_1\beta_1$,
- VP12, lektyna będąca selektywnym antagonistą integryny $\alpha_2\beta_1$,
- VLO4, dezintegryna będąca selektywnym antagonistą integryn $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$ oraz $\alpha_v\beta_3$.

Wyniki:

Wszystkie badane białka anty-adhezyjne hamowały transmigrację eozynofików, ale tylko VLO4 wpływało na przenikanie PBMC przez warstwę HMVEC.

Wnioski:

1. W astmie integryny $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ są prawdopodobnie zaangażowane w migrację eozynofików do zmienionych zapalnie tkanek. Nie wiadomo jednak, czy istotne jest tutaj blokowanie tych integryn na powierzchni eozynofików, czy też na powierzchni komórek śródbłonkowych, na których także udokumentowano ich występowanie. Nie wiadomo również czy obserwacja ta dotyczy tylko eozynofików uzyskanych z krwi chorych na astmę, czy też obejmuje generalnie tę grupę komórek.

2. Natomiast rola integryny $\alpha_2\beta_1$ na limfocytach krwi obwodowej w astmie jest prawdopodobnie inna, niż udział w transmigracji tkankowej. Opisano, iż może ona uczestniczyć w procesach przebudowy dróg oddechowych. Możliwe jest więc, iż podwyższona jej ekspresja na powierzchni limfocytów T CD4+ we krwi u astmatyków może być przynajmniej w części odpowiedzialna za przebudowę dróg oddechowych w tej chorobie.

Publikacja Nr 6

Blocking of $\alpha_1\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$ adhesion molecules inhibits eosinophil migration through human lung microvascular endothelial cell monolayer.

Blokowanie molekuł adhezyjnych $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ hamuje migrację eozynofików przez warstwę ludzkich komórek śródbłonkowych mikrokążenia płucnego.

Niniejsza praca jest kontynuacją tematyczną publikacji Nr 5, w której wykazano, iż blokowanie integryn $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ hamuje transmigrację eozynofików, ale nie komórek jednojądrzastych krwi obwodowej uzyskanych od chorych na astmę przez warstwę

hodowanych *in vitro* komórek śródbłonkowych mikrokrążenia (ang. human microvascular endothelial cells [HMVEC]) pochodzenia skórniego. Dla interpretacji wyników tej pracy istotny wydawał się jednak fakt, iż do hodowli i eksperymentów z HMVEC używano zawsze kolagenu IV do opłaszczania powierzchni przed wysiewem HMVEC, a kolageny są przecież podstawowymi ligandami obu tych integrzyn.

Po zakończeniu więc opisanych eksperymentów nasunęło się wiele pytań, z których najważniejsze wymieniono poniżej:

- 1) Czy obserwacja dotyczy tylko tego jednego rodzaju komórek śródbłonkowych - pochodzenia skórniego od osoby dorosłej?
- 2) Czy decydujący dla blokowania transmigracji eozynofików mógł być kolagen IV stosowany jako podłoże dla wysiewanych komórek śródbłonkowych, a jak wiadomo kolageny są głównymi ligandami integrzyn $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$?
- 3) Czy hamowanie transmigracji eozynofików dotyczy tylko komórek astmatyków, czy w tym samym stopniu eozynofików uzyskanych od osób zdrowych?

Podjęto więc decyzję o kontynuacji eksperymentów transmigracyjnych, ale tym razem wykorzystano komórki śródbłonkowe również pochodzenia ludzkiego, ale wyizolowane z mikrokrążenia płucnego osoby dorosłej. Zostały one zakupione w firmie Lonza (Walkersville Inc, USA), a ich hodowla *in vitro* była prowadzona zgodnie z zaleceniami firmy i z wykorzystaniem polecanych przez nią mediów komórkowych. Do eksperymentów transmigracyjnych pobierano komórki z pasaży 5-9, ale tym razem wysiewano je bezpośrednio do naczyń hodowlanych i na polietylenowe błony insertów, bez żadnego dodatkowego podłoża. Tuż przed eksperymentem już na insertach komórki śródbłonkowe stymulowano cytokiną TNF α , aby częściowo odtworzyć warunki w zmienionym zapalnie mikrokrążeniu płucnym. Podobnie jak w pracy Nr 5 badano transmigrację eozynofików izolowanych z krwi obwodowej metodą negatywnej separacji, jak również zawiesinę komórek jednojądrzastych krwi. Tym razem jednak przebadano po 12 przedstawicieli chorych na astmę i zdrowej kontroli.

Do blokowania molekuł adhezyjnych wykorzystywano:

- mysie przeciwciało IgG₁ skierowane przeciwko keyhole limpet hemocyanin antigen (KLH) (klon X40) - kontrola izotypowa eksperymentu,
- blokujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko integrynie $\alpha_1\beta_1$ (klon FB12) i $\alpha_2\beta_1$ (klon P1E6),

jak również dezintegriny:

- VLO4 - homodimeryczną dezintegrinę RGD, blokującą m.in. integryny $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$ oraz $\alpha_v\beta_3$.
- VLO5 - heterodimeryczną dezintegrinę MLD, blokującą integryny $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_9\beta_1$, i $\alpha_4\beta_7$
- wiperistatynę - monomeryczną dezintegrinę KTS, blokującą integrynę $\alpha_1\beta_1$
- VP12 - lektynę typu C, blokującą integrynę $\alpha_2\beta_1$.

Wyniki:

1. Wykazano, że wszystkie zastosowane białka anty-adhezyjne hamowały transmigrację eozynofików, niezależnie czy komórki te uzyskano od chorych na astmę czy od zdrowej grupy kontrolnej.
2. W przypadku komórek jednojądrzastych efektywne były jedynie dezintegryny VLO4 i VLO5. Tutaj także nie zauważono różnic pomiędzy astmatykami a osobami zdrowymi.

Wnioski:

Blokowanie integryn $\alpha_1\beta_1$ i $\alpha_2\beta_1$ najpewniej hamuje transmigrację eozynofików krwi obwodowej do zmienionych zapalnie tkanek. Efekt ten występuje niezależnie czy komórki te pochodzą od astmatyków, czy od zdrowej grupy kontrolnej.

Integryny te nie wpływają natomiast na migrację komórek jednojądrzastych przez ścianę mikrokrążenia.

Publikacja Nr 7

Dezintegryny jadów węży – źródło wiedzy i poznania nowych leków.

Snake venom disintegrins - source of knowledge and development of the new drugs.

Niniejsza publikacja jest prawdopodobnie pierwszą i jedną z niewielu prac poglądowych w języku polskim dotyczącą zagadnienia dezintegryn. Przedstawiono w niej sposoby wykorzystania białek jadów węży w biologii i medycynie. Zwrócono uwagę, iż odkrycie dezintegryn zawdzięczamy naszemu rodakowi z Warszawy, profesorowi medycyny i biochemii Stefanowi Niewiarowskiemu, który większość swego aktywnego życia spędził pracując na Uniwersytecie Temple, w Filadelfii w USA. Odkrycie dezintegryn wiązało się z pracami nad czynnością płytek krwi. Przypomniano, iż kaptopril, pierwszy przedstawiciel niezwykle ważnej dziś grupy inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę został zsyntetyzowany na bazie peptydu jadu węża *Bothrops jararaca/jararacussa* (żararaka). W pracy omówiono grupy aktywnych składników jadów węży, a następnie opisano wiele ze znanych w tym okresie dezintegryn (poznano ich wówczas ponad 40). Przedstawiono podział tych polipeptydów, nazewnictwo, budowę i charakterystykę w zależności od miejsca aktywnego. Zwrócono uwagę, iż integrelin i tirofiban, leki blokujące płytki krwi, które w latach 90-tych były stosowane u chorych z ostrym zawałem serca, wzięły swój początek od badań nad tzw. dezintegrynami RGD. Posiadają one w miejscu aktywnym argininę, glicynę i kwas glutaminowy i łączą się przez te aminokwasy z tzw. RGD-zależnym fragmentem obecnym głównie na integrynach: $\alpha_{IIb}\beta_3$ (receptor fibrynogenu), $\alpha_v\beta_3$ (receptor witronektyny) i $\alpha_5\beta_1$ (receptor fibronektyny). Obecnie w tej roli stosuje się raczej przeciwciała monoklonalne, np. abcixymab, ale zasada ich działania jest podobna jak w opisanych powyżej lekach polipeptydowych. Niemal każda integryna ma odpowiadającą jej blokującą dezintegrynę. Zwrócono uwagę na możliwe wykorzystanie dezintegryn jako związków

hamujące migrację i aktywność komórek zapalnych i nowotworowych. Wydaje się, iż badania nad dezintegrynami stwarzają szansę na wykorzystanie tych związków, lub polipeptydów opartych o ich budowie, w takich dziedzinach medycyny jak immunologia, reumatologia, onkologia, a nawet okulistyka.

W pracy wspomniano także grupę białek ADAM (a disintegrin and metalloproteinase), które występują w ciałach ssaków (także człowieka) i zawierają domenę podobną w budowie do dezintegryn jadów węży. Uczestniczą one w bardzo wielu procesach tak fizjologicznych, jak i patologicznych, np. w rozwoju niewydolności serca, choroby Alzheimera, płamicy zakrzepowej małopłytkowej i w chorobach autoimmunologicznych.

Publikacja Nr 8

Integrins in pulmonary inflammatory diseases.

Integryny w płucnych schorzeniach zapalnych.

W pracy tej omówiono szczegółowo obecny stan wiedzy na temat roli integryn w chorobach zapalnych dróg oddechowych i tkanki płucnej.

Opisano budowę, podział i funkcje integryn zarówno w aspekcie fizjologii jak i patologii schorzeń u ludzi. Scharakteryzowano znane integryny na powierzchni leukocytów, opisano szczegółowo ich ligandy i interakcje biologiczne. W kolejnych podrozdziałach omówiono rolę integryn w mechanizmie powstawania wybranych stanów chorobowych układu oddechowego. Uwzględniono m.in. ich znaczenie w astmie, przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc, rozedmie, jak również w sarkoidozie. Opisano kluczowe znaczenie integryn w procesach gojenia tkanki płucnej, jej włóknieniu, powstawaniu nowych naczyń krwionośnych w łożysku płucnym, rozwoju schorzeń nowotworowych, tak pierwotnych jak i przerzutowych, oraz w procesach wiodących do przebudowy ściany oskrzeli. Scharakteryzowano możliwe sposoby wykorzystania leków anti-integrynowych w farmakoterapii schorzeń układu oddechowego oraz opisano potencjalne możliwości ich uzyskania, w tym wykorzystanie do tego celu dezintegryn jadów węży.

Publikacja Nr 9

Human eosinophil transmigration

Transmigracja ludzkich eozynofili

Do napisania tej pracy zostałam zaproszona przez Pana Profesora Garry M. Walsh, który skontaktował się ze mną po ukazaniu się publikacji Nr 5 w bazie internetowej PubMed. Poinformował mnie, iż jest redaktorem naczelnym monografii dotyczącej metodologii pracy laboratoryjnej z eozynofilami i proponuje mi przygotowanie rozdziału dotyczącego opracowanej przeze mnie nowatorskiej metody transmigracji ludzkich eozynofili krwi obwodowej. Niniejsza praca jest więc szczegółowym opisem procedury laboratoryjnej związanej z eksperymentami *in vitro* na ten temat.

Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Oprócz głównego cyklu tematycznego związanego z zasadniczym osiągnięciem naukowym jestem autorem lub współautorem 15 oryginalnych pełnotekstowych prac naukowych opublikowanych jako artykuły w czasopiśmie (IF-25,505; punktacja MNiSW-210), 9 prac kazuistycznych (IF-4,725, punktacja MNiSW-83), 1 pracy pogładowej, 4 prac oryginalnych stanowiących rozdziały w monografiach międzynarodowych (punktacja MNiSW-20) i 2 w monografiach krajowych, jak również 1 pracy popularno-naukowej. Ponadto jestem autorem bądź współautorem 2 listów do redakcji (IF-3,823; punktacja MNiSW-50), 1 pracy wielośrodkowej i ponad 30 doniesień konferencyjnych w większości międzynarodowych (vide załączony spis publikacji).

Łącznie mój dorobek naukowy to IF 48,281, co stanowi 425 punktów MNiSW; liczba cytowań wynosi 373, a współczynnik Hirscha 9.

Jako pierwsze zagadnienie dotyczące mojej pracy naukowej w aspekcie niezwiązanym z tematem głównego osiągnięcia, chciałabym wymienić **badania nad aktywacją układu krzepnięcia w astmie**. Zainteresowanie tym zagadnieniem wiązało się z rosnącą liczbą doniesień na temat zwiększonego ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych u chorych na to schorzenie, nawet w okresie stabilizacji objawów klinicznych. W związku z tym postanowiono zbadać, czy u astmatyków występuje zwiększona generacja trombiny i zaburzenia w zakresie fibrynolizy osoczowej. Wyniki tej pracy zamieszczono w publikacji z marca 2016:

Bazan-Socha S, Mastalerz L, Cybulska A, Zareba L, Kremers R, Zabczyk M, Pulka G, Iwaniec T, Hemker C, Undas A. Asthma is associated with enhanced thrombin formation and impaired fibrinolysis. *Clin Exp Allergy*. 2016 Mar 28. doi: 10.1111/cea.12734. IF 4.769

W badaniu tym oceniono profil generacji trombiny w osoczu poprzez analizę automatycznego trombogramu (ang. Calibrated Automated Thrombogram [CAT]) wraz z komputerową interpretacją dynamiki powstawania trombiny oraz wydajność osoczowej fibrynolizy w przeliczeniu na czas lizy skrzepu (ang. clot lysis time [CLT]). Oznaczenia wykonano u 164 chorych na astmę klinicznie stabilną i 72 ochotników, stanowiących grupę kontrolną, dopasowanych pod względem wieku, płci, masy ciała i palenia tytoniu. Stwierdzono, iż chorzy na astmę mieli 20,2% wyższy endogenny potencjał trombiny (ang. endogenous thrombin potential [ETP]), 41,4% wyższe maksymalne stężenie trombiny, 61% wyższy maksymalny współczynnik konwersji protrombiny, 15,5% szybsze tempo powstawania trombiny (wszystkie, $p < 0,0001$) oraz 10% wolniejszy proces jej degradacji ($p = 0,0004$) w porównaniu z grupą kontrolną. Chorzy na astmę mieli także 14,4% dłuższy CLT ($p = 0,001$), co wiązało się z 21,3% wyższym osoczym stężeniem inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (ang. plasminogen activator inhibitor 1 [PAI-1]) ($p < 0,0001$), i 13% podwyższonym stężeniem α_2 -makroglobuliny ($p = 0,0002$). Wartości ETP i CLT powyżej 75-tego percentyla parametrów grupy kontrolnej wiązały się ze zwiększonym ryzykiem istotnie podwyższonej generacji trombiny oraz upośledzonej fibrynolizy u chorych na astmę, także po korekcie na potencjalne czynniki zakłócające. ETP i CLT korelowały odwrotnie proporcjonalnie ze wskaźnikiem FEV₁/VC, także po skorygowaniu o wartości masy ciała i wieku. Astma niealergiczna ($n = 70$, 42,6%) wiązała się z 17,5% dłuższym CLT ($p = 0,02$), w powiązaniu ze stężeniem PAI-1. Parametry opisujące generację trombiny nie miały związku z obecnością alergii. **Wnioski i znaczenie kliniczne pracy:** astma jest związana ze zwiększoną generacją

trombiny i upośledzeniem fibrylizy, co może tłumaczyć zwiększoną liczbę powikłań zakrzepowo-zatorowych u tych chorych.

Szczególne miejsce w moim dorobku naukowym przypada współpracy z matematykami i informatykami w zakresie **wykorzystania metod sztucznej inteligencji w analizie danych medycznych**. Były to badania naukowe związane z opracowaniem metod na potrzeby konstrukcji systemów komputerowych do automatycznej analizy danych medycznych i wnioskowań aproksymacyjnych dla komputerowego wspierania podejmowania decyzji. Od strony matematyczno-informatycznej, tego rodzaju badania wiążą się z takimi poddziedzinami informatyki jak: uczenie maszynowe (ang. machine learning) i eksploracja danych (ang. data mining), automatyczne planowanie (ang. automated planning), teoria zbiorów przybliżonych (ang. rough sets), autonomiczne systemy wieloagentowe (ang. autonomous multiagent systems) i inne.

Wynikiem tych prac są 3 publikacje oryginalne zamieszczone w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz 13 publikacji oryginalnych stanowiących rozdziały w monografiach zagranicznych, krajowych lub w recenzowanych materiałach z konferencji międzynarodowych.

W tej tematyce uczestniczyłam w pracach badawczych, których celem było opracowanie szeregu specyficznych metod eksploracji danych. Poniżej przedstawiam podstawowe informacje dotyczące tych badań, przy czym opis został podzielony na kilka części odpowiadających różnym typom metod informatycznych, które były rozwijane w omawianych pracach badawczych.

1. Badania naukowe mające na celu opracowanie nowej metody konstrukcji klasyfikatorów hierarchicznych, przeznaczonych do analizy zachowań złożonych obiektów zmieniających się w czasie (np. pacjentów). Klasyfikatory takie, będące w istocie algorytmami wspomagającymi podejmowanie decyzji, tworzone były na podstawie wiedzy dziedzinowej wprowadzonej do systemu przez ekspertów (lekarzy) oraz zbiorów danych zebranych dla danego problemu decyzyjnego. Jako podstawowe pojęcie związane z analizą zachowania złożonych obiektów zmieniających się w czasie, wprowadzono pojęcie "wzorca zachowania". Oryginalność opracowanych tutaj metod w porównaniu ze znanymi z literatury polega na wspomaganie procesu modelowania aproksymacji złożonych pojęć czasowo-przestrzennych za pomocą ontologii pojęć i niepełnej informacji o pojęciach w tej ontologii. Skonstruowane klasyfikatory są w stanie z dużą dokładnością rozpoznawać zdefiniowane przez eksperta wzorce zachowania złożonych obiektów jak np. zachowanie się pacjenta związane z zagrożeniem życia. Klasyfikatory testowano na zbiorach danych pozyskanych z Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, a dotyczyły one leczenia niewydolności oddechowej u niemowląt. Badania były prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki Uniwersytetu Warszawskiego (prof. dr hab. Andrzej Skowron), Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan) oraz Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego (prof. dr hab. n. med. Jacek Pietrzyk, dr n. med. Piotr Kruczek). Wyniki tych badań zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji międzynarodowej [IPMU 2006] oraz w czasopiśmie z listy filadelfijskiej [FI 2007].

[IPMU 2006] Bazan JG, Kruczek P, **Bazan-Socha S**, Skowron A, Pietrzyk JJ. Risk Pattern Identification in the Treatment of Infants with Respiratory Failure Through Rough Set

Modeling. Proceedings of the Eleventh Conference of Information Processing and Management of Uncertainty in Knowledge-Based Systems (IPMU 2006), 2650-2657.

[FI 2007] Bazan JG, Kruczek P, **Bazan-Socha S**, Skowron A, Pietrzyk JJ. Rough set approach to behavioral pattern identification. *Fundam. Inform.* 2007; 75: 27-47. IF 0.717

2. Badania naukowe mające na celu opracowanie nowej algorytmicznej metody automatycznego planowania zachowania się zmieniających się w czasie obiektów złożonych. Metoda ta była konstruowana w oparciu o wiedzę dziedzinową dostarczoną przez ekspertów oraz zbiory danych. Istotną nowością tej metody, w porównaniu z istniejącymi metodami automatycznego planowania jest to, że wykonanie akcji w planie zależy od spełnienia złożonych nieostrych warunków czasowo-przestrzennych, wyrażonych w języku naturalnym, które wymagają aproksymacji za pomocą klasyfikatorów. Warunki te opisują zmiany obiektów złożonych, które winny być odzwierciedlone w ontologii pojęć. Zachowanie pojedynczych obiektów złożonych modelowane jest za pomocą tzw. reguł planowania, będących formułami definiowanymi na podstawie zbiorów danych i wiedzy dziedzinowej. Do weryfikacji jakości wygenerowanych planów zaproponowano metodę mierzenia podobieństwa pomiędzy wygenerowanym automatycznie planem, a planem proponowanym przez eksperta. Innowacyjność opisanej metody mierzenia podobieństwa polega na wykorzystaniu wiedzy dziedzinowej reprezentowanej w postaci ontologii pojęć, która jest wykorzystywana do konstrukcji hierarchicznego klasyfikatora aproksymującego podobieństwo. Eksperymenty wykazały, że jakość wygenerowanych planów krótkotrwałego leczenia jest na tyle dobra, że metoda ta może być stosowana do wspomagania decyzji w praktyce medycznej. Klasyfikatory testowano na zbiorach danych pozyskanych z Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego, a dotyczyły one leczenia niewydolności oddechowej u niemowląt. Podobnie jak poprzednio, prace były prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki Uniwersytetu Warszawskiego (prof. dr hab. Andrzej Skowron), Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan) oraz Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii (prof. dr hab. n.med. Jacek Pietrzyk, dr n. med. Piotr Kruczek). Wyniki badań zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji międzynarodowej [CS&P 2006] oraz w rozdziale monografii zagranicznej [LNAI 2006].

[CS&P 2006] Bazan, J., Kruczek, P., **Bazan-Socha, S.**, Skowron, A., Pietrzyk, J.: Automatic planning of treatment of infants with respiratory failure through rough set modeling, In Proceedings of the Workshop on Concurrency, Specification and Programming (CS&P 2006), Wandlitz, Germany, 2006, September 27-29, volume 206 of Informatik-Bericht, p. 388-399, Humboldt University (2006).

[LNAI 2006] Bazan J, Kruczek P, **Bazan-Socha S**, Skowron A, Pietrzyk JJ. Automatic planning of treatment of infants with respiratory failure through rough set modeling. *Lecture Notes in Artificial Intelligence* vol. 4259, 418-427, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag (2006).

3. Badania naukowe, których celem było opracowanie kolejnej metody automatycznego planowania leczenia w krótkim okresie czasu. Cechą metody jest połączenie wcześniej znanych metod automatycznego planowania w oparciu o przykłady (ang. case-based planning) z uczeniem się złożonych pojęć na podstawie zbiorów danych i wiedzy dziedzinowej, reprezentowanej głównie w formie ontologii pojęć. Plan traktowany jest w tej

metodzie jako złożona decyzja. Stąd rozwiązanie problemu planowania wiąże się ze skonstruowaniem klasyfikatora, który generuje wartości takiej decyzji. Metoda działa w oparciu o przykłady planów medycznych. Z planów tych wycinane są fragmenty, które później są łączone celem otrzymania nowych planów dla przypadków testowych. Proces łączenia wspomnianych fragmentów jest nadzorowany przez specjalne klasyfikatory oparte na zbiorach danych i wiedzy dziedzinowej. Dzięki temu wygenerowane plany są zgodne z wiedzą dziedzinową. Eksperymenty wykazały, że jakość klasyfikacji omawianej metody jest na tyle dobra, że metoda ta może być stosowana do wspomagania decyzji w praktyce medycznej. Warto wspomnieć, że metoda omawiana w tym miejscu jest znacząco różna od metod opisanych w punkcie 2, gdyż wykorzystywane jest tutaj podejście oparte na przykładach (ang. case-based planning), natomiast metody planowania z punktu 2 są oparte na klasyfikatorach hierarchicznych. Podobnie jak poprzednio, klasyfikatory testowano na zbiorach danych pozyskanych z Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii, a dotyczyły one leczenia niewydolności oddechowej u niemowląt. Prace były prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki Uniwersytetu Warszawskiego (prof. dr hab. Andrzej Skowron, mgr Grzegorz Góra), Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan) oraz Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii (prof. dr hab. n. med. Jacek Pietrzyk, dr n. med. Piotr Kruczek). Wyniki tych prac zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji międzynarodowej [CS&P 2007] oraz w czasopiśmie z listy filadelfijskiej [FI 2008].

[CS&P 2007] Góra, G., Bazan, J., Kruczek, P., **Bazan-Socha, S.**, Skowron, A., Pietrzyk, J., J.: Case-based planning of treatment of infants with respiratory failure, Proceedings of the International Workshop on Concurrency, Specification & Programming (CS&P 2007), Łągow, September 27-29, 2007, p. 223-234, Printed by Warsaw University (2007).

[FI 2008] Góra G, Bazan J, Kruczek P, **Bazan-Socha S**, Skowron A, Pietrzyk JJ. Case-based planning of treatment of infants with respiratory failure. Fundamenta Informaticae 2008; 85:155-172. IF 0.717

4. Badania naukowe, których celem było opracowanie skutecznej metody eksploracji danych w celu automatycznego przewidywania potrzeby rewaskularyzacji tętnic wieńcowych na podstawie monitorowania danych klinicznych oraz 24 godzinnego zapisu EKG metodą Holtera. W tym celu konstruowano klasyfikatory oparte na specyficznych drzewach decyzyjnych, wykorzystujących miarę podziału węzła drzewa opartą na liczbie rozróżnionych przez to cięcie par obiektów (pacjentów) z różnych klas decyzyjnych, gdzie przez klasy decyzyjne rozumiemy grupy pacjentów z chorobą niedokrwienną serca (CNS), tj. pacjentów z chorobą 1-, 2- i 3-naczyniową oraz pacjentów bez istotnych zwężeń tętnic wieńcowych. Do definiowania cech na potrzeby budowy klasyfikatora zastosowano specjalny język, wykorzystujący elementy logiki decyzyjnej i logiki temporalnej, w którym ekspert formułuje cechy pacjenta w oparciu o wiedzę dziedzinową. Dodatkowo, wykorzystując doniesienia z literatury o niespójności zapisu EKG z obrazem angiograficznym, zaproponowano wagi dla cięć rozróżniających pary obiektów z różnych grup CNS. Dzięki temu skonstruowane klasyfikatory subtelniej rozróżniały pacjentów z normalnymi naczyniami, a tymi z chorobą 1-naczyniową, w porównaniu z odległością między przypadkami bez zmienionych naczyń a chorobą 3-naczyniową. Spowodowało to podwyższenie jakości rozpoznawania klas decyzyjnych, która jest znacznie lepsza od jakości metod wcześniej opisanych w literaturze. W oparciu o te założenia i otrzymane wyniki uzyskano grant Narodowego Centrum Nauki, z komisji informatycznej, który obecnie jest w trakcie realizacji. Klasyfikatory testowano na

zbiorach danych pozyskanych z II Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, dotyczących leczenia pacjentów ze stabilną chorobą niedokrwienną serca. Prace były prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki Uniwersytetu Warszawskiego (prof. dr hab. Andrzej Skowron), Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan, mgr. inż., lek. med. Sylwia Buregwa-Czuma, dr inż. Przemysław Pardel) oraz II Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego (dr n. med. Barbara Sokołowska). Wyniki tych prac zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji międzynarodowej [FedCSIS 2012] oraz w rozdziałach następujących monografii zagranicznych [ACICCIS 2012], [RSIS 2013] [TRS 2015].

[FedCSIS 2012] Bazan JG, **Bazan-Socha S**, Buregwa-Czuma S, Pardel P, Sokołowska B. Predicting the presence of serious coronary artery disease based on 24 hour Holter ECG monitoring. In: Ganzha M, Maciaszek L, Paprzycki M (Eds.), Proceedings of the Federated Conference on Computer Science and Information Systems (FedCSIS'2012), 2012: 279-286.

[ACICCIS 2012] Bazan JG, **Bazan-Socha S**, Buregwa-Czuma S, Pardel P, Sokołowska B. Prediction of coronary arteriosclerosis in stable coronary heart disease. In Greco S, Bouchon-Meunier, Coletti B, Fedrizzi M, Matarazzo B, and Yager RR (Eds.), Advances in Computational Intelligence of Communications in Computer and Information Science, 2012, 298: 550-559.

[RSIS 2013] Bazan J, G, **Bazan-Socha S**, Buregwa-Czuma S, Pardel P, Skowron A, Sokołowska B. Classifiers Based on Data Sets and Domain Knowledge: A Rough Set Approach, In: Skowron A, Suraj Z. (Eds.). Rough Sets and Intelligent Systems - Professor Zdzisław Pawlak in Memoriam. Intelligent Systems Reference Library, Vol. 43, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2013, pp. 93-136.

[TRS 2015] Bazan JG, Buregawa-Czuma S, Pardel PW, **Bazan-Socha S**, Sokołowska B, Dziedzina S. Predicting the presence of serious coronary artery disease based on 24 hour Holter ECG monitoring, pp 95-113. In Peters JF, Skowron A, Ślęzak D, Nguyen HS, Bazan JG (Eds.) Transactions on Rough Sets XIX. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015. ISBN: 978-3-662-47814-1.

5. Badania naukowe, których celem było polepszenie jakości poprzedniej metody eksploracji danych (patrz punkt 4) służącej do automatycznego przewidywania potrzeby rewaskularyzacji tętnic wieńcowych na podstawie monitorowania danych klinicznych oraz 24 godzinnego zapisu EKG metodą Holtera. Inspiracją do opracowania nowej metody były sugestie ekspertów medycznych, że dotychczas stosowane podejście do generowania klasyfikatora oparte na zachłannym generowaniu pojedynczych cięć realizujących podział węzła drzewa decyzyjnego nie zgadza się z praktyką medyczną, która na danym etapie wnioskowania wykorzystuje, niejako redundantnie różne źródła informacji medycznej o pacjencie. Dlatego zaproponowano metodę weryfikacji podziałów w węźle drzewa przez rodzinę k-binarnych podziałów weryfikujących, które możliwie podobnie jak podział optymalny rozróżniają te same pary obiektów z różnych klas decyzyjnych. W ten sposób powstała koncepcja tzw. V-drzewa decyzyjnego, które doprowadziło do znacznego polepszenia jakości klasyfikacji dla przypadków testowych. Podobnie jak poprzednio, klasyfikatory testowano na zbiorach danych pozyskanych z II Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, dotyczących leczenia pacjentów ze stabilną chorobą niedokrwienną serca. Prace były

prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki Uniwersytetu Warszawskiego (prof. dr hab. Andrzej Skowron, dr hab. Jan Bazan), Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan, mgr. inż., lek. med. Sylwia Buregwa-Czuma, dr inż. Przemysław Pardel, dr Wojciech Rząsa, mgr inż. Łukasz Dydo). Wyniki tych prac zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji międzynarodowej [CS&P 2014] oraz w czasopiśmie z listy filadelfijskiej [FI 2016].

[CS&P 2014] Bazan, J., G., **Bazan-Socha, S.**, Buregwa-Czuma, Dydo, L., Rząsa, W., Skowron, A.: A classifier based on a decision tree with verifying cuts, In Proceedings of the Workshop on Concurrency, Specification and Programming (CS&P 2014), Chemnitz, Germany, 2014, September 29-October 1, volume 245 of Informatik-Bericht, pages 13-21, Humboldt University, 2014.

[FI 2016] Bazan JG, **Bazan-Socha S**, Buregwa-Czuma S, Dydo L, Rząsa W, Skowron A. A Classifier Based on a Decision Tree with Verifying Cuts. Fundamenta Informaticae 2016; 143: 1–18. DOI 10.3233/FI-2016-1300. IF 0.717

6. Badania naukowe mające na celu opracowanie nowej algorytmicznej metody eksploracji danych służącej do opisywania wpływu dodatkowego czynnika na zmianę percepcji obserwowanego zjawiska, którą tutaj zastosowano do opisu wpływu dodatkowego leku na percepcję stanu serca obserwowanego za pomocą sygnału EKG. W omawianej metodzie percepcja stanu pacjenta oparta jest na atrybutach opisujących wyniki badań objawowych, które opisują rzeczywisty poziom stanu zagrożenia życia (sygnał EKG). Czynnikiem zakłócającym percepcję stanu pacjenta, którym tutaj jest ponadstandardowe leczenie lekiem Zileuton, powoduje przekłamanie obrazu pacjenta, który czasami postrzegany jest w EKG jakby miał bardziej zaawansowaną chorobę niż ma naprawdę, a czasem jakby miał mniej zaawansowaną chorobę. To "zafałszowanie" obrazu choroby dotyczy nie tyle rzeczywistego zaawansowania choroby, ale aktualnego stopnia zagrożenia życia, które ta choroba powoduje. Celem badań było opracowanie metody przewidywania jaką zmianę percepcji choroby spowoduje lek u danego pacjenta. Dla osiągnięcia tego celu zaproponowano pewien rodzaj reguł decyzyjnych (reguły krzyżowe) wraz z automatyczną metodą ich generowania, które mają postać implikacji. Po lewej stronie takiej implikacji (w poprzedniku) znajdują się warunki (przesłanki) wyrażone formułą logiczną zdefiniowaną w oparciu o sygnał EKG, które opisują aktualną percepcję stanu pacjenta. Natomiast po prawej stronie implikacji znajdują się dwa warunki opisujące rzeczywiste stany pacjentów związane z chorobą wieńcową, przy czym pierwszy dotyczy pacjentów którym podawano lek, a drugi pacjentów, którym nie podawano leku. Reguły krzyżowe dają zatem możliwość stwierdzenia jak lek zmienia percepcję stanu choroby dla poszczególnych pacjentów. Klasyfikatory testowano na zbiorach danych pozyskanych z II Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, dotyczących leczenia pacjentów ze stabilną chorobą niedokrwienną serca. Prace były prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan, mgr. inż., lek. med. Sylwia Buregwa-Czuma, dr inż. Przemysław Pardel, mgr. inż. Łukasz Dydo i dr Lech Zaręba), Wydział Matematyczno-Przyrodniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr Lech Zaręba) oraz II Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego (dr n. med. Barbara Sokołowska). Wyniki tych prac zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji międzynarodowej [CS&P 2015A].

[CS&P 2015A] Buregwa-Czuma, S., Bazan, J., G., Zareba, L., **Bazan-Socha, S.**, Pardel, P., W., Sokolowska, B., Dydo, L.: The Method for Describing Changes in the Perception of Stenosis in Blood Vessels Caused by an Additional Drug, In Proceedings of the Workshop on Concurrency, Specification and Programming (CS&P 2015), Rzeszów, Poland, September 28-30, pages 115-125, 2015.

7. Prace badawcze mające na celu opracowanie nowej metody automatycznego rozumienia obrazów medycznych. W pierwszym etapie omawianych badań, przez "automatyczne rozumienie obrazów medycznych" przyjęto nazywać taką funkcjonalność programu komputerowego, która pozwala na automatyczne rozpoznawanie poszczególnych narządów wewnętrznych na obrazach tomografii komputerowej. Taka interpretacja doprowadziła do opracowania automatycznych metod analizy obrazów, które później można będzie wykorzystać do budowy dalszych funkcjonalności, np. automatyczną lokalizację miejsc chorobowych w tomografii, automatyczne wykrywanie rozmaitych artefaktów w obrazie, czy też realizacja konwersacji eksperta z komputerem na temat obserwowanego rezonansu lub tomografii komputerowej. Opracowano prototypową wersję aplikacji wykorzystującą wiedzę ekspercką i dziedzinową w procesie analizy obrazów medycznych, wykorzystującą nowe metody inteligentnej analizy obrazu w oparciu o zbiory danych i wiedzę dziedzinową. Uzyskano wysoką jakość rozpoznawania narządów w tomografiach klatki piersiowej. Oprogramowanie testowano na zbiorach danych obrazowych z tomografii komputerowej wysokiej rozdzielczości klatki piersiowej, pozyskanych z II Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, dotyczących leczenia pacjentów z astmą. Prace były prowadzone we współpracy z osobami z następujących jednostek naukowych: Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Komputerowego Uniwersytetu Rzeszowskiego (dr hab. prof. UR Jan Bazan, dr inż. Przemysław Pardel) oraz II Katedry Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (dr n. med. Jacek Zarychta). Wyniki tych prac zostały opublikowane w recenzowanych materiałach konferencji [BDAS 2015] , [FedCSIS 2015] [CS&P 2015B].

[BDAS 2015] Pardel PW, Bazan JG, Zarychta J, **Bazan-Socha S.** Automatic Medical Objects Classification Based on Data Sets and Domain Knowledge. In Beyond Databases, Architectures and Structures. 11th International Conference (BDAS 2015), Kozielski S, Mrozek D, Kasprowski P, Malysiak-Mrozek B, Kostrzewa D (Eds.), pp. 415-424 (2015).

[FedCSIS 2015] Przemysław Wiktor Pardel, Jan G. Bazan, Jacek Zarychta, **Stanisława Bazan-Socha:** A two-level classifier for automatic medical objects classification (FedCSIS 2015), pp. 139-143 (2015).

[CS&P 2015B] Przemysław Wiktor Pardel, Jan G. Bazan, Jacek Zarychta, **Stanisława Bazan-Socha:** An Approach for Resolving Conflicts in Automatic Medical Objects Classification (CS&P 2015), pp. 73-84 (2015).

Pozostałe prace w dorobku naukowym są wymienione w porządku chronologicznym. Zamieszczono również ich bardzo krótki opis merytoryczny.

Prace oryginalne - artykuły w czasopismach

1. Musiał J., Swadzba J., Jankowski M., Grzywacz M., **Bazan-Socha S.**, Szczeklik A. Thrombin generation measured ex vivo following microvascular injury is increased in SLE patients with antiphospholipid-protein antibodies. *Thromb. Haemost.* 1997; 78: 1171-1177. IF 4.582

Obecność autoprzeciwciał skierowanych przeciwko kompleksom fosfolipidowo-białkowym (ang. antiphospholipid-protein antibodies [APA]), w tym antykoagulantu typu toczniowego (ang. lupus-type anticoagulant) oraz przeciwciał rozpoznających kompleksy anionowych fosfolipidów (np. kardiolipina) i białek (np. protrombina i β_2 -glikoproteina I), wiąże się ze zwiększonym ryzykiem występowania powikłań zakrzepowo-zatorowych, tak tętniczych jak i żylnych. W przedstawionej pracy badano patomechanizm prowadzący do zakrzepicy u tych osób. W grupie 32 chorych na toczenia rumieniowatego układuowego (19 ze współistniejącymi APA i 13 bez obecności APA) oraz u 12 zdrowych ochotników, dopasowanych pod względem wieku i płci, oznaczano generację trombiny metodą *ex vivo*, poprzez pomiary fibrynopeptydu A (FPA) i protrombiny fragmentu F1+2 (F1+2) w próbkach krwi wpływającej po nacięciu naczyń mikrokrążenia skóry (kolejne próbki z nacięć były zbierane w 30-sekundowych odstępach czasu). Stwierdzono, iż u pacjentów z APA stężenia FPA oraz F1+2 były istotnie wyższe w większości zabezpieczonych próbek krwi w porównaniu z grupą kontrolną. U niektórych chorych ze współistniejącym APA proces wytwarzania trombiny był wyraźnie zakłócony i bardzo wysokie stężenia FPA otrzymano już w pierwszych zebranych próbkach. Również chorzy na toczenia, ale bez współistniejących APA po dwóch minutach od nacięcia produkowali nieco więcej FPA, ale nie F1+2, w porównaniu z osobami zdrowymi. Model matematyczny stosowany do analizy kinetyki generacji trombiny wykazał, że pacjenci z APA generowali znacznie większe ilości trombiny niż osoby zdrowe ($p=0,02$, dla obu oznaczanych markerów). W przeciwieństwie do obserwacji *ex vivo*, u tych samych osób generacje trombiny w osoczu uwapnionym, a więc oznaczane *in vitro* były opóźnione. Obserwacja ta wskazuje na istotną rolę śródbłonna w badanym zjawisku. Podsumowując, w prezentowanej pracy po raz pierwszy wykazano, że chorzy na toczenia ze współistniejącymi APA produkują więcej trombiny w odpowiedzi na małe uszkodzenie naczyń krwionośnych, co może tłumaczyć ich tendencję do powikłań zakrzepowych.

Należy nadmienić, że tematyka przedstawiona w tej pracy była pierwszym projektem naukowym, w który zostałam zaangażowana jeszcze jako studentka Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum pracująca w Studenckim Kole Naukowym. Wykonywałam w tej pracy oznaczenia generacji trombiny *in vitro*, a za prezentowane wyniki otrzymałam **I nagrodę w kategorii prac klinicznych podczas XXXIII Ogólnopolskiej i III Międzynarodowej Konferencji Naukowej Studentów Medycyny, Kraków 1995 rok.**

2. Sanak M, Pierzchalska M, **Bazan-Socha S**, Szczeklik A. Enhanced expression of the leukotriene C₄ synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2000; 23: 290-296. IF 4.353

Astma z nadwrażliwością na aspirynę (ang. Aspirin-intolerant asthma [AIA]) dotyka około 10% dorosłych chorych na astmę i wydaje się być zależna od nadprodukcji leukotrienów cysteinylowych (Cys-LT) przez eozynofile płucne. Gen kodujący syntazę leukotrienu C₄

(LTC₄S), enzymu kluczowego dla regulacji produkcji Cys-LT, występuje w postaci dwóch alleli, zależnych od transwersji A do C w miejscu 444 nukleotydów powyżej miejsca rozpoczęcia translacji. W niniejszej pracy wysunięto hipotezę, iż wspomniany polimorfizm pojedynczego nukleotydu wpływa na wiązanie czynników transkrypcyjnych i szybkość transkrypcji tego genu, co może predysponować do rozwoju AIA. Przeprowadzone badania wykazały, iż rzeczywiście, allel zawierający zmieniony nukleotyd ₄₄₄C, w przeciwieństwie do allelu ₄₄₄A, posiada dodatkowe miejsce wiążące czynnik transkrypcyjny 2 histonu H4 (H4TF-2). Wprowadzenie oligonukleotydu blokującego H4TF-2 do komórek dobrze zróżnicowanej linii HL-60, wykazującej ekspresję LTC₄S, wiązało się ze zmniejszeniem produkcji LTC₄ do 68%. Z kolei transfekcja komórek COS-7 zaprojektowanym promotorem wariantu ₄₄₄C LTC₄S skutkowałą zwiększoną ekspresją β-galaktocydazy. W pracy tej wykazano również, że częstości alleliczne wariantu ₄₄₄C LTC₄S były istotnie wyższe u pacjentów z AIA (n=76) w porównaniu do astmatyków dobrze tolerujących aspirynę (n=110) i zdrowej grupy kontrolnej (n=75). Pacjenci z AIA mieli również podwyższoną ekspresję mRNA LTC₄S wraz z eozynofilią we krwi obwodowej. Wziewny test prowokacyjny z aspiryną lizynową wykazał wzrost wydzielania z moczem LTE₄, ale różnice statystycznie znamienne uzyskano jedynie dla nosicieli allelu ₄₄₄C. Wyniki zaprezentowanej pracy sugerują, że czynnikiem transkrypcyjnym, który wyzwała nadprodukcję Cys-LT w eozynofilach i ich prekursorach w szpiku kostnym u nosicieli allelu ₄₄₄C jest H4TF-2. Genetyczna predyspozycja do nadmiernej aktywacji szlaku produkcji Cys-LT, która jest charakterystyczną cechą AIA, może być związana ze zwiększoną ekspresją LTC₄S u nosicieli allelu ₄₄₄C.

3. Mastalerz L, Nizankowska E, Sanak M, Mejza F, Pierzchalska M, **Bazan-Socha S**, Bestynska-Krypel A, Cmiel A, Szczeklik A. Clinical and genetic features underlying the response of patients with bronchial asthma to treatment with a leukotriene receptor antagonist. *Eur. J Clin. Invest.* 2002; 32: 949-55. IF 2.193

Leczenie za pomocą leków antyleukotrienowych skutkuje poprawą kliniczną u wielu, ale nie u wszystkich chorych na astmę. W niniejszej pracy przyjęto hipotezę, iż populacja astmatyków, która charakteryzuje się nietolerancją aspiryny i nadprodukcją leukotrienów cysteinylowych, mogłaby odnieść największą korzyść z tej terapii. Badano odpowiedź kliniczną na montelukast w 8-tygodniowym kontrolowanym placebo badaniu z pojedynczym zaślepieniem, przeprowadzonym w dwóch dobrze dopasowanych grupach chorych na astmę: 26 z nietolerancją aspiryny i 33 dobrze tolerujących aspirynę. Ponadto oceniano produkcję leukotrienów cysteinylowych jako potencjalnego czynnika prognostycznego odpowiedzi klinicznej na leczenie montelukastem. Wyniki: U chorych otrzymujących montelukast obserwowano zmniejszenie nasilenia dziennych i nocnych objawów astmy, redukcję stosowania szybko działających β₂-agonistów, jak również poprawę w zakresie pomiarów porannego i wieczornego szczytowego przepływu wydechowego oraz jakości życia. Nie wykazano różnic pomiędzy oboma grupami chorych na astmę. Odpowiedź kliniczna nie korelowała z podstawowym wydzielaniem leukotrienu E₄ w moczu. Poprawę astmy obserwowano głównie u pacjentów z niską i nieulegającą podwyższeniu po stymulacji IL-5 ekspresją genetyczną mRNA syntazy leukotrienu C₄ (LTC₄S) w eozynofilach krwi obwodowej. Zauważono tendencję w kierunku lepszej odpowiedzi na montelukast u nosicieli allelu C LTC₄S. Wnioski: Nie stwierdzono różnic w odpowiedzi na montelukast pomiędzy pacjentami z nadwrażliwością na aspirynę i z dobrą tolerancją tego leku.

4. Matyja-Bednarczyk A., **Bazan-Socha S.**, Musiał J. Ciężka postać rumienia wielopostaciowego po miejscowym zastosowaniu leku (idrocilamid) u pacjentki z toczniem rumieniowatym układowym. *Alergia, Astma, Immunologia* 2009, 15: 133-136.

Rumień wielopostaciowy jest ciężkim, potencjalnie śmiertelnym schorzeniem, związanym zwykle ze stosowaniem farmakoterapii. W pracy przeanalizowano przyczyny wystąpienia tego schorzenia, jego przebieg i postępowanie terapeutyczne. Zwrócono uwagę, iż może on wystąpić nawet po lekach stosowanych miejscowo, szczególnie u chorych ze współistniejącą chorobą autoimmunologiczną. Wyszczególniono przypadek pacjentki z rozpoznaniem toczeniem rumieniowatym układowym, u której po miejscowym zastosowaniu leku rozluźniającego mięśnie szkieletowe (idrocilamid) wystąpiła ciężka postać rumienia wielopostaciowego. Po zastosowaniu wysokich dawek glikokortykosteroidów obserwowano progresję zmian skórnych. Szybki efekt terapeutyczny uzyskano natomiast po zabiegach plazmaferezy.

5. **Bazan-Socha S**, Nowak N, Musiał J. IL-12/IFN γ axis disturbance complicated by recurrent *Mycobacterium kansasii* infection, interstitial lung disease and B-cell lymphoma in an adult patient. *Alergologia-Immunologia* 2009, 6: 128-130 .

Niedobór odporności w zakresie osi humoralnej IL-12/IFN γ jest rzadkim, najczęściej wrodzonym schorzeniem, które prowadzi do poważnych powikłań infekcyjnych, szczególnie wywoływanych przez prątki atypowe i grzyby. Częste są tutaj także nowotwory. W pracy przeanalizowano przypadki pacjentów leczonych w Klinice Alergii i Immunologii w Krakowie z podejrzeniem i ostatecznym rozpoznaniem tej patologii. Scharakteryzowano diagnostykę i przebieg kliniczny schorzenia z uogólnioną infekcją *Mycobacterium kansasii*, śródmiąższową chorobą płuc i chłoniakiem B-komórkowym. Przedstawiono także dane literaturowe dotyczące częstości występowania, najczęstszych defektów genetycznych i możliwego postępowania terapeutycznego w tym niezwykle rzadkim schorzeniu immunologicznym.

6. Jakiela B, Szczeklik W, Plutecka H, Sokolowska B, Mastalerz L, Sanak M, **Bazan-Socha S**, Szczeklik A, Musiał J. Increased production of IL-5 and dominant Th2-type response in airways of Churg-Strauss syndrome patients. *Rheumatology* 2012; 51:1887-93. IF 4.212

Zespół Churga i Strauss (ang. Churg Strauss syndrome [CSS]) jest rzadkim, układowym zapaleniem naczyń związanym z eozynofilią i astmą. W niniejszej pracy analizowano miejscową odpowiedź układu odpornościowego w drogach oddechowych pacjentów z CSS w zależności od stopnia aktywności choroby. W popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych pobranych od 11 chorych z aktywnym CSS, 11 chorych z CSS w stadium remisji, oraz od 9 astmatyków, stanowiących grupę kontrolną, oznaczono stężenie IL-5, CCL17, CCL22 i CCL26 (metodą ELISA), wraz z ekspresją genów limfocytów pomocniczych metodą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. real-time PCR array). Wyniki: W aktywnym CSS zarówno eozynofilia we krwi jak i w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych była wyższa ($p < 0,01$). Komórki popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych w aktywnym stadium choroby charakteryzowały się zwiększoną ekspresją transkryptów cytokin i białek regulacyjnych pochodzących z komórek Th2: STAT6, STAT3, GATA3, IL-4, IL-5 i IL-10 w porównaniu z osobami z astmą, a STAT5A, CCR4, FOXP3, IL-4, IL-5 i IL-10 w porównaniu z chorymi w nieaktywnym okresie CSS. Ponadto w popłuczynach oskrzelowych od chorych z zaostrzonym CSS stwierdzono wyższe stężenia IL-5 i CCL26 oraz wyższą ekspresję chemokiny CCR4. Wykazano silną dodatnią korelację pomiędzy parametrami klinicznymi aktywności choroby (BVAS, eozynofilia), a ekspresją IL-4, IL-5, IL-10 i STAT5A. Wnioski: Powyższe wyniki wskazują, że w porównaniu z astmą, pacjenci z

aktywną CSS mają znacznie silniejszą lokalną odpowiedź typu Th2 w drogach oddechowych. Limfocyty płucne mogą przyczyniać się do wzrostu eozynofilii w drogach oddechowych u tych chorych poprzez miejscowe wytwarzanie IL-5 i chemokin aktywujących eozynofile.

7. Jurczyszyn A, Zebzda A, Czepiel J, Perucki W, **Bazan-Socha S**, Cibor D, Owczarek D, Majka M. Geldanamycin and Its Derivatives Inhibit the Growth of Myeloma Cells and Reduce the Expression of the MET Receptor. *J Cancer*. 2014; 31: 480-90. doi: 10.7150/jca.8731. IF 3.271

Geldanamycyna (GA) jest zaliczana do antybiotyków ansamycynowych. Wykazuje silne właściwości przeciwnowotworowe. Celem pracy była ocena wpływu GA i jej pochodnych na wzrost komórek linii szpiczakowych oraz na komórki CD138+ uzyskane ze szpiku kostnego pacjentów chorych na szpiczaka plazmocytozy. Ocenie poddano stopień proliferacji, przeżywalność, apoptozę, cykl komórkowy komórek szpiczakowych, a także ekspresję białek na komórkach szpiczaka po uprzedniej inkubacji z GA lub jej pochodnymi. Wyniki: GA i analogi wpływały negatywnie na komórki szpiczakowe, hamując ich wzrost w sposób zależny od czasu i dawki. Komórki linii szpiczakowych odpowiadały zahamowaniem proliferacji po zastosowaniu 10 nM GA i 100 nM analogów GA. Pierwsze znaczące efekty działania GA na komórki linii nowotworowej U266 obserwowano już po 24 godzinach, poprzez pojawienie się populacji komórek zarówno na wczesnych, jak i późnych etapach apoptozy. Zaobserwowano, że w wyniku działania GA i jej pochodnych dochodzi do aktywacji kaspazy-3. Analizę aktywności kinaz AKT i MAP 42/44 dokonano wykorzystując komórki U266 inkubowane przez 24 i 48 godz. z 100 nM GA i jej pochodnymi. Po 24 godz. inkubacji nie zaobserwowano znaczących zmian w ekspresji białek, natomiast po 48 godz. najsilniejsze efekty widoczne były dla białka AKT po zastosowaniu GA i 17AEP-GA. W badaniach oceniających cykl komórkowy stwierdzono, że 100 nM 17AEP-GA i 17-DMAP-GA powoduje zaburzenia cyklu komórkowego. W komórkach U266 zaobserwowano blokadę w fazie G1 manifestującą się prawie 2-krotnym wzrostem odsetka komórek w tej fazie cyklu z równoczesnym spadkiem odsetka komórek w fazie G2/M. W przypadku linii INA6 blokada dotyczyła zarówno fazy G1 jak i G2/M. Wnioski: GA i badane jej analogi poprzez indukcję apoptozy i blokadę cyklu komórkowego hamują wzrost komórek szpiczakowych, oraz wpływają na obniżenie ekspresji receptora MET. Badane pochodne GA mimo wprowadzonych modyfikacji zachowują silne przeciwnowotworowe właściwości. Dwa analogi GA: 17AEP-GA i 17DM-AG ze względu na swoje właściwości mogą okazać się skuteczniejszymi i bezpieczniejszymi chemioterapeutykami, niż dotychczas stosowane 17AAG opisywane w literaturze.

8. Kosalka J, **Bazan-Socha S**, Ignacak M, Zugaj A, Zachwieja K, Głodzik I, Lis G, Tkaczyk M, Zuber Z, Musiał J. Clinical manifestation of pediatric granulomatosis with polyangiitis - the experience of two regions in Poland. *Folia Med Cracov*. 2014;54(1):5-12.

Ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (ang. granulomatosis with polyangiitis [GPA]) to schorzenie, na które zapadają głównie dorośli. Nie ma zbyt wielu danych na temat jego występowania, objawów klinicznych i przebiegu u dzieci. W pracy przedstawiono wyniki retrospektywnej analizy dokumentacji medycznej z czterech dużych szpitali pediatrycznych w południowej i środkowej części Polski, w okresie od 1995 do 2013 roku. Znalezione tylko 9 dzieci z potwierdzonym rozpoznaniem GPA (6 dziewczynek, 3 chłopców). Średni wiek dzieci w momencie wystąpienia choroby to 12 lat (zakres: 8-16 lat). Średnie opóźnienie pomiędzy pierwszymi jej objawami a właściwym rozpoznaniem to ok. 20 miesięcy (zakres: 0-84 miesięcy). Zajęte narządy to: nerki 88,8% (8/9), płuca 77,7% (7/9), uszy/nos/gardło 55,5% (5/9), przewód pokarmowy 55,5% (5/9), skóra 44,4 % (09/04), stawy 22,2% (09/02), oczy

11,1% (9/01), układ nerwowy 11,1% (09/01). Żaden z pacjentów nie rozwinął podgłośniowego zwężenia krtani, a tylko u 2 dzieci zaobserwowano deformację nosa w postaci siodełkowatej. U 5 dzieci pomimo właściwego leczenia choroba postępowała (stała progresja zapalenia i destrukcji ścian zatok w jednym przypadku, schyłkowa niewydolność nerek u dwóch, przewlekła choroba nerek stadium IV w jednym przypadku, jedno dziecko zmarło z powodu krwawienia do pęcherzyków płucnych). Wnioski: manifestacja kliniczna GPA u dzieci była podobna do obserwowanej u dorosłych. Pomimo stosowania obowiązujących schematów terapii u ponad połowy dzieci obserwowano wyraźną progresję choroby.

9. Wawrzycka-Adamczyk K, Zugaj A, Włodarczyk A, Kosałka J, Sznajd J, **Bazan-Socha S**, Musiał J. Zastosowanie niższych dawek rytuksymabu w indukcji remisji u pacjentów z oporną na leczenie ziarniniakowością z zapaleniem naczyń. *Przegląd Lekarski* 2014; 71: 663-665.

Od niedawna w leczeniu układowych zapaleń naczyń przebiegających z obecnością przeciwciał skierowanych przeciwko ziarnistościom neutrofilów stosuje się rytuksymab (RTX) – monoklonalne przeciwciało anti-CD20. Skuteczność tego leku podawanego w tzw. schemacie chłoniakowym (4x375 mg/m²/tydzień) jest porównywalna do leczenia cyklofosfamidem w tych schorzeniach. Istnieją jednak doniesienia, iż RTX w terapii zapaleń naczyń mógłby być stosowany w dawkach znacznie niższych, co wiązałoby się ze zmniejszeniem potencjalnych działań niepożądanych, ale przede wszystkim kosztów terapii. Celem pracy była ocena skuteczności niższych dawek RTX w indukcji remisji ziarniniakowości z zapaleniem naczyń (Wegenera). Badanie przeprowadzono w formie retrospektywnej analizy z oceną skuteczności i bezpieczeństwa stosowania RTX w dawkach niższych niż w schemacie chłoniakowym (mediana = 1,0 g) u chorych leczonych w II Katedrze Chorób Wewnętrznych, Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum. Lek stosowano wyłącznie u osób wykazujących oporność na standardowe leczenie cyklofosfamidem, lub u których leczenie takie nie było możliwe. Do oceny aktywności choroby używano Birmingham Vasculitis Activity Score; jako wyznacznik remisji choroby przyjęto wynik 0. Wyniki: Z dwunastu chorych, którym podano indukcyjne dawki RTX, remisję uzyskano u jedenastu (92%). Obserwacja wynosiła średnio (mediana) 7,5 mies. Całkowitą deplecję limfocytów B obserwowano u wszystkich chorych. U 2 osób wystąpił nawrót choroby, odpowiednio po 42 i 56 miesiącach od podania leku. U jednej z nich udało się ponownie uzyskać remisję choroby po kolejnym zastosowaniu RTX, a drugi pacjent zmarł w przebiegu krwawienia do pęcherzyków płucnych. W pracy potwierdzono skuteczność niższych dawek RTX w indukcji remisji ziarniniakowości z zapaleniem naczyń w przypadkach opornych na standardowe leczenie.

10. Nowak N, **Bazan-Socha S**, Pulka G, Pełka K, Latra P. Evaluation of the quality of life in subjects with a history of severe anaphylactic reaction to the Hymenoptera venom. *Pneumonol Alergol Pol.* 2015;83:352-8. doi: 10.5603/PiAP.2015.0057.

Uczulenie na jady owadów błonkoskrzydłych stanowi jedną z głównych przyczyn reakcji anafilaktycznych w Polsce. Immunoterapia swoista jest jedyną udowodnioną metodą postępowania w takich przypadkach. W ramy kompleksowej opieki wchodzi także edukacja w zakresie profilaktyki i postępowania po ukąszeniu. Celem przedstawionego badania było określenie stanu wiedzy, jak również ocena jakości życia i nasilenia lęku u osób uczulonych na jady owadów błonkoskrzydłych po przebytej reakcji anafilaktycznej. Badanie miało charakter ankietowy, zostało przeprowadzone w sezonie lotów owadów, z wykorzystaniem

walidowanej ankiety Vespider Allergy Quality of Life Questionnaire (VQLQ) oraz Hospital Anxiety and Depression Scale, jak również skali oceniającej nasilenie lęku. Przebadano 61 dorosłych osób (35 z alergią na jad os i 26 na jad pszczoł), z których większość pozostawała już w trakcie immunoterapii swoistej. W grupie uczulonych na jad os w ankiecie VQLQ stwierdzono gorszą jakość życia niż u uczulonych na jad pszczoł ($p=0,014$). Najsilniejszym czynnikiem wpływającym korzystnie na nasilenie lęku była długość trwania immunoterapii ($p=0,01$). Większość ankietowanych potrafiła rozpoznać i właściwie postępować w przypadku anafilaksji, ale tylko 8% nosiło identyfikator alergii, a około 50% wdrażało właściwe zachowania profilaktyczne w życiu codziennym. Wnioski: Stan po przebytej reakcji anafilaktycznej u osób uczulonych na jady owadów błonkoskrzydłych wpływał negatywnie na jakość życia. Immunoterapia swoista istotnie zmniejszała nasilenie lęku. Wydaje się, iż zaproponowane badania ankietowe mogą być przydatne przy kwalifikacji do immunoterapii w przypadkach klinicznie wątpliwych.

11. Szuscik I, **Bazan-Socha S**. Objawy oczne choroby Fabry'ego. Ophtha Therapy- Terapie w Okulistyce 2015; 2: 130-135.

Należy wspomnieć, iż jestem zaangażowana w leczenie dość dużej grupy pacjentów z chorobą Fabry'ego. Klinika Alergii i Immunologii w Krakowie jest jednym z nielicznych szpitali w Polsce, w którym tacy chorzy są diagnozowani, obserwowani i leczeni. Niektórzy z pacjentów otrzymują substytucyjną terapię enzymatyczną (agalzydazę α [Replagal] lub agalzydazę β [Fabrazyme]) w ramach terapii charytatywnej producentów leków (specyfiki te nie są w Polsce refundowane), a niektórzy pozostają jedynie na leczeniu objawowym. Wymieniona praca jest wynikiem analizy i zestawienia zmian okulistycznych u 12 chorych na chorobę Fabry'ego poddanych tak leczeniu enzymatycznemu jak i objawowemu.

Z tematem tym wiąże się także praca kazuistyczna:

Bazan-Socha S, Miszalski-Jamka T, Petkow Dimitrow P, Musiał J. Stabilizacja kliniczna choroby Fabry'ego w toku 54-miesięcznej enzymatycznej terapii zastępczej – ciąg dalszy obserwacji. Pol. Arch. Med. Wewn, 2007; 117: 260-265.

Jest ona efektem obserwacji klinicznej 54-miesięcznego stosowania enzymatycznej terapii zastępczej agalzydazą β u dwóch dorosłych braci (w wieku 48 i 46 lat) z chorobą Fabry'ego. W Polsce byli to jedni z pierwszych chorych na to schorzenie, którzy otrzymali takie leczenie. Zaobserwowano, iż w toku leczenia u obu chorych niemal całkowicie ustąpiły dolegliwości stenokardialne, zwiększyła się masa ciała, uległy redukcji cechy przerostu serca w zapisie EKG. W publikacji opisano przebieg zmian klinicznych i laboratoryjnych w trakcie terapii enzymatycznej oraz jej wpływ na jakość życia.

Opisy przypadków w czasopismach

1. **Bazan-Socha S**, Rudzki Z, Maciejewicz J, Witkos T, Szczeklik A. Różnorodność kliniczna w dwu przypadkach mastocytozy układowej. Pol. Arch. Med. Wewn. 2001; 105: 311-315.

W pracy przedstawiono dwa przypadki mastocytozy układowej o różnym przebiegu klinicznym. Pierwszy z nich objawiał się nawracającymi atakami tachykardii ze wzrostem, a następnie spadkiem ciśnienia tętniczego i utratą przytomności, natomiast drugi - bólami brzucha i uporczywymi biegunkami. Oba zespoły łączyły podobne zmiany skórne o typie *urticaria pigmentosa*, obecność objawu Dariera oraz bardzo wysokie wartości poziomu

tryptazy i prostaglandyny D₂ we krwi, a leukotrienu E₄ w moczu. W pracy przedstawiono diagnostykę różnicową, opis wykonanych badań obrazowych i laboratoryjnych. Dołączono także zdjęcia preparatów histopatologicznych bioptatów szpiku kostnego.

2. Undas A, **Bazan-Socha S**, Swadzba J, Musiał J. Hereditary hemorrhagic telangiectasia, factor V Leiden and antiphospholipid syndrome: a case report. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13: 53-56. IF 1.588

Opisano przypadek 57-letniej kobiety z wrodzoną naczyniakowatością krwotoczną po trzech epizodach udarów niedokrwiennych mózgu. Badania w kierunku nabytego i wrodzonego zespołu nadkrzepliwości ujawniły obecność przeciwciał przeciwko kardiolipinie w klasie IgM (potwierdzone 3-krotnie z różnych próbek krwi) i przeciwko protrombinie w klasie IgG, jak również heterozygotyczną formę mutacji czynnika V typu Leiden. Ponieważ w badaniach obrazowych nie wykryto malformacji tętniczo-żylnych w mózgowiu, przyjęto, iż za epizody niedokrwienne, udokumentowane w tomografii komputerowej, odpowiada obecność przeciwciał antyfosfolipidowych i ewentualnie nosicielstwo zmutowanego czynnika V typu Leiden. Kwas acetylosalicylowy wywoływał nasilone krwawienia z nosa, więc po trzecim epizodzie niedokrwiennym włączono do terapii tiklopidynę. W ciągu kolejnych 18 miesięcy nie obserwowano epizodu niedokrwienia.

3. Zolcinski M, **Bazan-Socha S**, Zwolinska G, Musiał J. Central nervous system involvement as a major manifestation of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, 2008; 28:281-3. IF 1.327

W artykule tym opisano nietypowy przypadek kobiety od 8 lat chorującej na seropozytywne reumatoidalne zapalenie stawów. W przebiegu schorzenia pojawił się nagły niedowład połowiczy, któremu towarzyszyły nawracające drgawki, gorączka, utrata masy ciała i bóle głowy. Badania laboratoryjne krwi wykazały obecność czynnika reumatoidalnego, podwyższone stężenie białka C-reaktywnego i obecne autoprzeciwciała przeciwko cyklicznym cytrulinowanym peptydom. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego udokumentowało obecność pleocytozy z podwyższonym poziomem białka; hodowle mikrobiologiczne były ujemne. Na podstawie badania rezonansu magnetycznego głowy wysunięto podejrzenie zapalenia mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych. Krótki kurs stosowanych dożylnie dużych dawek glikokortykosteroidów oraz cyklofosamid podany również dożylnie doprowadziły do szybkiej poprawy klinicznej. Wydaje się, iż w opisanym przypadku objawy neurologiczne mają związek z zapaleniem naczyń w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów.

4. Kaszuba M, Tomaszewska R, Pityński K, Grzanka P, **Bazan-Socha S**, Musiał J. Actinomycosis mimicing advanced cancer. *Pol Arch Med Wewn.* 2008, 118: 581-4.

W pracy opisano promienicę, jako rzadką infekcyjną chorobę zapalną wywołaną przez bakterie z rodzaju *Actinomyces*. Do zakażenia promieniczego dochodzi w wyniku uszkodzenia skóry lub błon śluzowych. Przedstawiono przypadek 50-letniej kobiety ze stanami podgorączkowymi, utratą masy ciała oraz dolegliwościami bólowymi brzucha, która w przeszłości stosowała wkładkę domaciczną. U pacjentki w miednicy i jamie brzusznej stwierdzono obecność mas sugerujących zaawansowany proces nowotworowy. Po ocenie histopatologicznej rozpoznano ostatecznie promienicę.

5. **Bazan-Socha S**, Zdziarska J, Kleczyńska W, Iwaniec T, Musiał J. Nabyta hemofilia A u pacjentki z reumatoidalnym zapaleniem stawów. *Reumatologia* 2011; 49: 446-449.

W pracy opisano przypadek chorej z reumatoidalnym zapaleniem stawów i nabytą hemofilią A o bardzo ciężkim przebiegu klinicznym. Omówiono przyczyny, patofizjologię, obraz kliniczny, diagnostykę różnicową oraz leczenie nabytych hemofilii. Celem pracy było zwrócenie uwagi na występowanie tego schorzenia u pacjentów z chorobami reumatologicznymi. Nagłe wystąpienie objawów skazy krwotocznej, a szczególnie nasilonych krwawień podskórnych, powinno budzić podejrzenie nabytej hemofilii. Jedynie szybka diagnostyka i właściwe leczenie takich przypadków może uratować życie choremu.

6. Terlecki M, Wojciechowska W, Rajzer M, Jurczyszyn A, **Bazan-Socha S**, Bryniarski L, Czarnecka D. Transient cortical blindness after coronary artery angiography. *Postep Kardiol Inter* 2013, 9: 105–108. IF 0.066

Opisano przypadek 32-letniego mężczyzny z podejrzeniem zespołu Brugadów, z zaburzeniami rytmu serca o typie licznych dodatkowych pobudzeń komorowych o morfologii bloku lewej odnogi pęczka Hisa, jak również z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory serca. U tego pacjenta po koronarografii wykluczającej istotne zmiany miażdżycowe w tętnicach wieńcowych, zaobserwowano przejściowe zaburzenia widzenia, które odniesiono do neurotoksycznego działania kontrastu. W wykonanej wówczas tomografii komputerowej mózgowia nie było patologii, a w badaniu okulistycznym i neurologicznym nie stwierdzono przyczyn zgłaszanych dolegliwości. Korowe zaburzenia widzenia ustąpiły samoistnie w ciągu kilkunastu godzin. W pracy omówiono diagnostykę różnicową obserwowanej patologii oraz przedstawiono analizę przypadku w kontekście danych literaturowych.

7. Żuk J, **Bazan-Socha S**, Zarychta J, Leclercq A, Lecuit M, Le Flèche-Matéos A, Orłowska-Heitzman J, Musiał J. Disseminated nocardiosis mimicking exacerbation of pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis vasculitis and diffuse lung diseases* 2013; 30: 65-69. IF 1.744

W pracy opisano niezwyklej przypadek uogólnionej nokardiozy u pacjenta z rozpoznaniem sarkoidozy, leczonego dużymi dawkami glikokortykosteroidów. Nokardioza jest rzadkim, mieszanym: ropnym i ziarniniakowym zakażeniem bakteryjnym, które może zajmować różne narządy, ale najczęściej płuca. Objawy kliniczne są zwykle niecharakterystyczne; mogą naśladować zakażenia grzybicze, pasożytnicze, mykobakteryjne, lub chorobę nowotworową. Prezentacja kliniczna może być podobna do innych chorób ziarniniakowych, wśród nich sarkoidozy. Objawy nokardiozy w opisanym przypadku początkowo naśladowały zaostrzenie sarkoidozy płucnej. Przebieg choroby był bardzo ciężki, ale zastosowane antybiotyki były skuteczne i pacjent ostatecznie wyzdrowiał.

8. Kosalka J, **Bazan-Socha S**, Zugaj A, Ignacak M, Zuk J, Sokołowska B, Musiał J. Granulomatosis with polyangiitis (Wegener's granulomatosis) with hard palate and bronchial perforations treated with rituximab - a case report. *Pneumonol Alergol Pol.* 2014; 82: 454-7. doi: 10.5603/PiAP.2014.0059.

W pracy opisano niezwyklej przypadek 57-letniej kobiety chorej na ziarniniakowość z zapaleniem naczyń (ang. granulomatosis with polyangiitis [GPA]), u której po siedmiu miesiącach leczenia immunosupresyjnego cyklofosfamidem zaobserwowano progresję zmian płucnych oraz perforację podniebienia twardego i liczne perforacje w zakresie dużych oskrzeli. W terapii zastosowano wówczas rytuksymab, który wywołał deplecję limfocytów B we krwi obwodowej oraz całkowity zanik przeciwciał skierowanych przeciwko proteinazie 3. Po tym leczeniu zaobserwowano także, iż otwory perforacyjne w podniebieniu zmniejszyły się, a perforacje oskrzeli zostały pokryte szczelnie włóknistą tkanką bliznowatą. Jednak w czwartym miesiącu po podaniu rytuksymabu, duże blizny oskrzeli spowodowały niedrożność

prawego oskrzela głównego oraz niedodmę górnego i środkowego płata płuca prawego. Ze względu na nasilającą się duszność podjęto próbę poszerzenia tych oskrzeli metodą bronchoskopową. Niestety, podjęta interwencja była powikłana obustronną odmą, a w siódmym dniu po zabiegu wystąpił śmiertelny krwotok płucny. W dostępnej literaturze jest to prawdopodobnie pierwszy opis przypadku ziarniniakowatości z zapaleniem naczyń, w którym po pełnym leczeniu immunosupresyjnym cyklofosfamidem wystąpiło powikłanie o typie perforacji podniebienia i oskrzeli z następową skutecznością terapii rytuksymabem.

Praca pogładowa w czasopiśmie

Szczeklik A, Nizankowska E, Sanak M, Mastalerz L, **Bazan-Socha S**. Leukotrienes and antileukotriene drugs in bronchial asthma with special reference to aspirin intolerance. Eur. Respir. Rev. 2000; 10: 280-282.

W pracy omówiono zagadnienia związane z leukotrienami i lekami antyleukotrienowymi w astmie ze szczególnym uwzględnieniem nietolerancji aspiryny w tej chorobie. Leukotrieny cysteinyłowe, to lipidowe mediatory zapalne, które należą do metabolitów kwasu arachidonowego. Udowodniono ich niekorzystną rolę w patofizjologii astmy. Astma aspirynowa jest związana z nadprodukcją tych leukotrienów. W naszej Katedrze w latach 90-tych opisano polimorfizm genetyczny, który polega na podmianie nukleotydu adeniny na cytozynę w pozycji -444 w syntazie leukotrienu C₄. Badania populacyjne ujawniły związek między wariantem C i astmą aspirynową. Badania eksperymentalne i kliniczne wskazują, że ten wariant wiąże się ze zwiększoną ekspresją genetyczną tego enzymu. W pracy omówiono także działanie i zastosowanie leków antyleukotrienowych w praktyce klinicznej astmy.

Listy do redakcji czasopism

1. Jurczyszyn A, Engel A, **Bazan-Socha S**, Czepiel J, Biesiada G, Skotnicki A. Bone marrow suppression with plasma cell leukemia-like reaction complicated by macrophage activation syndrome after metamizole overuse. Pol Arch Med Wewn. 2013; 123: 257-258. IF 2.052

W artykule przedstawiono przypadek 19-letniego mężczyzny z supresją szpiku kostnego i wstępnym rozpoznaniem białaczki z komórek plazmatycznych, do którego doszło po zastosowaniu dużych dawek metamizolu. Ze względu na silny ból nieleczonych zębów chory stosował od 0,5 do 2 g/dobę metamizolu przez 3 tygodnie. Po tym czasie zauważył silny ból gardła, kaszel, gorączkę i bóle mięśniowe. Kontynuował metamizol, ale tym razem w połączeniu z ibuprofenem (400-600 mg/dobę). Tydzień później objawy nasiliły się, a przeprowadzone testy laboratoryjne wykazały leukopenię z limfopenią, ale prawidłowym poziomem hemoglobiny i liczby płytek krwi. W trakcie dalszej obserwacji obserwowano anemizację i trombocytopenię, której towarzyszyły cechy uszkodzenia wątroby oraz przedłużone czasy krzepnięcia. Aspiracja szpiku kostnego ujawniła cechy aplazji szpiku z obecnością licznych komórek plazmatycznych, stanowiących 30% komórek szpiku. Pacjent został przeniesiony do Kliniki Hematologii z podejrzeniem białaczki z komórek plazmatycznych. Podejrzenie zostało odrzucone, ale po leczeniu antybiotykami powtórzono biopsję szpiku, ujawniając regenerację szpiku, jednak z cechami aktywacji makrofagów i hemfagocytozy. Pacjent był leczony glikokortykosteroidami systemowo z dobrym efektem i ostatecznie wyzdrowiał. Przypadek ten został przedstawiony, aby uwrażliwić czytelników na potencjalne szkodliwe skutki uboczne metamizolu, powszechnie stosowanego i dostępnego w Polsce bez recepty.

2. **Bazan-Socha S**, Zolcinski M, Szostek M, Jurczyszyn A, Rucinska M, Demczuk S, Musial J. A fatal case of acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis (macrophage activation syndrome) in the initial course of dermatomyositis with anti-Jo-1 antibody. Int J Rheum Dis. 2013, doi: 10.1111/1756-185X.12162. IF 1.771

W pracy zaprezentowano śmiertelny przypadek zespołu aktywacji makrofagów, który był wtórny do zapalenia skórno-mięśniowego z obecnością autoprzeciwciała Jo-1. Istotny był fakt, że powikłanie to wystąpiło w pierwszych miesiącach trwania schorzenia autoimmunologicznego. Zespół aktywacji makrofagów jest rzadkim schorzeniem stanowiącym zagrożenie życia. Jest to niekontrolowana reakcja zapalna, która przebiega jako powikłanie infekcji ogólnoustrojowych, nowotworów złośliwych (zwłaszcza chłoniaków) lub układowych chorób tkanki łącznej. Nadmiar cytokin wytwarzanych przez aktywowane limfocyty T i makrofagi powoduje postępującą dysfunkcję wielu narządów wraz z fagocytozą komórek krwiotwórczych szpiku kostnego przez aktywowane makrofagi. Zespół ten należy podejrzewać w przypadkach utrzymujących się stanów gorączkowych, które przebiegają z pancytopenią we krwi obwodowej. Może im towarzyszyć powiększenie wątroby i śledziona, oraz rumieniowo-obrzękowe zmiany skórne. Należy pamiętać, że to rzadkie powikłanie hematologiczne może rozwinąć się w przebiegu schorzeń autoimmunologicznych nawet równoległe z pierwszymi klinicznymi objawami choroby układowej. Wczesna diagnoza i odpowiednie leczenie mają kluczowe znaczenie dla rokowania chorego.

Publikacja w czasopiśmie z udziałem autora w badaniu wielośrodkowych

Jahnz-Różyk K, Kucharczyk A, Warchoń M, Radziwiłska-Muc A, Władysiuk M, Plisko R. Koszty astmy w Polsce w 2012 roku. Pol Merkur Lekarski, 2015; XXXIX (230); 91–95.

Chciałabym także wspomnieć o moim udziale w badaniach naukowych związanych z leczeniem i oceną kliniczną chorych na ciężką astmę alergiczną leczonych omalizumabem w ramach programu terapeutycznego finansowanego w Polsce przez Narodowy Fundusz Zdrowia. Jest to program koordynowany przez specjalnie do tego celu powołany zespół osób, który analizuje zebrane dane na temat pacjentów leczonych tym preparatem we wszystkich placówkach medycznych włączonych do programu na terenie Polski. Efektem tej współpracy jest wymieniona powyżej praca, w której poddane ocenie zostały efekty terapii anty-IgE w aspekcie tak klinicznym jak i ekonomicznym.

Inne osiągnięcia

Na koniec chciałabym nadmienić, iż od wielu lat pracuję aktywnie w **Towarzystwie Internistów Polskich** - Zarządzie Oddziału Krakowskiego, początkowo jako sekretarz, a od marca 2016 pełnię funkcję **przewodniczącej tego Oddziału**.

Jestem również **sekretarzem Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Zwalczenia Chorób Alergicznych**.

04.05.2016 *Henrieta Bazan-Socha*