AUTOREFERAT

Dr n. med. Anna Wardowska

Zakład Embriologii

Katedra Anatomii

Wydział Lekarski

Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2020

1. Imię i nazwisko

Anna Wardowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

05.11.2009	Doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, specjalność immunologia, Wydział Lekarski z Odziałem Stomatologicznym, Gdański Uniwersytet Medyczny, tytuł rozprawy doktorskiej: Immunomodulacyjne właściwości nowych pochodnych muramylodipeptydu (MDP) i tuftsyny
2005 – 2009	Dzienne Studia Doktoranckie, Akademia Medyczna w Gdańsku (ukończone 3 lata)
2000 – 2005	Magister biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku, Kierunek - biotechnologia

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

2018 – obecnie	Adiunkt, Zakład Embriologii w Katedrze Anatomii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny
2010 - 2018	Adiunkt, Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny
2009 - 2010	Asystent, Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny
2005 -2009	Doktorant, Dzienne Studia Doktoranckie Akademii Medycznej w Gdańsku, Zakład Histologii, Katedra Histologii i Immunologii

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

Cykl habilitacyjny

		IF	MNiSW
1.	**Wardowska A.,** Komorniczak M., Bułło-Piontecka B., Dębska-Ślizień M.A., Pikuła M. Transcriptomic and Epigenetic Alterations in Dendritic Cells Correspond With Chronic Kidney Disease in Lupus Nephritis. Front Immunol. 2019 Aug 27;10:2026. doi: 10.3389/fimmu.2019.02026. eCollection 2019. LICZBA CYTOWAŃ: 7	5,085	140
2.	**Wardowska A.,** Komorniczak M., Skoniecka A., Bułło-Piontecka B., Lisowska K.A., Dębska-Ślizień M.A., Pikuła M. Alterations in peripheral blood B cells in systemic lupus erythematosus patients. Int. Immunopharm. 2020 June, 83, 106451; doi:10.1016/j.intimp.2020.106451	3,943	70
3.	**Wardowska A.,** Smoleńska Ż., Lisowska K.A., Zdrojewski Z., Pikuła M. Dendritic cells' characteristics in patients with treated systemic lupus erythematosus. Acta Biochim Pol. 2020 Jul 30. doi: 10.18388/abp.2020_5416.	1,420	40
4.	**Wardowska A.** The epigenetic face of lupus: Focus on antigen-presenting cells. Int. Immunopharm. 2020 Feb 8;81:106262; doi:10.1016/j.intimp.2020.106262	3,943	70
	Ogółem	**14,391**	**320**

a. Tytuł osiągnięcia naukowego

Molekularne i epigenetyczne podłoże tocznia rumieniowatego trzewnego – wybrane aspekty biologii komórek dendrytycznych i limfocytów B

Osiągnięcie naukowe stanowi zbiór czterech powiązanych tematycznie publikacji, zawierający 3. oryginalne prace i 1. pracę przeglądowej opublikowane w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR), o łącznej punktacji:

IF = **14,391**

MNiSW = **320**

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

1. **Wardowska A.,** Komorniczak M., Bułło-Piontecka B., Dębska-Ślizień M.A., Pikuła M. *Transcriptomic and Epigenetic Alterations in Dendritic Cells Correspond With Chronic Kidney Disease in Lupus Nephritis.* Front Immunol. 2019 Aug 27;10:2026. doi: 10.3389/fimmu.2019.02026. eCollection 2019.

Punktacja IF	5,085
Punktacja MNiSW	140

AW: autor korespondencyjny, główny pomysłodawca projektu, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzenie doświadczeń, analiza i interpretacja wyników, przeprowadzenie analizy statystycznej wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do publikacji, pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

2. **Wardowska A.,** Komorniczak M., Skoniecka A., Bułło-Piontecka B., Lisowska K.A., Dębska-Ślizień M.A., Pikuła M. *Alterations in peripheral blood B cells in systemic lupus erythematosus patients.* Int. Immunopharm. 2020 June, 83, 106451; doi:10.1016/j.intimp.2020.106451

Punktacja IF	3,943
Punktacja MNiSW	70

AW: autor korespondencyjny, główny pomysłodawca projektu, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzenie doświadczeń, analiza i interpretacja wyników, przeprowadzenie analizy statystycznej wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do publikacji, pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

3. **Wardowska A.,** Smoleńska Ż., Lisowska K.A., Zdrojewski Z., Pikuła M. *Dendritic cells' characteristics in patients with treated systemic lupus erythematosus.* Acta Biochim Pol. 2020 Jul 30. doi: 10.18388/abp.2020_5416.

Punktacja IF	1,420
Punktacja MNiSW	40

AW: autor korespondencyjny, główny pomysłodawca projektu, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzenie doświadczeń , analiza i interpretacja wyników, przeprowadzenie analizy statystycznej wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do publikacji, pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

4. **Wardowska A.** *The epigenetic face of lupus: Focus on antigen-presenting cells.* Int. Immunopharm. 2020 Feb 8;81:106262; 10.1016/j.intimp.2020.106262

Punktacja IF	3,943
Punktacja MNiSW	70

AW: autor korespondencyjny, główny pomysłodawca projektu; zebranie, analiza i interpretacja danych literaturowych, napisanie i przygotowanie manuskryptu do publikacji.

Stosowne oświadczenia habilitantki i współautorów publikacji oraz określenie indywidualnego wkładu pracy każdego z nich znajdują się w Załączniku.

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

WPROWADZENIE

Choroby autoimmunologiczne stanowią duży problem współczesnego świata, nie tylko ze względu na częstotliwość zachorowań, trudności diagnostyczne i terapeutyczne, ale także z powodu nie do końca poznanych patomechanizmów (1,2). Jedną z archetypowych chorób o podłożu autoimmunologicznym jest toczeń rumieniowaty trzewny (ang. systemic lupus erythematosus - SLE). Choroba ta manifestuje się utratą tolerancji na auto-antygeny, produkcją przeciwciał skierowanych przeciwko własnym antygenom oraz powstawaniem kompleksów immunologicznych (ang. Immune complex, IC), których nagromadzenie w tkankach prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego i niewydolności narządowej (3,4). Zróżnicowane klinicznie manifestacje choroby wynikają z odkładania IC w naczyniach i tkankach, przez co zmiany chorobowe mogą dotyczyć wszystkich narządów: skóry i błon śluzowych, układu stawowo-mięśniowego, układu sercowo-naczyniowego, układu oddechowego, nerek, przewodu pokarmowego oraz ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego (5–7). Jednocześnie utrudnia to szybką i efektywną diagnozę oraz terapię pacjentów (8). Rozpoznania choroby dokonuje się na podstawie jednej z wielu skal oceny choroby, przy czym podstawową skalę stanowią kryteria klasyfikacyjne ACR – Amerykańskiego Kolegium Reumatologicznego (ang. American College of Rheumatology, ACR) z 1997 roku. Już sama mnogość skal służących do diagnozowania i monitorowania przebiegu choroby stanowi o złożoności tego patologicznego procesu (9–12). Najczęściej występującą formą tocznia jest odmiana nerkowa, będąca wynikiem odkładania IC w kłębuszkach nerkowych, co prowadzi ostatecznie do niewydolności nerek. Ok. 60% pacjentów z diagnozą SLE rozwinie w ciągu swojego życia kłębuszkowe zapalenie nerek z towarzyszącym białkomoczem, nadciśnieniem i obrzękami. Zajęcie nerek i ośrodkowego układu nerwowego uznaje się za zły czynnik rokowniczy (13,14). Mimo rozwiniętych terapii immunosupresyjnych, leczenie tocznia nerkowego wciąż jest mało skutecznie (15,16). Stąd ciągła potrzeba dogłębnego poznania patomechanizmów choroby, które mogłyby doprowadzić do poznania nowych biomarkerów skutecznych zarówno w diagnostyce, jak i monitorowaniu pacjentów.

Na złożony obraz kliniczny tocznia nakłada się również nie do końca poznany mechanizm prowadzący do utraty tolerancji immunologicznej i rozprzestrzeniania się procesu autoagresji. Powszechnie uznaje się, że rozregulowanie systemu aktywacji limfocytów B, prowadzące do ich

nadmiernej aktywacji i nadprodukcji autoreaktywnych przeciwciał, leży u podstaw rozwoju tocznia (17). Mimo szeregu badań wskazujących na zaburzenia w dystrybucji subpopulacji limfocytów B, ich zmian fenotypowych czy ich wadliwej autoaktywacji w przebiegu tocznia, wciąż brak jednoznacznych wyników i spójności w ich interpretacji. Wiadomo również, że nie tylko limfocyty B są zaangażowane w podtrzymaniu autoagresywnej pętli sprzężenia zwrotnego. Udział w tym patologicznym procesie biorą praktycznie wszystkie elementy układu immunologicznego, z limfocytami T na czele (18,19). To ta populacja komórek odporności nabytej została najszerzej przebadana w kontekście tocznia rumieniowatego trzewnego (20,21). Pamiętać trzeba także o komórkach odporności wrodzonej warunkującej efektywną aktywację limfocytów T oraz B. Do elementów tworzących pomost pomiędzy odpornością wrodzoną i nabytą należą komórki prezentujące antygen (ang. antigen presenting cells, APC) – komórki dendrytyczne (ang. dendritic cells – DC) (22). To im w ostatnich latach przypisuje się coraz większe znaczenie w chorobach autoimmunologicznych, w tym również w toczniu (23). Uważa się, że komórki dendrytyczne odpowiadają za zaburzenie rozpoznawania własnych i obcych cząsteczek przez układ immunologiczny.

Komórki dendrytyczne stanowią heterogenną subpopulację wyspecjalizowaną w prezentacji antygenów immunokompetentnym komórkom odporności nabytej (24). Podstawowy podział pozwala na wyodrębnienie klasycznych, inaczej mieloidalnych, komórek dendrytycznych (mDC) i plazmacytoidalnych DC (pDC). Subpopulacje te różnią się między sobą nie tylko pod względem morfologii, fenotypu, ale również i funkcji. Przyjmuje się, że mDC odpowiadają głównie za prezentację antygenów, podczas gdy komórki pDC za produkcje i sekrecję interferonów typu I. Mieloidalne (zwane klasycznymi) DC definiuje się jako komórki liniowo negatywne, czyli nie posiadające na swojej powierzchni następujących cząsteczek: CD3, CD19, CD20, CD56, ale wykazujących wysoką ekspresję HLA-DR, CD11c i CD1c (BDCA-1). Natomiast pDC identyfikuje się na podstawie obecności CD303 i/lub CD304 (odpowiednio BDCA-2 i BDCA-4), HLA-DR oraz CD123. Podobnie jak mDC, pDC nie wykazują ekspresji cząsteczek liniowo-specyficznych, ale w przeciwieństwie do mDC nie mają na swojej powierzchni markera CD11c (Tabela 1). Komórki dendrytyczne lokalizują się w narządach limfatycznych oraz w większości nielimfoidalnych tkanek i narządów, co sprawia, że należą one do pierwszej linii obrony organizmu (25). Jednocześnie to ich także dotyczą zaburzenia prowadzące w działaniu układu odpornościowego prowadzące do reakcji autoimmunologicznych. Nieustanna aktywacja DC indukowana obecnością autoantygenów prowadzi do pobudzenia auto-reaktywnych limfocytów T i B, co skutkuje wzmożoną produkcją autoprzeciwciał i uszkodzeniem narządów u pacjentów z toczniem (26). Rozregulowanie funkcji komórek dendrytycznych przyczynia się nie tylko do wywołania stanu autoagresji, ale również sprzyja jego propagacji. Wciąż jednak nie znamy dokładnych mechanizmów prowadzących do zmian w pobudzeniu i aktywności DC w przebiegu tocznia. Dostępne do chwili obecnej dane często wzbudzają kontrowersje, a także bywają przeciwstawne. Podłoże molekularne obserwowanych zmian fenotypowych i czynnościowych komórek dendrytycznych z pewnością wymaga dalszych badań. Na złożoność mechanizmów molekularnych wymagających szczegółowych analiz, składają się nie tylko badania sekwencji DNA czy aktywności transkrypcyjnej komórki, ale również procesy związane z epigenetyką.

Tabela 1. Charakterystyka fenotypowa omawianych komórek dendrytycznych.		
Subpopulacja komórek dendrytycznych	**skrót**	**fenotyp**
Mieloidalne komórki dendrytyczne	mDC	*CD3-CD19-CD20-CD56-* HLA-DR+CD11c+CD1c+
Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne	pDC	*CD3-CD19-CD20-CD56-* HLA-DR+CD123+CD303+/CD304+

O mechanizmach epigenetycznych początkowo mówiono głównie w kontekście regulacji procesów fizjologicznych takich jak wzrost i różnicowanie komórki, czy stabilność genomu. Ostatnie lata przyniosły nowe spojrzenie na epigenetykę dzięki odkryciom wskazującym, że modyfikacje wzorca epigenetycznego mogą prowadzić do zaburzenia homeostazy organizmu (27). Wykazano, że szereg czynników zewnętrznych, takich jak dieta, czynniki chemiczne czy infekcje, mogą prowadzić do modyfikacji skutkujących rozwojem procesów patologicznych, w tym chorób autoimmunologicznych (28). Modyfikacje epigenetyczne nie zmieniają sekwencji DNA, a jedynie jego dostępność dla czynników transkrypcyjnych. Do najlepiej poznanych mechanizmów epigenetycznych należy tzw. triada epigenetyczna, obejmująca metylację DNA (29), modyfikacje potranslacyjne histonów zmieniające strukturę chromatyny (30) oraz niekodujące cząsteczki RNA (miRNA, lncRNA) (31). Interakcja pomiędzy czynnikami genetycznymi i epigenetycznymi nieustannie podlega badaniom i analizom w kontekście autoagresji. Odkrycia w tym zakresie mogą znacząco przyczynić się do zrozumienia patomechanizmów indukujących np. tocznia, jak również ułatwić identyfikację nowych biomarkerów chorobowych. Z racji odwracalnego charakteru zmian epigenetycznych, są one niezwykle atrakcyjne jako potencjalne punkty uchwytu nowych terapii.

Toczeń rumieniowaty trzewny, jako prototypowa choroba autoimmunologiczna, został już włączony do badań z nurtu epigenetyki (32). Niestety, jedynie limfocyty T zostały szeroko przebadane pod kątem modyfikacji ich epigenomu (33). W przypadku pozostałych, istotnych w tym schorzeniu, komórek immunokompetentnych, danych epigenetycznych wciąż jest stosunkowo mało. Dlatego też podjęłam działania mające na celu bliższe poznanie charakterystyki molekularnej, w tym wzorca epigenetycznego, komórek dendrytycznych oraz limfocytów B w przebiegu tocznia.

CEL NAUKOWY PREZENTOWANEGO OSIĄGNIĘCIA

Celem przedstawionego osiągnięcia naukowego było poznanie i scharakteryzowanie zmian fenotypowych, molekularnych i epigenetycznych prowadzących do zmienionej aktywności komórek dendrytycznych i limfocytów B w toczniu rumieniowatym trzewnym oraz próba ocena wpływu tych zmian na progresję choroby.

OMÓWIENIE PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Wszystkie prace wchodzące w skład prezentowanego osiągnięcia naukowego powstały w wyniku realizacji projektu badawczego NCN nr 2012/05/D/NZ5/01224, którego byłam kierownikiem.

Publikacja 1

Wardowska A., Komorniczak M., Bułło-Piontecka B., Dębska-Ślizień M.A., Pikuła M. ***Transcriptomic and Epigenetic Alterations in Dendritic Cells Correspond With Chronic Kidney Disease in Lupus Nephritis.*** Front Immunol. 2019 Aug 27;10:2026. doi: 10.3389/fimmu.2019.02026. eCollection 2019

Pierwsza z omawianych prac oryginalnych podejmuje temat roli krążących komórek dendrytycznych w nerkowej postaci SLE (ang. lupus nephritis - LN). Komórki dendrytyczne stanowią istotne ogniwo w łańcuchu zdarzeń indukujących zmiany w narządach objętych procesem autoimmunologicznym. Większość dostępnych danych dotyczących funkcji komórek dendrytycznych w toczniu nerkowym opisuje zmiany w lokalnych subpopulacjach DC naciekających nerki (34). Tego typu badania mają swoje ograniczenia wynikające ze źródła materiału. W przypadku badań na materiale ludzkim pochodzącym z biopsji nerki, ilość pobranej tkanki istotnie ogranicza zakres możliwych do przeprowadzenia analiz. Alternatywę stanowią badania na zwierzętach, których wyniki nie zawsze można bezpośrednio przełożyć na obserwacje uzyskane w populacji ludzkiej. Unikatowość pierwszej pracy z cyklu polega na wykorzystaniu komórek krwi obwodowej w celu znalezienia zależności pomiędzy specyfiką krążących komórek dendrytycznych a procesem chorobowym. Przeprowadziłam analizę fenotypową komórek mieloidalnych – mDC i plazmacytoidalnych – pDC. izolowanych metodą immunomagnetyczną. Pozwoliło to na wykonanie zaawansowanych badań fenotypowych (cytometria przepływowa, molekularnych (ekspresja genów) i epigenetycznych (metylacja DNA, modyfikacje potranslacyjne histonu H3).

Do badania zakwalifikowano 51. pacjentów ze zdiagnozowanym SLE i jednoczesną manifestacją choroby autoimmunologicznej w obrębie nerek. Wszyscy zrekrutowani pacjenci, będący pod stałą kontrolą Katedry i Kliniki Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu. Rekrutację pacjentów i ochotników z grupy kontrolnej prowadzono w latach 2015-2017.

Pacjenci zakwalifikowani do projektu zostali podzieleni na trzy grupy w zależności od nasilenia procesu zapalnego w nerkach w przebiegu przewlekłej choroby nerek (ang. chronic kidney disease, CKD). Identyfikacja stadium CKD odbywała się na podstawie wartości oszacowanego wskaźnika filtracji kłębuszkowej (ang. estimated glomerular filtration rate, eGFR), przez lekarza prowadzącego. Grupę pierwszą określaną jako „łagodny LN" stanowili pacjenci w stadium G1-G2. Stadium G3a i G3b zaklasyfikowano jako nefropatię o średnim nasileniu, czyli „umiarkowany LN". Natomiast pacjenci z CDK w stadium G4 i G5, zostali przypisani do grupy „ciężki LN", ze względu na objawy ciężkiej niewydolności nerek. Grupę kontrolną stanowili ochotnicy w liczbie 19, bez zdiagnozowanych chorób autoimmunologicznych.

W opisywanej pracy podjęłam próbę analizy ilościowej komórek dendrytycznych mDC i pDC u chorych z LN. Analiza ta opierała się o ekspresję markerów powierzchniowych identyfikujących wybrane subpopulacje opisane we wstępnie. Uwzględniłam też poziom cząsteczek kostymulujących (CD80, CD83) na mDC powiązany z aktywacją tej subpopulacji. Z uzyskanych metodą izolacji magnetycznej komórek izolowałam RNA, DNA oraz frakcję białek histonowych. Całościowe RNA wykorzystałam do analizy ekspresji genów, metodą real-time PCR, związanych z fenotypem, aktywnością i sygnalizacją komórek dendrytycznych (m.in. PD-L1, DNMT1, ID2, IRF1, IRF5, IRF8, MBD2, E2-2, TGFB1, TNF, TNFAIP3, TP53BP1, APRIL, BAFF). Wykonałam również ocenę globalnego poziomu metylacji DNA oraz trimetylacji lizyny w pozycjach 4 i 27 histonu H3 (H3K4me3, H3K27me3).

Jako jedna z pierwszych opisałam zmiany fenotypowe i molekularne w krążących mDC i pDC pochodzących od pacjentów z nefropatią toczniową. Wykazałam znaczące odchylenia w ilościach komórek pDC korelujące z nasileniem niewydolności nerek. Pacjenci z CKD w stadium 4 i 5 charakteryzowali się istotnym statystycznie spadkiem komórek pDC + (CD123+CD303) w stosunku do osób z grupy kontrolnej, co może wynikać z zasiedlenia przez tą subpopulację nerek objętych zmianami autoimmunologicznymi.

Mimo, że liczba komórek mDC u większości chorych nie odbiegała znacząco od wartości z grupy kontrolnej, subpopulacja ta charakteryzowała się zwiększoną ekspresją cząsteczek kostymulujących CD80 i CD83. Oddzielna analiza ekspresji tych markerów wskazywała istotne statystycznie różnice między chorymi a zdrowymi. Najwyższą ekspresję CD80 lub CD83, w odniesieniu do kontroli, wykazywały mDC pochodzące od pacjentów z łagodnym LN. Natomiast analiza podwójnie pozytywnych mDC nie osiągnęła znamienności statystycznej. Kierując się kryteriami niewydolności nerkowej wykazałam, że przewlekły stan zapalny towarzyszący nefropatii toczniowej wpływa na aktywność mDC, co manifestowało się spadkiem ekspresji CD80 i CD83 odpowiadającym stopniowi nasilenia nefropatii.

Badania profilu transkryptomicznego izolowanych magnetycznie subpopulacji komórek dendrytycznych obejmowały analizę transkryptów związanych z regulacją ekspresji genów, statusem epigenetycznym komórki czy aktywacją i regulacją odpowiedzi immunologicznej.

Ocena ekspresji genów zaangażowanych w regulację transkrypcji wykazała, że geny z rodziny IRF (ang. Interferon Regulatory Factor) 1, 5 i 8 są odmiennie transkrybowane w zależności od stadium CKD. Ekspresja IRF1 rosła w mDC we wszystkich badanych grupach chorych w porównaniu do osób zdrowych. Przy czym zaobserwowałam znaczącą różnicę w ilości transkryptu dla tego genu nawet pomiędzy poszczególnymi grupami pacjentów. Pacjenci z ciężkim LN charakteryzowali się istotnym statystycznie wzrostem mRNA dla IRF1, nie tylko w stosunku do kontroli ale również w porównaniu z grupą chorych z łagodnym LN. W przypadku pDC, ekspresja genu IRF1 również rosła u pacjentów z największym nasileniem objawów nerkowych. Podobną tendencję zaobserwowałam w obu subpopulacjach komórek dendrytycznych odnośnie transkrypcji genu IRF5, która spadała we wszystkich badanych grupach, łącznie z kontrolną. Tutaj ponownie pacjenci z ciężkim LN charakteryzowali się największym spadkiem ekspresji IRF5, szczególnie w pDC. Natomiast IRF8 jako jedyny wykazał istotną różnicę, specyficzną dla subpopulacji DC, pomiędzy każdą z grup chorych a kontrolą. Ekspresja tego czynnika transkrypcyjnego wykazywała spadkową tendencję w komórkach mDC, natomiast w pDC zaobserwowano znaczny wzrost mRNA dla tego białka. Najbardziej znaczący, bo 7,5 - krotny wzrost w stosunku do kontroli zaobserwowałam u pacjentów z łagodnym LN.

Pozostałe badane geny z grupy czynników regulujących transkrypcję, ID2 i E2-2, nie podlegały znaczącym zmianom w ekspresji w porównaniu do wartości kontrolnych Również ekspresja genów związanych ze statusem epigenetycznym komórki, DNMT1 i MBD2, nie podlegała znaczącym zmianom w grupie chorych. Eskpresja genów kodujących DNMT1, DNA metylotransferaza 1 odpowiedzialna za utrzymanie wzorca zmetylowania DNA (35), oraz MBD2, demetylaza DNA (36), była na obniżonym poziomie w komórkach mDC u pacjentów z SLE W tych komórkach ekspresja obu genów była znacząco zróżnicowana pomiędzy grupami pacjentów. Umiarkowanej nefropatii toczniowej towarzyszyło obniżenie ekspresji DNMT1 przy jednoczesnej nieznacznie podwyższonej transkrypcji MBD2. Odwrotny obraz zanotowałam dla pacjentów z ciężkim LN. Z kolei pacjenci z łagodną postacią tocznia nerkowego wykazywali tendencję do spadku aktywności transkrypcyjnej w rejonie tych dwóch genów. Natomiast w przypadku komórek pDC, ekspresja obu genów uległa obniżeniu niezależnie od badanej grupy Istotnym jest fakt, że ekspresja zarówno DNMT1 jak i MBD2 wydaje się być znacząco powiązana z czynnikami transkrypcyjnymi z rodziny IRF, co potwierdziłam odnotowując istotną statystycznie korelację pomiędzy tymi parametrami.

W opisywanej pracy oryginalnej, badałam również ekspresję genów związanych ze statusem immunologicznym komórek dendrytycznych, mi.in. APRIL, BAFF, TNFAPI3, TP53BP1, TNF, TGFB1. W komórkach mDC u pacjentów z umiarkowanym LN obserwowałam tendencje wzrastające, szczególnie w przypadku mRNA dla genów BAFF, TNFAIP3, TP53BP1. Podczas gdy w komórkach pDC dla genów zaangażowanych w regulację mechanizmów immunologicznych odnotowywałam spadek ekspresji (np. APRIL, TNFAIP3 czy TP53BP1). Ekspresja genów dla cytokin, były podwyższone w mDC i pDC w przypadku TGFB1 a obniżone dla TNF.

Poziom globalnej metylacji w komórkach DC z grupy kontrolnej oscylował w granicach wartości 2 (procentowa zawartość zmetylowanej cytozyny -5-mC w badanym DNA). Wartości uzyskane w grupach badanych wykraczały poza tę wartość, co wskazywało na zwiększony poziomi metylacji DNA w DC w przebiegu tocznia. Hipermetylacja charakteryzowała głównie komórki mDC pochodzące od pacjentów z ciężką postacią LN, gdzie poziom metylowanej cytozyny (5-mC) był istotnie wyższy zarówno w porównaniu do grupy kontrolnej, jak też do pacjentów z łagodnymi objawami nerkowymi. W pozostałych przypadkach, mimo braku znamienności statystycznej, wyraźnie kształtowała się tendencja wzrostowa idąca w parze z nasileniem objawów chorobowych. Odnotowałam również istotne zależności między poziomem 5-mC, inaczej zmetylowania sekwencji DNA, w mDC a czasem trwania choroby (r=0,35) czy poziomem ekspresji IRF1 (r=0,51) oraz IFR5 (r=-0,45).

Poziom dostępności DNA dla czynników transkrypcyjnych i związanej z tym aktywności transkrypcyjnej komórki, można oszacować analizując modyfikacje potranslacyjne histonów. W swoich badaniach podjęłam próbę oceny poziomu metylacji lizyny w histonie H3. Celem była analiza globalnej częstości występowania dwóch zmian w badanych komórkach dendrytycznych: tri-metylacji lizyny 4 histonu H3 – H3K4me3 – będącej markerem aktywacji transkrypcyjnej, oraz trimetylacji lizyny 27 histonu H3 – H3K27me3 – związanej z represją transkrypcji (37). Istotne statystycznie zmiany w ilości obu tych modyfikacji potranslacyjnych histonu H3, odnotowałam jedynie w subpopulacji mDC. Zaobserwowałam spadek trimetylacji w obrębie lizyny 4 w mDC we wszystkich grupach badanych w porównaniu do wartości kontrolnych, przy czym istotność statystyczna pojawiła się jedynie przy porównaniu kontroli i pacjentów z łagodną nefropatią toczniową. Podobną tendencję, choć pozbawioną istotności statystycznej, wykazywały wyniki uzyskane z analizy H3K27me3 w komórkach mDC. Widoczny spadek w stosunku do kontroli obejmował zarówno całą grupę badaną bez podziałów wg CKD, jak również grupy z łagodną i

średnią LN. Uzyskane wyniki pozwoliły też na wykazanie zależności pomiędzy badanymi modyfikacjami histonów w komórkach mDC a ekspresją określonych genów, w tym: IRF1, IRF8, APRIL, TP53BP1 i MBD2 (odpowiednio r=0,47; r=0,42; r=0,56; r=0,56; r=0,44). Zaskakującą obserwacją była pozytywna korelacja między obiema badanymi modyfikacjami H3 o przeciwstawnej aktywności. Współwystępowanie tych dwóch modyfikacji histonowych jest charakterystyczne dla okresu embrionalnego i warunkuje zachowanie plastyczności transkrypcyjnej przez komórki macierzyste (38). W okresie postnatalnym ten mechanizm ma zabezpieczać przed nadmierną deaminacją w rejonach promotorowych genów. Sugeruje się jednocześnie udział zarówno H3K4me3 jak i H3K27me3 w patogenezie chorób autoimmunologicznych.

Podsumowanie publikacji 1

W powyższej pracy przedstawiłam nowe dane dotyczące roli komórek dendrytycznych w indukcji i rozwoju postaci nerkowej SLE. Zaobserwowane w prezentowanych wynikach analiz cytometrycznych zmiany zawartości krążących pDC były wyraźnie powiązane z progresją zaburzeń funkcji nerek. Na tej podstawie wnioskuję, że zmniejszony odsetek pDC we krwi obwodowej mógłby stanowić praktyczną i wygodną metodę zarówno diagnozowania jak i monitorowania przewlekłej choroby nerek (CKD). W opisanych wynikać można również znaleźć potencjalnych nowych biomarkerów indukcji i rozwoju tocznia nerkowego, podkreślając w ten sposób rolę genetyki i epigenetyki w autoimmunologii. Poziom ekspresji IRF1 mógłby być potencjalnie wykorzystywany jako czynnik prognostyczny niewydolności nerek. Z drugiej strony, ponowny wzrost ekspresji tego czynnika w komórkach mDC pacjentów w ostatnich stadiach CDK, mogłaby stanowić korzystną alternatywę dla obecnie stosowanych w niewydolności nerek inwazyjnych metod diagnostycznych, m.in. biopsji. Warto nadmienić również istotne zmiany w markerach epigenetycznych, w tym zmiany potranslacyjne histonu H3, które mogłyby stać się wskaźnikiem rozregulowania układu immunologicznego w toczniu nerkowym, a w konsekwencji – czynnikiem prognostycznym progresji dysfunkcji nerek. Uzyskane w tej pracy wyniki wskazują nowe biomarkery indukcji i progresji zmian w nerkach towarzyszących rozwojowi tocznia nerkowego, chociaż wymaga to jeszcze dalszych badań nad mechanizmem zachodzących zmian.

Publikacja 2

Wardowska A., Komorniczak M., Skoniecka A., Bułło-Piontecka B., Lisowska K.A., Dębska-Ślizień M.A., Pikuła M. ***Alterations in peripheral blood B cells in systemic lupus erythematosus patients.*** Int. Immunopharm. 2020 June, 83, 106451; doi:10.1016/j.intimp.2020.106451

W drugiej z prezentowanych prac oryginalnych skupiłam się na limfocytach B, z uwzględnieniem zmian w tej populacji charakterystycznych dla pacjentów ze skrajną niewydolnością nerek w przebiegu tocznia.

Powszechnie wiadomo, że toczeń układowy nazywany jest chorobą limfocytów B, gdyż jest warunkowany przez dysfunkcję limfocytów B i generowane przez te komórki autoprzeciwciała. Zaburzenia funkcji tzw. punktów kontrolnych w rozwoju limfocytów B prowadzą do zmian w ich aktywności a także proporcji poszczególnych subpopulacji. Mimo dużej

liczby badań nad rolą limfocytów B w SLE, wciąż wyniki są niejednoznaczne, często wręcz sprzeczne. Ponadto, w przypadku nefropatii toczniowej większy nacisk kładzie się na zachowanie limfocytów B w obrębie zajętego narządu, niejako „zaniedbując" zmiany w limfocytach B krążących w krwi obwodowej. Biopsja nerki, służąca analizie patologicznych zmian towarzyszących reakcji z autoagresji, ma swoje uzasadnienie kliniczne przy monitorowaniu dysfunkcji nerek. Z drugiej strony jest potrzeba stałego monitorowania pacjenta, przy zachowaniu jak najmniejszej inwazyjności stosowanych procedur diagnostycznych. Jako że zmiany w dystrybucji subpopulacji limfocytów B dotyczą zarówno komórek naciekających struktury nerek, jak i limfocytów w krwi obwodowej, oba źródła materiału wydają się równie wartościowe. Wychodząc z tego założenia oraz biorąc pod uwagę wiele znaków zapytania pojawiających się w kontekście zmian w populacji limfocytów B u pacjentów z nerkową postacią tocznia, postanowiłam poszukać powiązań pomiędzy krążącymi limfocytami B a progresją niewydolności nerek.

W drugiej publikacji wykorzystano materiał zgromadzony od pacjentów i ochotników z grupy kontrolnej rekrutowanych do projektu opisanego w pierwszej pracy oryginalnej. Do projektu zostali zakwalifikowani pacjenci znajdujący się pod kontrolą Katedry i Kliniki Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Kryteria włączające obejmowały diagnozę postawioną zgodnie z kryteriami ACR, dodatni wynik w testach na obecność przeciwciał przeciwko ANA i dsDNA, oraz niskie poziomy C3 i C4. Zakwalifikowano 51 pacjentów, którzy po poinformowaniu o calach badania, podpisali stosowne zgody (zaakceptowane przez Niezależną Komisję Bioetyczną ds. Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym, nr zgody: NKBBN/188/2012 z dnia 22.05.2012). W grupie kontrolnej znaleźli się zdrowi ochotnicy (n=19) bez chorób autoimmunologicznych w wywiadzie. Aktywność choroby u pacjentów mierzono z wykorzystaniem skali SLEDAI (ang. SLE Disease Activity Index) w momencie pobrania próby do badań. Na podstawie uzyskanej liczby punktów w skali SLEDAI, podzieliłam pacjentów na dwie grupy: osoby z aktywną postacią SLE – SLEDAI > 6 oraz grupa pacjentów w remisji – SLEDAI ≤ 6. Wszyscy pacjenci włączeni do badania mieli objawy nerkowe, dlatego też wyróżniłam w obu grupach pacjentów z CDK w stadium G4 i G5.

Próbki krwi pobrane od pacjentów były przeznaczone do fenotypowej analizy cytometrycznej subpopulacji limfocytów B (krew pełna); izolacji magnetycznej limfocytów B (CD19+), ich izolacji magnetycznej z populacji jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (ang. peripheral blood mononuclear cells, PBMC), co posłużyło jako materiał do analiz molekularnych (qPCR). Oceniony został również poziom cytokin i chemokin w surowicy pacjentów z SLE metodą Luminex® xMAP®.

Otrzymane wyniki wskazują na ogólny spadek liczby limfocytów B w krwi obwodowej , niezależnie od stopnia nasilenia SLE, co obserwowali również inni badacze. Niemniej jednak, nie odnotowałam istotnych zmian w subpopulacjach limfocytów B pamięci (tzw. Switched Memory - CD19+CD27+IgD-; Non-Switched Memory - CD19+CD27+IgD+; Double Negative - CD19+CD27-IgD- i Naive memory - CD19+CD27-IgD+ B cells), szeroko dyskutowanych przez innych naukowców. Natomiast pojawiły się istotne zmiany obejmujące limfocyty B ze zmienioną ekspresją markera aktywacji - CD38. Dotyczyło to ogólnej puli limfocytów B z podwyższoną ekspresją CD38 jak i subpopulacji tzw. przejściowych limfocytów B – (ang. transitional B cells) oznaczanych jako CD19+CD38+IgM++, oraz plasmablastów o fenotypie CD19+CD38++IgM-. Prawdopodobną przyczyną zwiększenia liczby limfocytów B CD38+ są prawdopodobne zmiany w aktywności szpiku kostnego w przebiegu tocznia, co objawia się akumulacją tych komórek w krwi obwodowej zamiast kierowania ich do śledziony. Analizowałam również ekspresję

glikoproteiny błonowej CD21, która wiąże się z dojrzałością limfocytów B, jako że cząsteczka ta wzmacnia sygnalizację z receptorem BCR. Liczba limfocytów B o wysokiej ekspresji CD21, zwanych „dojrzałymi", znacząco spadała u pacjentów z SLE w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto pacjenci w aktywnym stadium choroby wykazywali największy spadek liczby limfocytów B CD21+, przy jednoczesnym wzroście liczby komórek pozbawionych tej cząsteczki - CD19+CD21lo/-. Również proporcje limfocytów B, wyróżnionych na podstawie obecności CD5, rozkładały się odmiennie u zdrowych i u pacjentów z SLE. Komórki CD5+ stanowiły niewielki odsetek limfocytów B we krwi osób zdrowych, niemiej jednak u pacjentów liczba była jeszcze niższa. Limfocytom B CD5+ przypisuje się rolę ochroną w chorobach autoimmunologicznych ze względu na produkcję naturalnych przeciwciał przeciwko konserwowanym ewolucyjnie białkom antygenowym związanym z patogenami.

Dodatkowych informacji dostarczyły badania molekularne, które obejmowały profil ekspresji genów związanych z funkcją limfocytów B.. Istotne dla prawidłowego funkcjonowania limfocytów B są czynniki BAFF i APRIL. Warunkują one przeżycie i różnicowanie subpopulacji limfocytów B. BAFF jest cytokiną produkowaną przez szereg komórek układu immunologicznego, w tym przez same limfocyty B, co może sugerować auto-stymulację tych komórek (39). Czynnik ten jest niezbędny na wczesnych etapach różnicowania limfocytów B, podczas gdy APRIL wymagany jest w późniejszym etapie, przez co preferencyjnie utrzymuje funkcjonowanie długożyjących komórek plazmatycznych (40). Przeprowadzone analizy wykazały, że pacjenci z toczniem charakteryzują się zdecydowanym spadkiem ekspresji BAFF w limfocytach B w porównaniu do grupy kontrolnej. Mimo niskich poziomów ekspresji udało się zaobserwować istotny statystycznie spadek ekspresji genu BAFF u pacjentów w aktywnym stadium choroby w odniesieniu do chorych w okresie remisji. Z kolei ekspresja genu APRIL wykazywała odwrotną, wzrostową tendencję. Najwyraźniej zarysowywała się ona w zestawieniu grupy kontrolnej i pacjentów w remisji. Jednocześnie potwierdziłam korelację tych czynników z wartościami skali SLEDAI, BAFF wykazywał korelację negatywną ze SLEDAI, podczas gdy APRIL – pozytywną.

Analizowałam również ekspresję genów związanych ze zmianami epigenetycznymi – DNMT1 i MBD2. Wykazałam, że ekspresja genu DNMT1 charakteryzowała się pozytywną korelacją ze SLEDAI, przy czym spadek ekspresji tego genu był istotny statystycznie u pacjentów w okresie remisji w porównaniu z grupą w aktywnym stadium choroby. Podobną obserwację poczyniłam dla genu MBD2, którego ekspresja znacząco wzrastała u pacjentów z aktywnym SLE. Zaobserwowałam także zmiany w poziomie transkrypcji genów związanych z regulacją aktywności układu immunologicznego, mi.in IRF5 i TNFAIP3. Wskazałam również istnienie korelacji pomiędzy ekspresją TNFAIP3, IRF5 i MBD2 a liczebnością poszczególnych subpopulacji limfocytów B oraz uznanymi markerami tocznia (w tym składników układu dopełniacza: C3, C4 i białka C reaktywnego).

Oprócz badań cytometrycznych i molekularnych komórek, analizowałam również stężenia wybranych cytokin w surowicach wyizolowanych od pacjentów z SLE. Dzięki zastosowaniu platformy Luminex xMAP mogłam oznaczyć wiele białek w pojedynczej próbie, co pozwoliło na jednoczesną analizę szeregu cytokin wydzielanych przez Th1 i Th2, czyli odpowiedzi typu humoralnego, związanego z produkcją przeciwciał Uzyskane wyniki potwierdziły przesunięcie odpowiedzi immunologicznej w kierunku Th2. Większość pacjentów, szczególnie grupa osób w remisji, charakteryzowała się spadkiem poziomu IFNγ, IL1β czy IL12 (p70) w porównaniu do grupy kontrolnej. Analizowałam także stężenie chemokin w surowicy pacjentów. Odnotowałam widoczne spadki cząsteczek o działaniu chemotaktycznym, takich jak: CXCL11,

CXCL8 czy MCP-1, we wszystkich badanych grupach w odniesieniu do kontroli. Interesujący okazał się wynik otrzymany dla poziomów BAFF i APRIL w surowicy pacjentów. Mianowicie, stężenie APRIL spadało zarówno u pacjentów w remisji, jak i u tych z nasileniem objawów. Z kolei ilość białka BAFF w surowicy nie różniła się istotnie pomiędzy osobami chorymi i z grupy kontrolnej. Zatem wydaje się, że podwyższone poziomy białka APRIL w surowicy mogą być swoistą formą kompensowania niskiego odsetka dojrzałych limfocytów B definiowanych jako CD19+CD21+. Z kolei obniżona ekspresja genu BAFF mogłaby być wynikiem braku zapotrzebowania na ten czynnik związanego z podwyższonymi poziomami limfocytów B CD21low/-.

Ważną grupę w prezentowanej analizie stanowili pacjenci z niewydolnością nerek (ang. renal insufficiency, RI) w przebiegu SLE. 42% pacjentów w aktywnym stadium choroby i 20% chorych w remisji, miało zdiagnozowaną schyłkową niewydolność nerek na podstawie wyniku eGFR. Wykazałam specyficzny wzór zmian związanych z występowaniem i aktywnością limfocytów B w tej grupie chorych. Znacząco niższy odsetek limfocytów B CD38+, w tym plasmablastów, stanowił najbardziej charakterystyczną zmianę u pacjentów z RI. Ponadto, limfocyty B CD19+ pacjentów z RI wykazywały zwiększoną ekspresję genów PD-L1, DNMT1, MBD2 i APRIL oraz istotnie podwyższone stężenie IL10 w surowicy. Wyniki te są nowymi obserwacjami w kontekście zmian transkryptomicznych w toczniu nerkowym, jako, że większość dostępnych badań skupia się na liniach komórkowych, modelach mysich, przy niewielkim zainteresowaniu komórkami krwi obwodowej.

Podsumowanie publikacji 2

W pracy tej szczególną uwagę poświęciłam pacjentom ze schyłkową niewydolnością nerek w przebiegu tocznia. Uzyskane wyniki wskazują na znaczne zmiany w dystrybucji subpopulacji limfocytów B krwi obwodowej, z podkreśleniem zmian w ilości przejściowych limfocytów B (CD38+) oraz „dojrzałych" i „niedojrzałych" limfocytów B. Również zmiany obejmujące profil ekspresji genów oraz poziomy cytokin i chemokin wskazywały na związek z przebiegiem choroby i jej natężeniem. Znacząco odmienny wzorzec ekspresji genów, obejmujący głównie wzrost transkrypcji czynników regulujących odpowiedź immunologiczną oraz metylację DNA, mogą stanowić podstawę do opracowania bardziej precyzyjnych metod monitorowania pacjentów z nerkową odmianą tocznia. W chwili obecnej podstawowe monitorowanie pacjentów z toczeniem nerkowym odbywa się z wykorzystaniem krwi obwodowej i moczu. Często analizy te są niewystarczające, ze względu na subtelne zmiany towarzyszące procesom zapalnym w nerkach (41). Dlatego też wszyscy pacjenci z diagnozą SLE powinni być analizowani pod kątem zajęcia nerek już przy pierwszej diagnozie, jak również przy kolejnych, mimo braku objawów nerkowych. W wielu przypadkach późna diagnoza wymaga nie tylko analizy krwi i moczu, ale również inwazyjnej biopsji nerek. Zatem analiza limfocytów B krwi obwodowej mogłaby pozwolić na monitorowania pacjentów z nerkową odmianą tocznia. Ponadto w tej pracy dokumentuję zasadność wykonywania badań podstawowych poprzedzających wprowadzanie nowych terapii w warunkach klinicznych. Dogłębne poznanie mechanizmów molekularnych warunkujących przebieg choroby pozwoli na wypracowanie lepszych i bardziej efektywnych terapii celowanych, z ograniczoną ilością niepożądanych efektów ubocznych.

Publikacja 3

Wardowska A., Smoleńska Ż., Lisowska K.A., Zdrojewski Z., Pikuła M. ***Dendritic cells' characteristics in patients with treated systemic lupus erythematosus.*** Acta Biochim Pol. 2020 Jul 30. doi: 10.18388/abp.2020_5416.

W trzeciej z prac oryginalnych cyklu ponownie przeanalizowałam subpopulacje komórek dendrytycznych od 16. pacjentów z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii, u których choroba manifestowała się w różnorodny sposób. W grupie badanej znaleźli się pacjenci zarówno ze zmianami skórno-stawowymi, neurologicznymi czy immunologicznymi. W tym badaniu skupiłam się nie tylko na samej charakterystyce komórek dendrytycznych w toczniu, ale również na poszukiwaniu zależności pomiędzy otrzymanymi wynikami a leczeniem, jakiemu poddawani byli pacjenci włączeni do projektu.

Komórki dendrytyczne stanowią istotny element odpowiedzi autoimmunologicznej, która może prowadzić do powstania klonów autoreaktywnych limfocytów B i nadmiarowej produkcji autoprzeciwciał kumulujących się w tkankach i narządach organizmu. Prowadzone od wielu lat badania nad układem immunologicznym w toczniu, wykazały, że plazmacytoidalne DC poprzez zwiększenie wydzielania IFN typu I aktywują różne geny (indukcja tzw. sygnatury interferonowej - IFN signature), co warunkuje hiperaktywację odpowiedzi immunologicznej i mechanizm oparty o autoagresję. Rolę pDC w przebiegu tocznia podkreśla fakt, iż pojawiają się w badaniach leki mające właśnie te komórki za swój punkt uchwytu. Przeciwciało monoklonalne (BIIB059), skierowane przeciwko charakterystycznemu receptorowi pDC – BDCA2 (CD303), przynosi pozytywne rezultaty terapeutyczne u pacjentów ze skórną odmianą SLE, głównie dzięki obniżeniu ekspresji genów zależnych od IFN (42). Natomiast mieloidalne DC poza funkcją prezentacji autoantygenów, wydzielają cytokin prozapalnych, co miałoby doprowadzać do niewłaściwej reakcji elementów odporności nabytej.

Stopień nasilenia i zaawansowania choroby oceniony został przy użyciu skali SLEDAI, podobnie jak w poprzedniej publikacji, i na tej podstawie wyróżniłam pacjentów z aktywną chorobą (SLEDAI >6) oraz osoby w remisji (SLEDAI ≤6). W obu grupach znalazło się po ośmiu pacjentów. Taka sama liczba osób, bez chorób autoimmunologicznych, została włączona do grupy kontrolnej. Wszyscy pacjenci byli poddawani odpowiedniemu leczeniu, z wykorzystaniem glukokortykoidów, immunosupresantów bądź leków przeciw-malarycznych. Przy czym schemat terapeutyczny w poszczególnych grupach był następujący: Wszystkie osoby w remisji otrzymywały glukokortykoidy, trzy dodatkowo przyjmowały leki immunosupresyjne, a dwie z nich brały ponadto leki przeciwmalaryczne. Z kolei osoby w aktywnej fazie choroby również leczone były glukokortykoidami (7 osób), immunosupresantami (6 osób) oraz lekami przeciwmalarycznymi (5 osób) w różnych kombinacjach terapeutycznych.

Próbki krwi i surowicy, pobrane od pacjentów i osób grupy kontrolnej, zostały przeznaczone do analiz cytometrycznych, magnetycznej izolacji mDC i pDC, z których następnie izolowano RNA oraz do oceny poziomów receptorów dla cytokin i chemokin w surowicy (technika Luminex® xMAP®).

Podobnie jak w pierwszej pracy oryginalnej, w tej również wyróżniłam subpopulacje mDC i pDC. W przypadku mDC nie zaobserwowałam znaczących zmian w częstotliwości występowanie tych komórek w krwi obwodowej pacjentów w porównaniu do prób kontrolnych. Z kolei odsetek pDC wykazywał tendencje spadkowe u pacjentów z SLE. Analizowałam również

poziom aktywacji komórek mDC poprzez ocenę poziomu cząsteczek kostymulujących CD80 i CD83. Zaobserwowany wzrost liczby mDC z ekspresją CD80 i CD83, sugeruje znaczący udział tych komórek w prezentacji autoantygenów i aktywacji mechanizmów odporności nabytej. Wyższy odsetek zaktywowanych mDC może być bezpośrednio związany z charakterystycznymi dla tocznia zaburzeniami usuwania ciałek apoptotycznych (43).

Interpretacja danych dotyczących profilu ekspresji genów w obu subpopulacjach komórek dendrytycznych pacjentów z toczniem pozwoliła na potwierdzenie roli czynników IRF w rozregulowaniu aktywności DC. Jak wiadomo białka z tej rodziny odgrywają znaczącą rolę w rozwoju poszczególnych subpopulacji DC oraz warunkują rodzaj aktywacji komórki. W przypadku obu subpopulacji DC zaobserwowałam wzrost ekspresji genu IRF5, natomiast ekspresja IFR1 ulegała zwiększonej ekspresji jedynie w pDC. Odnotowałam również nieznaczny wzrost poziomu transkrypcji genu IRF8 oraz znaczący spadek ekspresji genu *ID2* w tej subpopulacji DC. Niskie poziomy tych białek mogą być związane z podwyższoną ekspresją czynnika E2-2, gdyż te trzy białka stanowią szlak regulujący profil transkryptomiczny pDC. W przypadku mDC wzrost ekspresji E2-2 i towarzyszący mu obniżony poziom ID2, wykazywały negatywną korelację z poziomem autoprzeciwciał anty-dsDNA. Ta obserwacja podkreśla rolę aktywowanych mDC w przebiegu tocznia. Również zwiększona ekspresja genu MBD2 zaangażowanego w demetylację DNA, wydaje się być istotna dla optymalnego funkcjonowania mDCs. Natomiast zwiększona ekspresja APRIL w mDC może stanowić potwierdzenie roli komórek dendrytycznych jako źródła tego czynnika warunkującego dojrzałość i aktywację limfocytów B. Dodatkowy argument stanowią pozytywne korelacje pomiędzy ekspresją tego genu w mDC a poziomami przeciwciał anty-dsDNA i sIL-4R oraz negatywna korelacja z cząsteczką C4 układu dopełniacza.

Czas trwania choroby u wszystkich pacjentów zakwalifikowanych do badania przekraczał 18 miesięcy, dlatego też niezbędne było spojrzenie na uzyskane wyniki przez pryzmat zastosowanego leczenia. Standardowa terapia obejmuje zastosowanie sterydowych leków przeciwzapalnych, leków immunosupresyjnych bądź przeciwmalarycznych w różnych kombinacjach. W przypadku pacjentów w badaniu, tylko jedna osoba nie przyjmowała glukokortykosterydów, co utrudniło pełną ocenę potencjalnego działania hamującego układ immunologiczny. Leczenie immunosupresyjne, które zastosowano u 9 pacjentów, nie wykazało wpływu na komórki dendrytyczne, gdyż punktem uchwytu tych terapeutyków są głównie komórki proliferujące (limfocyty T i B). Natomiast hydroksychlorochina (HCQ), podawana 7 pacjentom, modyfikująca głównie komórki prezentujące antygen, nie wpłynęła znacząco na badane subpopulacje DC. Wynika to prawdopodobnie z mechanizmu działania HCQ, która zaburza dojrzewanie endosomów, blokując produkcję cytokin prozapalnych. Prawdopodobnie lek ten nie wpływa bezpośrednio na fenotyp ani aktywność transkrypcyjną DC.

Podsumowanie publikacji 3

Wyniki zaprezentowane w trzeciej publikacji potwierdzają istotne zaburzenia w funkcjonowaniu komórek dendrytycznych w SLE. Istotne wnioski z tej pracy dotyczą roli mieloidalnych komórek dendrytycznych, którym poświęca się nieco mniej uwagi niż plazmacytoidalnym DC. W badaniu wykazałam, że mDC charakteryzują się zwiększoną ekspresją APRIL, E2-2, MBD2 czy PD-L1. Co istotne, wartości te wykazywały zależność z poziomami przeciwciał anty-dsDNA, stężeniem cząsteczek układu dopełniacza w surowicy czy wolną formą receptorów dla cytokin. Mimo, niedużej grupy badanej udało się wykazać znaczące zmiany pomiędzy badanymi parametrami, co wskazuje na zasadność kontynuacji badań molekularnych

komórek dendrytycznych w SLE. Może się to istotnie przyczynić nie tylko do zrozumienia złożonego podłoża genetycznego i epigenetycznego SLE, ale również umożliwić próby zastosowania nowych, bardziej skutecznych terapii.

Publikacja 4

Wardowska A. ***The epigenetic face of lupus: Focus on antigen-presenting cells.*** Int. Immunopharm. Volume 81, April 2020, 106262, doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106262

Czwarta z cyklu publikacji stanowi przegląd piśmiennictwa podejmującej temat zmian epigenetycznych w przebiegu tocznia, ze szczególnym uwzględnieniem komórek zaliczanych do komórek prezentujących antygen (APC). Praca ta stanowi swoiste podsumowanie całego osiągnięcia habilitacyjnego, gdyż moje wcześniejsze badania znacząco przyczyniły się do jej powstania. Obserwując dostępne dane zauważyłam bowiem znikomą ilość informacji dotyczących zmian metylacji DNA czy modyfikacji potranslacyjnych w komórkach APC, mimo, że coraz większe znaczenie przypisuje się epigenetyce jako jednemu z kluczowych elementów wpływających na homeostazę organizmu. Udowodniono, że modyfikacje epigenetyczne w limfocytach T są charakterystyczne dla pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi, w tym pacjentów z toczniem. Jednakże, komórki te, będące na końcu szlaku aktywacji układu immunologicznego, zmianę swojego wzorca epigenetycznego mogą zawdzięczać m.in. aktywującym je komórkom. A o tych ostatnich i ich epigenomie w autoimmunologii informacji jest niewiele. W pracy przeglądowej opisałam mechanizmy triady epigenetycznej, obejmującej metylację DNA, potranslacyjne modyfikacje histonów oraz obecność niekodujących RNA. W następnej części podsumowałam dostępne dane dotyczące modyfikacji epigenetycznych dotychczas zidentyfikowanych w przebiegu tocznia rumieniowatego trzewnego. W zasadniczej części skupiłam się na komórkach prezentujących antygen, z wyróżnieniem monocytów/makrofagów, komórek dendrytycznych oraz limfocytów B. Tutaj wykazałam znaczenie przeprowadzonych przeze mnie badań na komórkach dendrytycznych i limfocytach B, okazało się bowiem, że niewielu naukowców podjęło badania tych populacji komórkowych pod kątem ich zmian genetycznych w patogenezie tocznia. Podjęłam również próbę podsumowania doniesień o stosowanych obecnie lekach epigenetycznych, wskazując na rosnące zainteresowanie tą dziedziną terapii. Zatem moje badania wpisują się w nurt badań molekularnych, na które jest obecnie duże zapotrzebowanie i które mogą stanowić podwaliny dla pełnego zrozumienia patomechanizmów chorób autoimmunologicznych oraz przyczynić się do wypracowania nowych technik diagnostycznych czy skutecznych terapii.

Podsumowanie osiągnięcia habilitacyjnego

Prezentowany cykl prac opisuje zmiany molekularne, w tym epigenetyczne, i fenotypowe komórek immunologicznych zaangażowanych w indukcję i progresję tocznia rumieniowatego trzewnego. Podjęcie tematu znaczenia zmian epigenetycznych i fenotypowych w komórkach dendrytycznych było swoistą odpowiedzą na brak takich danych w dostępnej literaturze naukowej. Pierwsza praca oryginalna z mojego cyklu habilitacyjnego jest pionierskim doniesieniem literaturowym dotyczącym wzorca epigenetycznego komórek dendrytycznych w nerkowej odmianie tocznia, jak również w samym toczniu rumieniowatym trzewnym. Pozostałe prace wpisują się w nurt równie pionierskich prac nad krążącymi komórkami immunologicznymi (zarówno dendrytycznymi jak i limfocytami B) jako potencjalnym źródłem zarówno nowych

biomarkerów jak też innowacyjnych punktów uchwytu dla terapii epigenetycznych. Wartością dodaną przedstawionego cyklu jest stworzenie alternatywy dla obecnie stosowanych metod diagnostyki i monitorowania pacjentów z toczniem, w tym ze szczególnym uwzględnieniem pacjentów z nefropatią toczniową. Prace oryginalne stanowią doskonałe źródło informacji zarówno dla klinicystów jak również dla naukowców badających mechanizmy będące u podstawy zjawisk autoimmunologicznych. Natomiast praca poglądowa doskonale wskazuje kierunek dalszych badań, mogący w istotny sposób przyczynić się do poprawy jakości życia pacjentów z toczniem, jak również otwierający drogę do kolejnych odkryć naukowych z zakresu epigenetyki w chorobach autoimmunologicznych.

Bibliografia

1. Kröger W, Mapiye D, Entfellner J-BD, Tiffin N. A meta-analysis of public microarray data identifies gene regulatory pathways deregulated in peripheral blood mononuclear cells from individuals with Systemic Lupus Erythematosus compared to those without. BMC Med Genomics [Internet]. 2016 Dec 15;9(1):66. Available from: http://bmcmedgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12920-016-0227-0
2. Lisnevskaia L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. Lancet [Internet]. 2014 Nov;384(9957):1878–88. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614601288
3. Honarpisheh M, Köhler P, von Rauchhaupt E, Lech M. The Involvement of MicroRNAs in Modulation of Innate and Adaptive Immunity in Systemic Lupus Erythematosus and Lupus Nephritis. J Immunol Res [Internet]. 2018;2018:1–15. Available from: https://www.hindawi.com/journals/jir/2018/4126106/
4. Herrada AA, Escobedo N, Iruretagoyena M, Valenzuela RA, Burgos PI, Cuitino L, et al. Innate Immune Cells' Contribution to Systemic Lupus Erythematosus. Front Immunol [Internet]. 2019 Apr 15;10. Available from: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.00772/full
5. Koutsokeras T, Healy T. Systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. Nat Rev Drug Discov [Internet]. 2014 Mar 14;13(3):173–4. Available from: http://www.nature.com/articles/nrd4227
6. Fujieda Y. Diversity of neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus. Immunol Med [Internet]. 2020 May 27;1–7. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/25785826.2020.1770947
7. González-Regueiro JA, Cruz-Contreras M, Merayo-Chalico J, Barrera-Vargas A, Ruiz-Margáin A, Campos-Murguía A, et al. Hepatic manifestations in systemic lupus erythematosus. Lupus [Internet]. 2020 May 9;096120332092339. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0961203320923398
8. Schwartz N, Goilav B, Putterman C. The pathogenesis, diagnosis and treatment of lupus nephritis. Curr Opin Rheumatol [Internet]. 2014 Sep;26(5):502–9. Available from: https://insights.ovid.com/crossref?an=00002281-201409000-00007
9. Yu C, Gershwin ME, Chang C. Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: A critical review. J Autoimmun [Internet]. 2014 Feb;48–49:10–3. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841114000067
10. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. J Rheumatol [Internet]. 2002 Feb;29(2):288–91. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11838846
11. Romero-Diaz J, Isenberg D, Ramsey-Goldman R. Measures of adult systemic lupus erythematosus: updated version of British Isles Lupus Assessment Group (BILAG 2004), European Consensus Lupus Activity Measurements (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure, Revised (SLAM-R), Systemic Lupus Activity Questi. Arthritis Care Res (Hoboken) [Internet]. 2011 Nov;63 Suppl 1:S37-46. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22588757
12. Lever E, Alves MR, Isenberg DA. Towards Precision Medicine in Systemic Lupus Erythematosus. Pharmgenomics Pers Med [Internet]. 2020 Feb;Volume 13:39–49. Available from: https://www.dovepress.com/towards-precision-medicine-in-systemic-lupus-erythematosus-peer-reviewed-article-PGPM
13. Parikh S V., Malvar A, Song H, Alberton V, Lococo B, Vance J, et al. Characterising the immune profile of the kidney biopsy at lupus nephritis flare differentiates early treatment responders from non-responders. Lupus Sci Med [Internet]. 2015 Nov 18;2(1):e000112–e000112. Available from: http://lupus.bmj.com/cgi/doi/10.1136/lupus-2015-000112
14. Pamfil C, Makowska Z, De Groof A, Tilman G, Babaei S, Galant C, et al. Intrarenal activation of adaptive immune effectors is associated with tubular damage and impaired renal function in lupus nephritis. Ann

Rheum Dis [Internet]. 2018 Dec;77(12):1782–9. Available from: http://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/annrheumdis-2018-213485

15. Davies R, Sangle S, Jordan N, Aslam L, Lewis M, Wedgwood R, et al. Rituximab in the treatment of resistant lupus nephritis: therapy failure in rapidly progressive crescentic lupus nephritis. Lupus [Internet]. 2013 May 30;22(6):574–82. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0961203313483376
16. Meliambro K, Campbell KN, Chung M. Therapy for Proliferative Lupus Nephritis. Rheum Dis Clin North Am [Internet]. 2018 Nov;44(4):545–60. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889857X18300553
17. Szabó K, Papp G, Szántó A, Tarr T, Zeher M. A comprehensive investigation on the distribution of circulating follicular T helper cells and B cell subsets in primary Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus. Clin Exp Immunol. 2016;183(1):76–89.
18. Lorenz G, Anders H-J. Neutrophils, Dendritic Cells, Toll-Like Receptors, and Interferon-α in Lupus Nephritis. Semin Nephrol [Internet]. 2015 Sep;35(5):410–26. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0270929515001412
19. Li Y, Lee PY, Reeves WH. Monocyte and Macrophage Abnormalities in Systemic Lupus Erythematosus. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) [Internet]. 2010 Oct 31;58(5):355–64. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00005-010-0093-y
20. Deng Q, Luo Y, Chang C, Wu H, Ding Y, Xiao R. The Emerging Epigenetic Role of CD8+T Cells in Autoimmune Diseases: A Systematic Review. Front Immunol [Internet]. 2019 Apr 18;10. Available from: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.00856/full
21. Qiu H, Wu H, Chan V, Lau C-S, Lu Q. Transcriptional and epigenetic regulation of follicular T-helper cells and their role in autoimmunity. Autoimmunity [Internet]. 2017 Feb 17;50(2):71–81. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08916934.2017.1284821
22. Rossi M, Young JW. Human Dendritic Cells: Potent Antigen-Presenting Cells at the Crossroads of Innate and Adaptive Immunity. J Immunol [Internet]. 2005 Aug 1;175(3):1373–81. Available from: http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.175.3.1373
23. Sozzani S, Del Prete A, Bosisio D. Dendritic cell recruitment and activation in autoimmunity. J Autoimmun [Internet]. 2017 Dec;85:126–40. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841117305024
24. Macri C, Pang ES, Patton T, O'Keeffe M. Dendritic cell subsets. Semin Cell Dev Biol [Internet]. 2018 Dec;84:11–21. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1084952116304347
25. Villani A-C, Satija R, Reynolds G, Sarkizova S, Shekhar K, Fletcher J, et al. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors. Science (80-) [Internet]. 2017 Apr 21;356(6335):eaah4573. Available from: http://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.aah4573
26. O'Keeffe M, Mok WH, Radford KJ. Human dendritic cell subsets and function in health and disease. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2015 Nov 5;72(22):4309–25. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00018-015-2005-0
27. Moosavi A, Motevalizadeh Ardekani A. Role of Epigenetics in Biology and Human Diseases. Iran Biomed J [Internet]. 2016 Nov;20(5):246–58. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27377127
28. Karagianni P, Tzioufas AG. Epigenetic perspectives on systemic autoimmune disease. J Autoimmun [Internet]. 2019 Nov;104:102315. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841119304871
29. Schübeler D. Function and information content of DNA methylation. Nature [Internet]. 2015 Jan 14;517(7534):321–6. Available from: http://www.nature.com/articles/nature14192
30. Castillo J, López-Rodas G, Franco L. Histone Post-Translational Modifications and Nucleosome Organisation in Transcriptional Regulation: Some Open Questions. In 2017. p. 65–92. Available from: http://link.springer.com/10.1007/5584_2017_58
31. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet [Internet]. 2004 Jul;5(7):522–31. Available from: http://www.nature.com/articles/nrg1379
32. Long H, Yin H, Wang L, Gershwin ME, Lu Q. The critical role of epigenetics in systemic lupus erythematosus and autoimmunity. J Autoimmun [Internet]. 2016 Nov;74:118–38. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841116300981
33. Wang Z, Lu Q, Wang Z. Epigenetic Alterations in Cellular Immunity: New Insights into Autoimmune Diseases. Cell Physiol Biochem [Internet]. 2017;41(2):645–60. Available from: https://www.karger.com/Article/FullText/457944
34. Maria NI, Davidson A. Renal Macrophages and Dendritic Cells in SLE Nephritis. Curr Rheumatol Rep [Internet]. 2017 Dec 9;19(12):81. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s11926-017-0708-y
35. Jurkowska RZ, Jeltsch A. Mechanisms and Biological Roles of DNA Methyltransferases and DNA

Methylation: From Past Achievements to Future Challenges. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2016;945:1–17. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27826832

36. Wood KH, Zhou Z. Emerging Molecular and Biological Functions of MBD2, a Reader of DNA Methylation. Front Genet [Internet]. 2016 May 26;7. Available from: http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fgene.2016.00093/abstract
37. Bosselut R. Control of Intra-Thymic αβ T Cell Selection and Maturation by H3K27 Methylation and Demethylation. Front Immunol. 2019 Apr;10.
38. Kumar B, Elsässer SJ. Quantitative Multiplexed ChIP Reveals Global Alterations that Shape Promoter Bivalency in Ground State Embryonic Stem Cells. Cell Rep [Internet]. 2019 Sep;28(12):3274-3284.e5. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211124719310940
39. Thompson N, Isenberg DA, Jury EC, Ciurtin C. Exploring BAFF: its expression, receptors and contribution to the immunopathogenesis of Sjögren's syndrome. Rheumatology [Internet]. 2016 Sep;55(9):1548–55. Available from: https://academic.oup.com/rheumatology/article-lookup/doi/10.1093/rheumatology/kev420
40. Samy E, Wax S, Huard B, Hess H, Schneider P. Targeting BAFF and APRIL in systemic lupus erythematosus and other antibody-associated diseases. Int Rev Immunol [Internet]. 2017 Jan 2;36(1):3–19. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08830185.2016.1276903
41. Almaani S, Meara A, Rovin BH. Update on Lupus Nephritis. Clin J Am Soc Nephrol [Internet]. 2017 May 8;12(5):825–35. Available from: http://cjasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.2215/CJN.05780616
42. Furie R, Werth VP, Merola JF, Stevenson L, Reynolds TL, Naik H, et al. Monoclonal antibody targeting BDCA2 ameliorates skin lesions in systemic lupus erythematosus. J Clin Invest [Internet]. 2019 Feb 18; Available from: https://www.jci.org/articles/view/124466
43. Seitz HM, Matsushima GK. Dendritic Cells in Systemic Lupus Erythematosus. Int Rev Immunol [Internet]. 2010 Mar 31;29(2):184–209. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08830181003602507

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Analiza Bibliometryczna

Na dzień 11.08.2020

Sumaryczny Impact Factor: 81.941

Łączna liczba punktów MNiSZW: 1517

Doniesienia konferencyjne: 37

Zgłoszenia patentowe: 5

Indeks Hirscha (Web of Science / Scopus/ Google Scholar): 9/9/10 [11.08.2020]

Łączna liczba cytowań (bez autocytowań): 217/221/362 (od 2015 -245) [11.08.2020]

Moje zainteresowania naukowe, poza omówionymi w ww. cyklu aspektami epigenetycznymi i molekularnymi w autoimmunologii, skupiają się również na badaniach związków biologicznie czynnych, komórkach macierzystych o potencjalnym zastosowaniu w medycynie regeneracyjnej i ich transkryptomie, oraz na limfocytach T regulatorowych w kontekście transplantacyjnym. W swojej dotychczasowej pracy naukowej miałam okazję współuczestniczyć w pisaniu i realizowaniu kilku grantów, w tym w projektach wieloośrodkowych (m.in. REGENNOVA). Dzięki temu, w ramach interdyscyplinarnych zespołów badawczych, mogłam współpracować z wieloma specjalistami z różnych dziedzin, m.in. chemii, biologii, biochemii, chirurgii czy biologii molekularnej.

5.2. Osiągnięcia naukowe przed uzyskaniem stopnia doktora naukowego

5.2.1. Pochodne tuftsyny oraz MDP – badania funkcjonalne i immunologiczne

1.	Myśliwski A, Dzierzbicka K, **Wardowska A.** „Immunomoduatory naturalne: muramylodipeptyd (MDP) i tuftsyna modyfikowane drogą syntezy nowych pochodnych" Wydawnictwo książkowe pod red. A.K. Siwickiego i E Skopińskiej –Różewskiej „Naturalne i syntetyczne immunomodulatory odpowiedzi immunologicznej i angiogenezy" Olsztyn 2006; 27-32	*MNiSW: 6*
2.	**Wardowska A,** Dzierzbicka K, Trzonkowski P, Myśliwski A. „Immunomodulatory properties of new conjugates of muramyl dipeptide and nor-muramyl dipeptide with retro-tuftsin (Arg-Pro-Lys-Thr-OMe)" Int. Immunopharm. 2006; 6(10): 1560-1568. doi: 10.1016/j.intimp.2006.05.004	IF=2,157 *MNiSW: 15*
3.	**Wardowska A**, Dzierzbicka K, Trzonkowski P, Myśliwski A. The biological activity of new tuftsin derivatives--induction of phagocytosis. Acta Pol Pharm. 2006 Sep-Oct;63(5):378-81.	*MNiSW: 6*
4.	**Wardowska A,** Dzierzbicka K, Myśliwski A. [Tuftsin--new analogues and properties]. Postepy Biochem. 2007;53(1):60-5. Review. Polish.	*MNiSW: 5*
5.	**Wardowska A,** Szaryńska M, Dzierzbicka K, Myśliwski A. „Rola komórek dendrytycznych w regulowaniu aktywności układu immunologicznego oraz możliwości wykorzystania ich w terapii" Post. Biol. Kom. 2007; 34(4): 669-682	*MNiSW: 10*
6.	Szaryńska M, **Wardowska A,** Dzierzbicka K, Myśliwska J, Myśliwski A. „Różne subpopulacje komórek dendrytycznych oraz sposoby regulowania ich aktywności" Wydawnictwo książkowe pod red. A.K. Siwickiego i E Skopińskiej –Różewskiej „Endogenne i egzogenne modulatory odporności i angiogenezy" Olsztyn 2007; 103-115	*MNiSW: 3*
7.	**Wardowska A,** Dzierzbicka K, Szaryńska M, Dabrowska-Szponar M, Wiśniewska K, Myśliwski A, Trzonkowski P. Analogues of muramyl dipeptide (MDP) and tuftsin limit infection and inflammation in murine model of sepsis. Vaccine. 2009 Jan 14;27(3):369-74. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.11.017. Epub 2008 Nov 21.	IF=3,616 *MNiSW: 32*
8.	Dzierzbicka K, Sągol K, **Wardowska A,** Trzonkowski P. „Desmuramylopeptydy: struktura i aktywność biologiczna" Wiad. Chem. 2009; 63:1089-1114	*MNiSW: 6*
9.	Małachowska M, Cholewiński G, Dzierzbicka K, **Wardowska A,** Trzonkowski P. „Kwas mykofenolowy i jego analogi, synteza i aktywność biologiczna" Wiad. Chem. 2009; 63:309-332	*MNiSW: 6*
10.	Dzierzbicka K, **Wardowska A,** Trzonkowski P. Recent developments in the synthesis and biological activity of muramylpeptides. Curr Med Chem. 2011;18(16):2438-51. Review. doi: 10.2174/092986711795843173	IF=4,859 *MNiSW: 40*
11.	Dzierzbicka K, **Wardowska A,** Rogalska M, Trzonkowski P. New conjugates of muramyl dipeptide and nor-muramyl dipeptide linked to tuftsin and retro-tuftsin derivatives significantly influence their biological activity. Pharmacol Rep. 2012;64(1):217-23. doi: 10.1016/s1734-1140(12)70749-1	IF=1,965 *MNiSW: 25*

12.	**Wardowska A,** Dzierzbicka K, Menderska A, Trzonkowski P. New conjugates of tuftsin and muramyl dipeptide as stimulators of human monocyte-derived dendritic cells. Protein Pept Lett. 2013 Feb;20(2):200-4. doi: 10.2174/0929866511320020012	IF=1,735 *MNiSW: 15*

Swoją pracę naukową, która doprowadziła mnie do uzyskania stopnia doktora nauk medycznych, rozpoczęłam od badań związków biologicznie czynnych o właściwościach immunomodulacyjnych. Modulowanie odpowiedzi immunologicznej jest zjawiskiem badanym od wielu lat w kontekście szerokiej gamy zaburzeń odporności, infekcji czy zmian nowotworowych, mimo to wciąż nie do końca poznanym. Z pewnością jest to zagadnienie podlegające permanentnemu rozwojowi z nieograniczonym zasobem związków o potencjalnych właściwościach immunomodulacyjnych. Nieustannie rosnące zapotrzebowanie na modyfikowanie reakcji odpornościowych w schorzeniach dotyczących człowieka, skłoniły mnie do prowadzenie badań nad związkami biologicznie czynnymi. Dzięki współpracy z prof. Krystyną Dzierzbicką z Katedry Chemii Organicznej Politechniki Gdańskiej, miałam możliwość odkrywania właściwości immunomodulacyjnych związków będących pochodnymi muramylodipeptydu (MDP) i tuftsyny. Pierwszy z peptydów – MDP – jest najmniejszą adjuwantowo czynną cząsteczką otrzymaną na wzór naturalnego fragmentu ściany komórkowej bakterii. Drugi - tuftsyna – to naturalny tetrapeptyd (Thr-Lys-Pro-Arg) występujący we krwi człowieka i innych ssaków. Oba peptydy wykazują potwierdzoną naukowo aktywność biologiczną objawiającą się głównie pobudzeniem mechanizmów odporności wrodzonej. Niemniej jednak, mimo plejotropowości działania, zarówno tuftsyna jak i MDP wykazują szereg ograniczeń wykluczających ich zastosowania w klinice. Dlatego też w swoich pracach skupiłam się na analizie immunologicznej szeregu pochodnych tuftsyny i MDP w warunkach in vitro jak też in vivo. Badania przeprowadzone na liniach komórkowych i krwi obwodowej osób zdrowych potwierdziły hipotezę, według której modyfikacje wyżej wymienionych związków biologicznie czynnych pozwalają na osiągnięcie substancji o korzystniejszym działaniu immunomodulacyjnym (**publikacja 1, 2 i 3**). Badania w ramach mojej pracy magisterskiej pozwoliły na selekcję czterech związków o najkorzystniejszych właściwościach immunomodulacyjnych.

Następnie, wyselekcjonowane związki przebadałam w mysim modelu ciężkiej infekcji bakteryjnej, pod kątem ich potencjalnego zastosowanie jako terapeutyków bądź substancji wzmacniających działanie innych leków przeciwbakteryjnych. Wyniki mojej pracy doktorskiej wykazały zasadność postrzegania pochodnych MDP i tuftsyny jako substancji o potencjale terapeutycznym. Przy czym skuteczniejsze okazało się stosowanie tych pochodnych jako elementów leczenia skojarzonego, wspierających klasyczną antybiotykoterapię. Samodzielne zastosowanie badanych związków nie pozwoliło na całkowitą eliminację patogenu i zahamowanie rozwoju infekcji. W oparciu o efekty immunomodulacyjne w zastosowanym w badaniu schemacie terapeutycznym, udało się wskazać trzy związki o potencjalnym klinicznym zastosowaniu. Znaczącym osiągnięciem projektu było stworzenie mysiego modelu zapalenia otrzewnej. Inokulacja zwierząt wybranym szczepem *E.coli* pozwalała na otrzymanie zapalenia otrzewnej z następczą ogólnoustrojową infekcją o charakterze posocznicy. Przeprowadzone badania wykazały, że podczas ciężkiej uogólnionej infekcji układ odpornościowy w obrębie narządów wewnętrznych nie odpowiada jednocześnie we wszystkich narządach z jednakową intensywnością, a stopniowo na zasadzie „filtrowania" docierających do poszczególnych narządów skażonych płynów ustrojowych. Na podstawie uzyskanych wyników powstała teoria „trzech filtrów" sugerująca specyficzne działanie poszczególnych subpopulacji makrofagów tkankowych i monocytów krwi obwodowej (**publikacja nr 5**).

W trakcie prac eksperymentalnych powstało również kilka prac przeglądowych **(publikacja nr 4, 6, 7 i 12**) opisujących postęp w badaniach nad związkami biologicznie czynnymi. Opisano nowe pochodne tuftsyny i ich właściwości biologiczne, a także przygotowano prace dotyczące muramylopeptydów i desmuramylopeptydów. W tym czasie powstała również praca będąca nawiązaniem do kolejnych projektów - przegląd informacji o kwasie mykofenolowym, jego syntezie chemicznej, właściwościach i analogach.

Pomost pomiędzy moją pracą przed i po doktoracie stanowią badania nad komórkami dendrytycznymi (**publikacja 9 i 10**). Już po otrzymaniu stopnia doktora kontynuowałam badania nad pochodnymi MDP i tuftsyny, mi.in. w kontekście ich odziaływania na populację komórek dendrytycznych (**publikacje 8 i 9**). Swoistym rodzajem podsumowania moich badań immunomodulacyjnych właściwości pochodnych MDP i tuftsyny, były dwa opracowania przeglądowo-wynikowe, opublikowane w ramach książkowych materiałów zjazdowych (prace nr 10 i 11).

W sześciu spośród wymienionych dwunastu prac byłam pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym.

5.3. Osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia doktora naukowego

5.3.1. Badania nowych peptydów – właściwości immunologiczne

1.	Strzelecka P, Czaplinska D, Sadej R, **Wardowska A**, Pikula M, Lesner A. Simplified, serine-rich theta-defensin analogues as antitumour peptides. Chem Biol Drug Des. 2017 Jul;90(1):52-63. doi: 10.1111/cbdd.12927. Epub 2017 Feb 6.	IF=2,328 *MNiSW: 25*
2.	Deptuła M*, **Wardowska A***, Dzierżyńska M, Rodziewicz-Motowidło S, Pikuła M. Antibacterial Peptides in Dermatology-Strategies for Evaluation of Allergic Potential. Molecules. 2018 Feb 14;23(2). pii: E414. doi: 10.3390/molecules23020414. Review. *- równy udział w pracy	IF=3,060 *MNiSW: 30*
3.	Deptuła M*, Karpowicz P*, **Wardowska A**, Sass P, Sosnowski P, Mieczkowska A, Filipowicz N, Dzierżyńska M, Sawicka J, Nowicka E, Langa P, Schumacher A, Cichorek M, Zieliński J, Kondej K, Kasprzykowski F, Czupryn A, Janus Ł, Mucha P, Skowron P, Piotrowski A, Sachadyn P, Rodziewicz-Motowidło S, Pikuła M. Development of a peptide derived from platelet-derived growth factor (PDGF-BB) into a potential drug candidate for the treatment of wounds. Adv Wound Care 2019, https://doi.org/10.1089/wound.2019.1051.	IF=2,813 *MNiSW:140*
4.	Sawicka J, Dzierżyńska M, **Wardowska A**, Deptuła M, Rogujski P, Sosnowski P, Filipowicz N, Mieczkowska A, Sass P, Pawlik A, Hać A, Schumacher A, Gucwa M, Karska N, Kamińska J, Płatek R, Mazuryk J, Zieliński J, Kondej K, Młynarz P, Mucha P, Skowron P, Janus Ł, Herman-Antosiewicz A, Sachadyn P, Czupryn A, Piotrowski A, Pikuła M, Rodziewicz-Motowidło S. Imunofan—RDKVYR Peptide—Stimulates Skin Cell Proliferation and Promotes Tissue Repair. Molecules 2020, 25(12), 2884; https://doi.org/10.3390/molecules25122884 (registering DOI) - 23 Jun 2020	IF=3,267 *MNiSW: 100*

5.	Skowron P, Krawczun N, Żebrowska J, Kreft D, Zolnierkiewicz O, Bielawa M, Jeżewska- Frąckowiak J, Janus Ł, Witkowska M, Palczewska M, Schumacher A**, Wardowska A**, Deptuła M, Czupryn A, Mucha P, Piotrowski A, Sachadyn P, Rodziewicz-Motowidło S, Pikuła M, Żylicz-Stachula A. A vector-enzymatic DNA fragment amplification-expression technology for construction of artificial, concatemeric DNA, RNA and proteins for novel biomaterials, biomedical and industrial applications. Materials Science & Engineering C 2020; 108: 110426;	IF=5,880 *MNiSW: 140*
5a.	Skowron P.M., Krawczun N., Zebrowska J., Krefft D., Zolnierkiewicz O., Bielawa M., Jezewska-Frackowiak J., Janus L., Witkowska M., Palczewska M., Schumacher A., **Wardowska A**., Deptula M., Czupryn A., Mucha P., Piotrowski P., Sachadyn P., Rodziewicz-Motowidlo S., Pikuła M., Zylicz-Stachula A. Data regarding a new, vector-enzymatic DNA fragment amplification-expression technology for the construction of artificial, concatemeric DNA, RNA and proteins as well as biological effects of selected polypeptides obtained this method. Data in Brief, Vol. 28, Feb. 2020, 105069. https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.105069.	*MNiSW: 40*

Pomimo przekierowania głównych zainteresowań naukowych w stronę autoimmunologii, kontynuuję prace z obszaru analiz nowych związków biologicznie czynnych. W wyniku współprac naukowych z Uniwersytetem Gdańskim (Katedra Chemii Biomedycznej, Katedra Biochemii Molekularnej, Katedra Biotechnologii Molekularnej) jak również Politechniką Gdańską (Laboratorium Biotechnologii Regeneracyjnej), uczestniczyłam w badaniach nad nowymi peptydami o szerokim zastosowaniu, m.in., przeciwbakteryjnym czy wspomagającym gojenie ran. Moim głównym zadaniem w wymienionych badaniach była analiza właściwości immunologicznych nowych peptydów.

Współpraca z Wydziałem Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (Pracownia Analityki i Nanodiagnostyki Biochemicznej) oraz Międzyuczelnianym Wydziałem Biotechnologii UG-GUMed (Zakład Enzymologii i Onkologii Molekularnej) zaowocowała pracą, w której to opisaliśmy syntezę i właściwości przeciwnowotworowe nowych peptydowych analogów teta-defensyn (**publikacja 1**). Związki te mają szerokie właściwości biologiczne, w tym m.in. przeciwbakteryjne. W niniejszej pracy oceniliśmy aktywność analogów peptydowych, w których cysteinę zamieniono na alaninę, leucynę lub serynę. Badania przeprowadziliśmy na liniach nowotworowych, w tym dwóch liniach komórkowych raka piersi (SKBR3, MDA-MB0231) i linii nabłonka przewodów gruczołu sutkowego (HB2) zarówno w wariancie hodowlanym 2D jak i 3D (z użyciem Matrigel). Efektywność przeciwnowotworową analogów teta-defensyn potwierdziliśmy również w hodowlach z dodatkiem standardowych leków stosowanych w onkologii: cysplatyny i doksorubicyny. Bezpieczeństwo nowych związków określiliśmy wobec ludzkich jednojądrzastych komórek krwi obwodowej – PBMC (ocena cytotoksyczności) oraz poprzez stopień uszkodzenia erytrocytów (testy hemolizy). Na podstawie uzyskanych badań, wytypowaliśmy peptydy do dalszych badań nad ich potencjalnym zastosowaniem w onkologii jako cytostatyków.

Pozostałe 4 interdyscyplinarne prace (**publikacja 2, 3, 4, 5i 5a**) powstały w ramach konsorcjum REGENNOVA.

W pracy poglądowej (**publikacja 2**) przedstawiliśmy głównie własne doświadczenia oraz wnioski opisujące strategię projektowania i oceny bezpieczeństwa immunologicznego peptydów

przeciwbakteryjnych do zastosowań dermatologicznych. Tworzenie nowych leków przeciwbakteryjnych jest szczególnie istotne w kontekście leczenia ran przewlekłych, które bardzo często są zakażone bakteriami, co utrudnia lub uniemożliwia prawidłowe gojenie rany. W pracy podkreśliliśmy konieczność wykonywania przedklinicznych testów in vitro by ocenić ryzyko wywołania reakcji immunologicznej przez nowe peptydy. W tej pracy byłam równorzędnym pierwszym autorem.

W projekcie REGENNOVA pracowaliśmy również nad szeregiem związków biologicznie czynnych, w tym pochodnych czynników wzrostowych. Jednym z takich głównych czynników wzrostu, biorącym udział w gojeniu ran, jest płytkopochodny czynnik wzrostu - PDGF (**publikacja 3**). W wyniku realizacji projektu REGENNOVA otrzymaliśmy związek aktywny, którego sekwencja została opracowana na podstawie struktury kompleksu ludzkiego receptora PDGFBB z białkiem PDGF (kod PDB:3MJG). W badaniach wykorzystaliśmy zarówno model komórkowy in vitro, jak również model zwierzęcy (mysi). Uzyskane przez nas wyniki wskazują, iż peptyd PDGF2 stymuluje już w niskich stężeniach proliferację ludzkich fibroblastów oraz keratynocytów. Ponadto w testach immunologicznych wykonywanych in vitro peptyd ten nie wykazywał właściwości immunogennych ani alergizujących. Model zwierzęcy wykazał, iż PDGF2 zawieszony w żelu poprawia parametry gojenia rany. Zastosowana u zwierząt formulacja żelu i peptydu stanowi zupełnie nowy produkt, który może być potencjalnie wykorzystany bezpośrednio na rany u ludzi. Dodatkowo wykazano, że nowa formulacja żelu posiada pewną aktywność immunosupresyjną/przeciwzapalną w modelach in vitro. Może to mieć kluczowe znaczenie z uwagi na fakt, że przewlekłe zapalenie w znaczny sposób hamuje procesy regeneracji i naprawy tkanek, w tym gojenia ran. W tej pracy byłam odpowiedzialna za całą część poświęconą badaniom immunologicznym związku PDGF2. Prace nad tym związkiem zakończyły się również złożeniem wniosków patentowych: EP18000305.5 z dnia 30.03.2018 i P.425038 z dnia 26.03.2018 (szczegóły w punkcie 6.4 Zgłoszenia patentowe).

Drugim ze związków badanych w ramach wieloośrodkowego grantu NCBR (konsorcjum REGENNOVA), był heksapeptyd (RDKVYR) – immunofan - IM **(publikacja 4)**. Związek ten znany jest ze swoich właściwości immunostymulujących. W naszej pracy ocenialiśmy potencjalną przydatność immunofanu jako stymulatora regeneracji tkanek i gojenia ran. Przeprowadzone badania wykazały stabilność IM w roztworach wodnych oraz zdolność wiązania do albumin w ludzkiej surowicy. Z kolei testy na ludzkich liniach komórkowych fibroblastów i keratynocytów pozwoliły na zaobserwowanie aktywności pro-proliferacyjne badanego związku, oraz brak odziaływania cytotoksycznego w szerokim zakresie stężeń. Analizy molekularne i transkryptomiczne wskazały zwiększoną ekspresję genów związanych ze zjawiskiem demetylacji DNA oraz genów zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną, migrację i chemotaksję ludzkich komórek ASC. Z kolei na modelu mysim wykazaliśmy zasadność stosowania immunofanu, jako czynnika indukującego przyspieszone gojenie rany. Moim zadaniem w prezentowanej pracy była ocena bezpieczeństwa immunologicznego immunofanu oraz jego potencjału alergizującego. Podobnie jak w przypadku badań nad PDGF2, również i powyższe badania zaowocowały wnioskiem patentowym: P.425351 z dnia 24.04.2018 (szczegóły w punkcie 6.4 Zgłoszenia patentowe).

Z uwagi na charakter projektu REGENNOVA, istotnym było znalezienie metod pozwalających na ograniczenie aplikacji potencjalnego leku do ogniska uszkodzonej tkanki, unikając jednocześnie transportu poprzez kriwoobieg i dyfuzji do pozostałej części organizmu. Nowe metody terapeutyczne, oparte na modułach peptydowych o wykazanej lub hipotetycznej aktywności biologicznej, charakteryzujących się niewielką masą cząsteczkową i szybką dyfuzją,

wymagają zastosowania metod ich przejściowej immobilizacji. W **publikacji 5 (i 5a)** opracowano warunki optymalizacji biosyntezy oraz zsyntetyzowano różne warianty konkatamerycznych białek o wysokiej aktywności biologicznej. W pracy wykazaliśmy, że otrzymywane nową drogą białka posiadają właściwości pro-regeneracyjne. Ponadto, badania immunologiczne za które byłam odpowiedzialna, wykazały, że nowe białka charakteryzował brak właściwości immunogennych i alergizujących. Warto podkreślić, ze lokalne zastosowanie leku poprzez użycie bioaktywnych peptydów w formie polimerów ma istotne znaczenie np. w leczeniu ran przewlekłych lub chorób zapalnych stawów (toczeń rumieniowaty trzewny, reumatoidalne zapalenie stawów).

5.3.2. Badania transkryptomiczne komórek skóry – regeneracja tkanek

1.	Sass P, Sosnowski P, Podolak-Popinigis J, Górnikiewicz B, Kamińska J, Deptuła M, Nowicka E, **Wardowska A**, Ruczyński J, Rekowski P, Rogujski P, Filipowicz N, Mieczkowska A, Peszyńska-Sularz G, Janus Ł, Skowron P, Czupryn A, Mucha P, Piotrowski A, Rodziewicz-Motowidło S, Pikuła M, Sachadyn P. Epigenetic inhibitor zebularine activates ear pinna wound closure in the mouse. EBioMedicine. 2019; 46: 317-329.	IF=5,736 *MNiSW: 140*
2.	Kamińska J, Langa P, Deptuła M, Zieliński J, Sachadyn P, **Wardowska A*,** Pikuła M*. Transcriptional activity of epigenetic remodeling genes declines in keratinocytes after in vitro expansion. Adv Med Sci. 2019 Sep;64(2):274-279. doi: 10.1016/j.advms.2019.03.001. Epub 2019 Mar 19. (*equally supervised)	IF=2,570 *MNiSW: 100*
3.	Langa P, **Wardowska A**, Zieliński J, Podolak-Popinigis J, Sass P, Sosnowski P, Kondej K, Renkielska A, Sachadyn P, Trzonkowski P, Pikuła M. Transcriptional profile of in vitro expanded human epidermal progenitor cells for the treatment of non-healing wounds. J Dermatol Sci. 2018 Mar;89(3):272-281. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.12.003. Epub 2017 Dec 13.	IF=3,986 *MNiSW: 40*

Kolejną moją przestrzenią naukową są badania transkryptomiczne komórek skóry w kontekście ich potencjalnego zastosowania w regeneracji tkanek. Ścisła współpraca z zespołem prof. Pawła Sachadyna z Katedry Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej, zaowocowała trzema pracami oryginalnymi. Ponadto w tej współpracy miałam możliwość rozwijać swój warsztat epigentyczny.

Ważną w kontekście epigenetycznego indukowania procesów regeneracyjnych jest praca powstała w ramach projektu REGENNOVA (**publikacja 1**). W pracy tej wykazaliśmy, że znany inhibitor metylotransferazy DNA – zebularyna – pobudza procesy regeneracyjne w mysim modelu uszkodzenia tkanek – skóry (model uszny). Przeprowadziliśmy rozległą analizę zarówno komórek stymulowanych in vitro, jak również tkanek zwierzęcych uzyskanych z badań in vivo. Odnotowaliśmy spadek metylacji DNA w badanej tkance oraz znaczącą aktywację transkrypcyjną genów związanych z pluripotencją. Zastosowaliśmy również łączoną terapię uszkodzonej tkanki podając jednocześnie zebularynę i aktywator transkrypcyjny – kwas retinowy. To połączenie związków biologicznie czynnych okazało się najkorzystniejszą kombinacją wykazującą działanie pro-regeneracyjne. Jako pierwsi wykazaliśmy efektywność działania zebularyny w procesach

regeneracji tkanek, wskazując jednocześnie nowe farmakologiczne podejście do problemu regeneracji uszkodzonych tkanek.

W **publikacji 2** przedstawiliśmy analizę ekspresji 16 genów kodujących białka odpowiedzialne za metylację i demetylację DNA oraz modyfikacje histonów. Badania wykazały, że komórki naskórka w zależności od warunków mogą diametralnie zmieniać status epigenetyczny. Aktywacja komórek zachodząca w hodowli in vitro zmieniła ekspresję szeregu genów w ludzkich keratynocytach. Może to mieć duże znaczenie dla wykorzystania tych komórek w terapiach komórkowych trudno gojących się ran. Ponadto, aktywacja komórek zachodzi również podczas gojenia rany. Uzyskane wyniki mogą być zatem punktem wyjścia do poszukiwania nowych leków epigenetycznych, gdyż wiadomo, że zmiany epigenetyczne leżą u podstaw wielu chorób skóry i chorób zapalnych. Mój udział w tej pracy polegał na współkierowaniu projektem.

Również w kolejnej pracy zajmowaliśmy się komórkami naskórka (**publikacja 3**). W tym przypadku opisaliśmy szeroki profil transkryptomiczny hodowanych in vitro komórek progenitorowych naskórka. Przedstawiliśmy również kompleksową metodę leczenia ran przewlekłych przy użyciu wyhodowanych in vitro autologicznych komórek naskórka. Wykazaliśmy m.in., że hodowla komórek naskórka w odpowiednich warunkach pozwala na zachowanie fenotypu niezróżnicowanego, co udowodniliśmy badając profil ekspresji genów oraz analizując komórki przy użyciu cytometrii przepływowej. Praca wskazuje również na konieczność zachowania pełnej sterylności wyhodowanych komórek, jak również czystości mikrobiologicznej ran. Obecność bakterii patogennych może bowiem zmniejszać efektywność lub wręcz uniemożliwiać przyjęcie przeszczepianych komórek i gojenie rany. Potencjalne zastosowanie terapii komórkowych z peptydami mogłoby w znacznej mierze wspomóc gojenie ran.

5.3.3. Badania komórek macierzystych – implikacje kliniczne

1.	Mieczkowska A, Schumacher A, Filipowicz N, **Wardowska A**, Zieliński M, Madanecki P, Nowicka E, Langa P, Deptuła M, Zieliński J, Kondej K, Renkielska A, Buckley PG, Crossman DK, Crowley MR, Czupryn A, Mucha P, Sachadyn P, Janus Ł, Skowron P, Rodziewicz-Motowidło S, Cichorek M, Pikuła M, Piotrowski A. Immunophenotyping and transcriptional profiling of in vitro cultured human adipose tissue derived stem cells. Sci Rep. 2018 Jul 27;8(1):11339. doi: 10.1038/s41598-018-29477-5.	IF=4,011 *MNiSW: 40*
2.	Deptuła M, Zieliński J, **Wardowska A**, Pikuła M. Wound healing complications in oncological patients: perspectives for cellular therapy. Postepy Dermatol Alergol. 2019 Apr;36(2):139-146. doi: 10.5114/ada.2018.72585. Epub 2018 Jan 4. Review.	IF=1,361 *MNiSW: 70*
3.	Pikuła M, Marek-Trzonkowska N, **Wardowska A**, Renkielska A, Trzonkowski P. Adipose tissue-derived stem cells in clinical applications. Expert Opin Biol Ther. 2013 Oct;13(10):1357-70. doi: 10.1517/14712598.2013.823153. Epub 2013 Aug 7. Review.	IF=3,653 *MNiSW: 30*
4.	Gójska-Grymajło A, Zieliński M, **Wardowska A**, Gąsecki D, Pikuła M, Karaszewski B. CXCR7+ and CXCR4+ stem cells and neuron specific enolase in acute ischemic stroke patients. Neurochem Int. 2018 Nov;120:134-139. doi: 10.1016/j.neuint.2018.08.009. Epub 2018 Aug 17.	IF=3,994 *MNiSW: 25*

W nurt badań proregeneracyjnych, prowadzonych m.in. w ramach interdyscyplinarnego projektu REGENNOVA, wpisują się prace nad komórkami macierzystymi i ich potencjalnym zastosowaniem klinicznym.

Do prac oryginalnych z zakresu biologii komórek macierzystych należy **publikacja 1**, która powstała w ramach konsorcjum REGENNOVA (we współpracy z Genomics Centre, Genomics Medicine Ireland, Dublin oraz Heflin Center for Genomic Sciences, University of Alabama at Birmingham, USA). W tej pracy przedstawiliśmy szeroką analizę transkryptomiczną i fenotypową komórek macierzystych tkanki tłuszczowej. Ważnym przesłaniem tej pracy jest wykazanie, że komórki macierzyste tkanki tłuszczowej od pacjentów onkologicznych i pacjentów chirurgii plastycznej nie wykazują istotnych różnic biologicznych i transkryptomicznych. Daje to możliwości przyszłościowego przeszczepiania autologicznych komórek macierzystych pacjentom onkologicznym w terapiach rekonstrukcji i regeneracji tkanek. W aspekcie laboratoryjnym, udało się nam wykazać, że hodowla komórek ASC do 6. pasażu nie ma istotnego wpływu na profil transkryptomiczny, immunofenotyp i potencjał do różnicowania tych komórek. Wykazaliśmy również, że ekspresja ważnych markerów mezenchymalnych komórek macierzystych jest zmienna osobniczo. Ponadto, przedstawiliśmy znaczenie przełączania izoform w analizie komórek oraz rolę miR-30 w ścieżkach sygnalizacyjnych komórek macierzystych tkanki tłuszczowej. Moje zainteresowania komórkami ASC wynikają również z ich udokumentowanego działania immunoregulacyjnego i immunosupresyjnego. Aktywność tych komórek próbuje się już wykorzystywać klinicznie w leczeniu chorób autoimmunologicznych.

Publikacja 2, jako praca przeglądowa, opisuje zagadnienie z jakim często borykają się onkolodzy – problem trudno gojących się ran u pacjentów onkologicznych. Duże nadzieje wiąże się z zastosowaniem terapii komórkowych. Nasza praca skupiła się na przedstawieniu głównych mechanizmów, zarówno biochemicznych jak i molekularnych, związanych z utrudnionym gojeniem ran u pacjentów po radio- i chemoterapii. Przedstawiliśmy również możliwości wykorzystania komórek macierzystych naskórka i tkanki tłuszczowej, oparte nie tylko na danych z pismiennicta, ale także na własnych doświadczeniach laboratoryjnych dotyczących komórek macierzystych i trudno gojących się ran u pacjentów onkologicznych.

Również **publikacja 3** jest przeglądem pismiennictwa z zakresu klinicznych aplikacji komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ASCs). Komórki te charakteryzują się m.in. właściwościami immunosupresyjnymi przy jednoczesnej niskiej immunogenności. Dlatego też stanowią atrakcyjny materiał do zastosowań klinicznych, np. w medycynie regeneracyjnej, autoimmunologii czy w indukcji tolerancji po przeszczepieniu. W tej pracy przedstawiliśmy bieżące zastosowanie kliniczne ASCs oraz przedyskutowaliśmy metody izolacji i hodowli ASCs. Omówiliśmy również różnicowanie komórek ASCs i MSCs na podstawie ich fenotypu oraz preferencji do różnicowania. Zwróciliśmy również uwagę na kwestie wymagające doprecyzowania, takie jak: wybór markerów charakterystycznych dla ASCs, opracowanie efektywnych i bezpiecznych metod pozyskiwania i hodowli ASCs do celów klinicznych oraz analizy bezpieczeństwa ASCs w terapiach rekonstrukcyjnych u pacjentów onkologicznych (np. po mastektomii).

Kolejna praca **(publikacja 4)** podejmująca temat mezenchymalnych komórek macierzystych w udarze mózgu, powstała w wyniku współpracy z Katedrą i Kliniką Neurologii GUMed. Komórki te ulegają aktywacji i uwalnianiu podczas udaru niedokrwiennego mózgu, czemu towarzyszy zwiększenie wydzielania enzymu – enolazy specyficznej dla neuronów (NSE - Neuron specific enolase). Szeroki panel doświadczalny, obejmujący analizy cytometryczne, testy ELISA oraz techniki obrazowania mózgu, pozwolił na wyciągnięcie szeregu wniosków.

Wykazaliśmy bowiem, że komórki mezenchymalne uwalniane i aktywowane w trakcie udaru mózgu, przedostają się w niewielkiej liczbie do krwi obwodowej, co umożliwia ich analizę. Ponadto, udało nam się wskazać enzym NSE jako potencjalny marker prognostyczny udaru mózgu.

5.3.4. Biologia i właściwości limfocytów Treg w transplantologii

1.	Trzonkowski P, Debska-Slizień A, Jankowska M, **Wardowska A**, Carvalho-Gaspar M, Hak Ł, Moszkowska G, Bzoma B, Mills N, Wood KJ, Myśliwska J, Rutkowski B. Immunosenescence increases the rate of acceptance of kidney allotransplants in elderly recipients through exhaustion of CD4+ T-cells. Mech Ageing Dev. 2010 Feb;131(2):96-104. doi: 10.1016/j.mad.2009.12.006. Epub 2010 Jan 12.	IF=4,857 *MNiSW: 32*
2.	Wang XJ, Leveson-Gower D, Golab K, Wang LJ, Marek-Trzonkowska N, Krzystyniak A, **Wardowska A**, Millis JM, Trzonkowski P, Witkowski P. Influence of pharmacological immunomodulatory agents on CD4(+)CD25(high)FoxP3(+) T regulatory cells in humans. Int Immunopharmacol. 2013 Jul;16(3):364-70. doi: 10.1016/j.intimp.2013.02.015. Epub 2013 Mar 13. Review.	IF=2,711 *MNiSW: 25*
3.	Grzanka J, Leveson-Gower D, Golab K, Wang XJ, Marek-Trzonkowska N, Krzystyniak A, **Wardowska A**, Mills JM, Trzonkowski P, Witkowski P. FoxP3, Helios, and SATB1: roles and relationships in regulatory T cells. Int Immunopharmacol. 2013 Jul;16(3):343-7. doi: 10.1016/j.intimp.2013.02.004. Epub 2013 Feb 18. Review.	IF=2,711 *MNiSW: 25*
4.	Żyłko A, **Wardowska A**, Trzonkowski P. Przeszczep skóry jako model zwierzęcy w badaniach funkcji limfocytów T regulatorowych. Medycyna Weterynaryjna 2018; 74(1):6034 DOI:10.21521/mw.6034	IF=0,280 *MNiSW: 15*

Pracując w Zakładzie Immunologii Klinicznej i Transplantologii GUMed byłam również zaangażowana w badania związane z biologią i potencjalnym zastosowaniem klinicznym limfocytów T regulatorowych w transplantologii.

Praca oryginalna (**publikacja 1**) z zakresu biologii limfocytów T regulatorowych powstała przy współpracy z Transplantation Research and Immunology Group (TRIG), Nuffield Department of Surgery Uniwersytetu Oksfordzkiego. Część badań do tego projektu miałam okazję wykonywać w ramach stażu naukowego pod opieką profesor Kathryn Wood (TRIG, Oxford). Projekt zakładał retrospektywną analizę wpływu starzenia układu immunologicznego (tzw. Immunosenescencji) u biorców nerki na ryzyko ostrego odrzucania alloprzeszczepu oraz potencjalne wskazanie biomarkerów tego procesu. Otrzymane dane wykazały, że biorcy nerki po 60 r.ż., bez epizodów ostrego odrzucania, wykazywali obniżenie aktywności układu immunologicznego, charakteryzujące się zmniejszoną liczbą limfocytów CD28+, słabszą proliferacją limfocytów CD4+ oraz skróconymi telomerami w tych komórkach. U osób młodych (poniżej 60 r.ż.) nie zaobserwowano takiej zależności. Na tej podstawie wysnuliśmy wniosek, że zjawisko immunsenescencji znacząco wpływa na zmniejszenie ryzyka reakcji immunologicznej w odpowiedzi na alogeniczny przeszczep nerki. Przy czym zjawisko to ogranicza się do tzw. seniorów, czyli osób po 60 r.ż.

Kolejne dwie prace (**publikacja 2 i 3**), powstałe w nurcie badań nad limfocytami T w transplantologii, to prace przeglądowe opisujące biologię i fenotyp limfocytów T regulatorowych. W **publikacji 2** podjęliśmy wątek wpływu powszechnie stosowanych w klinice związków immunomodulujących na ludzkie limfocyty Treg. Zagadnienie to jest niezwykle interesujące z transplantologicznego punktu widzenia, ponieważ komórki Treg, dzięki swojemu działaniu supresorowemu, mogłyby zapobiegać odrzucaniu przeszczepów narządowych. Niestety, otrzymywane obecnie w laboratoriach limfocyty Treg, nie stanowią wystarczającego zabezpieczenie przed odrzuceniem przeszczepionej tkanki. Mogą natomiast stanowić wsparcie dla obecnie stosowanej farmakoterapii. Dlatego też w tej pracy omówiliśmy wpływ wybranych immunosupresorów na aktywność Treg. Przegląd literatury wskazał kilka korzystnych kombinacji leków z komórkami, w tym tymoglobulinę (jako induktor immunosupresji) oraz inhibitory kinazy mTOR (jako czynniki podtrzymujące stan immunosupresji). Druga z prac przeglądowych (**publikacja 3**) skupiła się na aspektach regulacji molekularnej limfocytów Treg, niezbędnej do zachowania fenotypu immunosupresyjnego. Przedyskutowaliśmy w niej zależność pomiędzy ekspresją czynnika FoxP3 i dwóch czynników transkrypcyjnych: Helios i SATB1. Pierwszy z nich, przynależący do rodziny białek Ikaros, sprzyja ekspresji genu FoxP3, zwiększając jednocześnie ilość tego białka w limfocycie Treg. Z kolei SATB1 hamuje ekspresję FoxP3, co prowadzi do spadku ilości białka w komórce, a co za tym idzie utraty funkcji regulatorowych przez limfocyty Treg. Z klinicznego punktu widzenia, niezwykle istotny wydaje się sposób molekularnej regulacji różnicowania i funkcji limfocytów Treg.

W ramach projektów transplantologicznych wypracowaliśmy efektywny model przeszczepu skórnego u myszy. Technikę tą i jej istotne znaczenie w przedklinicznych badaniach transplantacyjnych opisaliśmy szczegółowo w **publikacji 4**. Praca ta może stanowić bazę metodologiczną dla wszystkich naukowców rozpoczynających badania na mysich modelach przeszczepów narządowych, ze względu na dokładny opis wykonywanych procedur poparty dokumentacją fotograficzną.

Książki/podręczniki

- Komórki macierzyste w medycynie regeneracyjnej i transplantologii. „Biomedycyna – wybrane aspekty", Red E. Brzeziańska-Lasota, Wydawnictwo Continuo, Wrocław, 2020. ISBN 978-83-62182-86-2
- Wardowska, M. Pikuła, M. Woźniak, L. Kalinowski. Toczeń rumieniowaty trzewny (SLE). „Przypadki laboratoryjno-kliniczne w medycynie praktycznej." Red. L. Kalinowski, MedPharm Polska, Wrocław, 2017. ISBN: 978-83-7846-098-5
- Wardowska, P. Trzonkowski. Role of Regulatory Subsets During Ageing. "Handbook of Imunosenescence", Eds. Fulop T, Franceschi C, Hirokawa K, Pawelec G. Springer International Publishing AG 2018. ISBN: 978-3-319-99375-1

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę = omówienie pozostałych osiągnięć

6.1. Kierowanie projektami badawczymi i udział w projektach

Granty, w których pełniłam rolę **KIEROWNIKA PROJEKTU:**

1. Grant finansowany przez Narodowe Centrum Nauki „Zmiany epigenetyczne w toczniu rumieniowatym trzewnym - znaczenie metylacji DNA" (2012/05/D/NZ5/01224). Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, grant Sonata, 2013 - 2018. Charakter udziału: **KIEROWNIK PROJEKTU**.

Granty, w których pełniłam/pełnię rolę wykonawcy/głównego wykonawcy:

Granty w trakcie realizacji:

2. Grant finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju "Systemy nowej generacji dostarczania molekuł bioaktywnych w syntetyzowanych chemicznie i poddanych inżynierii genetycznej nanobiomateriałach", realizacja konsorcjum BIONANOVA (Uniwersytet Gdański, Gdański Uniwersytet Medyczny, Politechnika Gdańska, Innovabion sp. z o.o). Charakter udziału: **wykonawca** zadania WP9: „Badania bezpieczeństwa biologicznego nanobiomateriałów oraz potencjału pro-regeneracyjnego na modelu ludzkich komórek, m.in. komórek macierzystych". Czas trwania projektu: 01.09.2019 - 31.08.2022; realizacja zadania WP9: 01.03.2020 - 28.02.2022 (7 - 30 m-c). Umowa nr TECHMATSTRATEG2/ 410747/11/NCBR2019.

3. Projekt w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój na lata 2014-2020 (Działanie 4.4); Inkubator Innowacyjności 2.0. „Nowe przeciwbakteryjne peptydomimetyki jako potencjalne leki wspomagające gojenie zakażonych ran". Koordynacja programu Centrum Transferu Technologii GUMed (realizacja 2019-2020, nr projektu: 2.0/1/2019). Charakter udziału: **wykonawca**.

4. Grant finansowany przez Narodowe Centrum Nauki „Inhibitory tworzenia kompleksu BTLA-HVEM jako potencjalne cele w immunoterapii nowotworów". Projekt we współpracy z Wydz. Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (kierownik: dr Marta Spodzieja). Projekt: 2017/26/D/ST5/00919, realizacja 2018-2021). Charakter udziału**: współwykonawca**.

5. Grant finansowany przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej „Keratinocyte-derived exosomes in the induction of allergy and tolerance to environmental allergens" (TEAM/2016-2/1, realizacja 2017 - 2019) Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed we współpracy z Gdańskim Uniwersytetem Medycznym (Zakład Embriologii) oraz Uniwersytetem w Oksfordzie (Weatherall Institute of Molecular Medicine, Oxford). Charakter udziału: **współwykonawca**.

Granty zakończone:

6. Grant finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju „Nowe technologie farmakologicznej stymulacji regeneracji" (konsorcjum naukowe REGENNOVA), realizowany

w ramach programu strategicznego „Profilaktyka i leczenie chorób cywilizacyjnych”, umowa nr: STRATEGMED1 /235077/9/NCBR/2014 (czas trwania: 01.10.2014 - 31.12.2018, łączna kwota projektu 17 769 556 PLN). Charakter udziału: **wykonawca** zadań WP4, WP5, WP6 z ramienia GUMed.

7. Grant finansowany przez Narodowe Centrum Nauki "Profil ekspresji genów w hodowlach ludzkich komórek progenitorowych naskórka i jego wpływ na powodzenie terapii ran u ludzi” (2011/03/D/NZ5/00555). Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, grant Sonata, 2012 – 2017. Charakter udziału: **wykonawca.**

8. Grant finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Analiza właściwości tolerogennych limfocytów T regulatorowych w przeszczepach narządowych w świetle ich wykorzystania jako terapii zmniejszającej ryzyko odrzutu aloprzeszczepów” (2011/01/B/NZ6/00332) Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, grant Opus, 2011 - 2016. Charakter udziału: **wykonawca.**

9. Grant finansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju „Nowe techniki medyczne oparte o immunoterapię” (N R13 0126 10). Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, grant rozwojowy, 2011 – 2013. Charakter udziału: **wykonawca**.

10. Grant finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Leczenie trudno gojących się ran u ludzi z zastosowaniem autologicznych przeszczepów hodowanych in vitro komórek macierzystych naskórka oraz keratynocytów” (N N403 089335). Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Katedra i Klinika Chirurgii Plastycznej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Grant własny ,2009 – 2013. Charakter udziału: **główny wykonawca**.

11. Grant finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego "Synteza i badania biologiczne nowych koniugatow muramylodipeptydu (MDP) i nor-muramylodipeptydu (nor-MDP) z pochodnymi tuftsyny i retro-tuftsyny jako potencjalnych związków przeciwnowotworowych i immunostymulacyjnych" (N N405 181135). Katedra Histologii i Immunologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Grant własny, 2008 – 2011. Charakter udziału: **główny wykonawca**.

12. Grant finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Opracowanie technik ekspansji ludzkich komórek regulatorowych $CD4^{+}25^{+}$ in vitro w aspekcie możliwości ich zastosowania w immunoterapii adoptywnej” (2 PO5A 100 30). Zakład Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Grant własny, 2008 – 2011. Charakter udziału: **wykonawca**.

13. Grant finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Immunomodulacyjne właściwości nowych analogów muramylodipeptydu (MDP) z tuftsyną” (N N401 217534). Katedra Histologii i Immunologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Grant promotorski, 2008 – 2010. Charakter udziału: **główny wykonawca**.

14. Grant finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego „Badanie immunomodulacyjnych właściwości nowych analogów tuftsyny z muramylodipeptydem

(MDP)" (2 PO5A 004 28). Katedra Histologii i Immunologii, Gdański Uniwersytet Medyczny, Grant własny, 2005 – 2008. Charakter udziału: **wykonawca**.

Prace własne GUMed:

1. Zadanie badawcze MN-71 „Mysi model przeszczepów skórnych w analizie tolerogennego działania limfocytów T regulatorowych", 2011-2012

6.2. Udział w konsorcjach naukowych:

1. Członek konsorcjum naukowego REGENNOVA powstałego w ramach współpracy i realizacji grantu NCBR STRATEGMED I „Nowe technologie farmakologicznej stymulacji regeneracji" projekt REGENNOVA. Skład Konsorcjum: Gdański Uniwersytet Medyczny, Uniwersytet Gdański, Politechnika Gdańska, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie, ProScience Polska, MedVentures. Charakter udziału: wykonawca zadań z ramienia GUMed.

2. Członek konsorcjum naukowego BIONANOVA powstałego w ramach grantu NCBiR TECHMATSTRATEG II „Systemy nowej generacji dostarczania molekuł bioaktywnych w syntetyzowanych chemicznie i poddanych inżynierii genetycznej nanobiomateriałach". Skład Konsorcjum: Gdański Uniwersytet Medyczny, Uniwersytet Gdański, Politechnika Gdańska, Innovabion Sp. z o.o. Charakter udziału: wykonawca zadania badawczego (WP9) z ramienia GUMed.

6.3. Doniesienie konferencyjne

Doniesienia konferencyjne – łącznie: 37
Konferencje międzynarodowe: 13
Konferencje krajowe: 24

- Pikuła M., Schumacher A., **Wardowska A.,** Deptuła M., Zieliński J., Tymińska A., Czerwiec K., Kondej K., Cichorek M. Adipose-derived stem cells: biological characterization and clinical implications. 53rd Symposium of Polish Society for Histochemistry and Cytochemistry: From ultrastructure to in vivo imaging: progress in microscopical techniques, Gdańsk, 15-18 September 2019.
- Komorniczak M., **Wardowska A.,** Bułło-Piontecka B., Trzonkowski P., Dębska-Ślizień A. Zmiany epigenetyczne w komórkach dendrytycznych u chorych na nefropatię toczniową. XIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Nefrologicznego, Poznań, 30 maja - 1 czerwca 2019.
- Dębska-Ślizień A., Komorniczak M., **Wardowska A.,** Bułło-Piontecka B., Trzonkowski P. Epigenetic changes in dendritic cells in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) with renal involvement.J. Am. Soc. Nephrol. 2018 : vol. 29, abs. suppl., s. 89
- Sachadyn P., Kamińska J., Langa P., **Wardowska A.,** Deptuła M., Zieliński J., Pikuła M. Transcriptional activity of epigenetic remodelling genes in human skin and regenerative capacity. 4th International Conference on Synthetic Biology and Tissue Engineering, Rome, Italy. 18-20 October 2018.
- Cichorek M., Schumacher A., Szamocka D., Zieliński M., **Wardowska A.,** Deptuła M., Tymińska A., Zieliński J., Pikuła M. Tkanka tłuszczowa jako źródło mezenchymalnych

komórek macierzystych/ Adipose tissue as the source of mesenchymal stem cells. 51. Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików: tkanki, komórki, geny, Warszawa, 12-14 września 2017.

- Pikuła M., Dzierżyńska M., **Wardowska A.,** Zieliński M., Langa P., Deptuła M., Schumacher A., Kasprzykowski F., Rodziewicz-Motowidło S. The immunological safety and biological activity of potential peptide-based therapeutics. 24th Polish Peptide Symposium, Jastrzębia Góra, Poland, September 3-7, 2017.
- Schumacher A., Zieliński M., Langa P., **Wardowska A.,** Deptuła M., Zieliński J., Cichorek M., Trzonkowski P., Pikuła M. Characterization of in vitro expanded human Adipose-derived stem cells: implication in regenerative medicine. European Cells and Materials Vol. 33 Suppl. 2, 2017 (P740). TERMIS European Chapter Meeting 2017 Personalised Therapies for Regenerative Medicine. 26 - 30 June, 2017, Davos, Switzerland.
- **Wardowska A.,** Deptuła M., Smużyńska M., Langa P., Zieliński J., Kasprzykowski F., Rodziewicz-Motowidło S., Pikuła M. Immunoregulatory and anti-microbial Cystapep 1 peptidomimetic: novel strategies of drug design to promote wound healing. European Cells and Materials Vol. 33 Suppl. 2, 2017 (P783). TERMIS European Chapter Meeting 2017 Personalised Therapies for Regenerative Medicine. 26 - 30 June, 2017, Davos, Switzerland.
- Schumacher A., Zieliński M., **Wardowska A.,** Nowicka E., Zieliński J., Cichorek M., Pikuła M. Impact of culture media on the proliferation and antigen expression of human adipose-derived stem cells. XII Copernican International Young Scientists Conference, Toruń, Poland, 28-30 June, 2017.
- Schumacher A., Zieliński M., Langa P., **Wardowska A.,** Zieliński J., Kondej K., Cichorek M., Trzonkowski P., Pikuła M. In vitro differentiation of adipose-derived stem cells: implications for tissue engineering and regenerative therapy. XII Copernican International Young Scientists Conference, Toruń, Poland, 28-30 June, 2017.
- Pikuła M., Smużyńska M., Krzystyniak A., Zieliński M., Langa P., **Wardowska A.,** Kasprzykowski F., Trzonkowski P., Rodziewicz-Motowidło S. Cystatin C peptidomimetic derivative with immunoregulatory properties as a potential compound against wound infections: novel strategies for the safety assessment of peptides-based drugs. The XVIth Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology, Warsaw, June 8-10, 2017. Centr. Eur. J. Immunol. 2017; vol. 42, suppl. 1, s. 89
- **Wardowska A.,** Smoleńska Ż., Pikuła M., Trzonkowski P. The characteristics of blood cell subsets alternations in systemic lupus erythematosus (SLE). The XVIth Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology, Warsaw, June 8-10, 2017. Centr. Eur. J. Immunol. 2017; vol. 42, suppl. 1, s. 43-44.
- Pikuła M., Schumacher A., Zieliński M., Langa P., **Wardowska A.,** Kondej K., Zieliński J., Cichorek M., Trzonkowski P. Adipose-derived stem cells in basic research and clinical applications. Chir. Plast. Oparz. 2016; t. 4, nr 3, s. 124. Konferencja „Kompleksowe leczenie otyłości – od dietetyka do plastyka. Gdańsk, 21-22.10.2016. Centr. Eur. J. Immunol. 2017; vol. 42, suppl. 1, s. 89
- Langa P., Pikuła M., Savkovic V., **Wardowska A.,** Zieliński J., Kondej K., Hedrych-Ozimina A., Tarnok A., Trzonkowski P. Flow cytometry as a tool to analyze the impact of digestion reagents on primary epidermal cells. CYTO 2016: 31st Congress of the International Society for Advancement of Cytometry, Washington, USA, June 11 - 15, 2016.
- **Wardowska A.,** Smoleńska Z., Pikuła M., Zielinski M., Trzonkowski P. The characteristics of antigen presenting cells in systemic lupus erythematosus (SLE) 10th International Congress of Autoimmunity 6-10 April 2016 Lepizig, Germany,

- Pikuła M., Langa P., **Wardowska A.,** Zieliński J., Kondej K., Hedrych-Ozimina A., Trzonkowski P. Fibrin glue as a carrier for cultured human epidermal progenitor cells for cellular therapy of non-healing wounds. Eur. Cells Mater. 2016; vol. 31, suppl. 1, s. P282. Towards Future Regenerative Therapies TERMIS-EU 2016 Conference, Uppsala, Sweden, 28 June - 1 July, 2016.
- Langa P., Pikuła M., Krzystyniak A., Zieliński J., **Wardowska A.,** Hellmann A., Trzonkowski P. Utilization of stained gold nanoparticles in gene expression analysis. 20th Leipziger Workshop Translational Cytomics; 13th International Workshop "Slide-Based Cytometry", Leipzig, March 04-06, 2015.
- Pikuła M., Langa P., **Wardowska A.,** Zieliński J., Kondej K., Renkielska A., Trzonkowski P.: Medical applications of epidermal progenitor cells. Central European Conference on Regenerative Medicine, Bydgoszcz, Poland, 14-15 March 2015
- Pikuła M., **Wardowska A.,** Langa P., Zieliński J., Kondej K., Renkielska A., Trzonkowski P.: Komórki progenitorowe naskórka w terapii trudno gojących się ran. Non-healing wounds therapy with use of epidermal progenitor cells. X Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Sekcji Immunotoksykologii i Immunomodulacji Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, I Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej : Współczesne wyzwania biologii i medycyny, Jurata, 26-31 maja 2015 r.
- Langa P., Pikuła M., Kondej K., **Wardowska A.,** Zieliński J., Renkielska A., Trzonkowski P. Epidermal progenitor cell culture and quality control using flow cytometry: a way to improve chronic wounds cell therapy. XXIX Congress of the International Society for Advancement of Cytometry: Cytometry Advancing Science, Ft. Lauderdale, USA, May 17-21, 2014.
- Trzonkowski P., **Wardowska A.,** Rogalska M., Dzierzbicka K. „New conjugates of muramyl dipeptide and nor-muramyl dipeptide linked to tuftsin and retro-tuftsin derivatives significantly influence their biological activity" XIV Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Gdańsk, Polska 16-19.06.2011
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Menderska A., Trzonkowski P. „Chemical modification of natural immunomodulators tuftsin and muramyl dipeptide significantly influence their biological activity" Peptides 2010. Tales of Peptides Proceedings of the Thirty-First European Peptide Symposium, Copenhaagen, Denmark, 5-9.09.2010
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Rogalska M., Trzonkowski P. „Conjugates of tuftsin and muramyl dipeptide as stimulators of monocyte-derived dendritic cells" Peptides 2010. Tales of Peptides Proceedings of the Thirty-First European Peptide Symposium, Copenhaagen, Denmark, 5-9.09.2010
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Menderska A., Trzonkowski P. „Koniugaty tuftsyny i muramylodipeptydu jako stymulatory ludzkich komórek dendrytycznych uzyskiwanych z monocytów" XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja polska na tle Unii Europejskiej", Gdańsk, Polska, 12-15.09.2010
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Rogalska M., Trzonkowski P. „Wpływ modyfikacji chemicznych na aktywność biologiczną naturalnych immunomodulatorów – tuftsyny i muramylodipeptydu oraz ich pochodnych" XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja polska na tle Unii Europejskiej", Gdańsk, Polska, 12-15.09.2010
- Dzierzbicka K., **Wardowska A.,** Kukowska-Kaszuba M., Myśliwski A. „Synthesis of conjugates of MDP and nor-MDP linked to tuftsin derivatives as potential immunomodulators" 30th European Peptide Symposium, Helsinki, Finland 31.08-05.09.2008

- **Wardowska A.,** Szaryńska M., Trzonkowski P., Dzierzbicka K., Myśliwski A. „The influence of new MDP and tuftsin analogs on cytokine levels in experimentally induced sepsis" 13th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, Gdansk, Poland 23-27.08.2008
- **Wardowska A.,** Szaryńska M., Trzonkowski P., Dzierzbicka K., Myśliwski A. „Immunomodulation of macrophages activity in murine becteremia model" 13th Congress of Polish Society of Clinical and Experimental Immunology, Krakow, Poland 14-17.05.2008
- Szaryńska M., **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Myśliwska J., Myśliwski A. „Different subpopulations of dendritic cells and various ways of their activity regulation" 4th Conference and Workshop „Immunomodulation – experimental and clinical studies" Jurata, Poland 25-26.05.2007
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Myśliwski A. „Immunomodulatory properties of new analogs of muramyl dipeptide and tuftsin" 15th International Student Scientific Conference, Gdansk, Poland 10-12.05.2007
- Myśliwski A., **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Trzonkowski P. „New immunomodulators expressing the stymulatory properties of both muramyl dipeptide (MDP) and tuftsin" 16th European Congress of Immunology, Paris, France 6-9.10.2006
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Trzonkowski P., Myśliwski A. „New immunomodulators displaying activity of both muramyl dipeptide and tuftsin" 3rd Conference and Workshop „Immunomodulation and Immunotoxicology", Jurata, Poland 02-03.06.2006
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Myśliwski A. „The biological activity of new tuftsin derivatives – induction of phagocytosis", 5th Multidisciplinary Conference on Drug Research, Darłówko Wschodnie, Poland 15-17.05.2006
- **Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Trzonkowski P., Myśliwski A. „Biological activity of tuftsin and its two analogues", 3rd International Conference of Students' Scientific Society „Medical and Biological Sciences", Bydgoszcz, Poland 02-03.12.2005
- **Szelągowska-Wardowska A.,** Dzierzbicka K., Trzonkowski P., Myśliwski A. „Immunomodulatory properties of conjugates of muramyl dipeptide or nor-muramyl dipeptide with retro-inverso tuftsin and tuftsin analogs", 2nd Polish Molecular Biotechnology Conference, Gdansk, Poland 14-15.10.2005
- **Szelągowska A.** "Immunomodulatory properties of new conjugates of muramyl dipeptide or nor-muramyl dipeptide with retro-inverso tuftsin and tuftsin analogs", 13th International Scientific Students' Conference for Students and Young Doctors, Gdansk, Poland 12-14.05.2005 (master degree session)
- **Szelągowska A.,** Meyer-Szary J., Woźniak M., Greci L. "QAL – quinolinic aminoxyl as a molecular sensor of peroxidative activity of cytochrome P-450 2B1" 11th International Scientific Students' Conference for Students and Young Doctors, Gdansk, Poland 09-10.05.2003

6.4. Zgłoszenia patentowe

1.	P.431237 z dnia 21.09.19. Nowy peptyd do zastosowania jako stymulator chondrogenezy i lek w terapii uszkodzeń chrząstki. Mucha P, Pikuła M, Załuska I, Schumacher A, Cichorek M, Wardowska A, Deptuła M, Skowron P, Czupryn A, Janus Ł, Mieczkowska A, Filipowicz N, Madanecki P, Piotrowski A, Sachadyn P, Rodziewicz-Motowidło S.
2.	P.425597 z dnia 16.05.18. Nowe związki peptydowe jako czynniki stymulujące gojenie ran i rekonstrukcji skóry. Rodziewicz-Motowidło S, Sawicka J, Dzierżyńska M, Kasprzykowski F, Karpowicz P, Iłowska E, Wardowska A, Deptuła M, Langa P, Sachadyn P, Sosnowski P, Sass P, Czupryn A, Piotrowski A, Mucha P, Skowron P, Janus Ł, Pikuła M.
3.	P.425351 z dnia 24.04.18. Peptyd IM o sekwencji RDKVYR jako czynnik stymulujący regenerację tkanki złożonej. Rodziewicz- Motowidło S, Pikuła M, Sawicka J, Rogujski P, Deptuła M, Wardowska A, Dzierżyńska M, Czupryn A, Filipowicz N, Sosnowski P, Sass P, Mieczkowska A, Madanecki P, Piotrowski A, Mucha P, Skowron P, Janus Ł, Sachadyn P.
4.	EP18000305.5 z dnia 30.03.18. New peptide derivatives of platelet derived growth factor (PDGF), a method for their preparation, pharmaceutical compositions containing them and application of these compositions. Rodziewicz-Motowidło S, Pikuła M, Deptuła M, Karpowicz P, Sass P, Wardowska A, Sawicka J, Dzierżyńska M, Kasprzykowski F, Sosnowski P, Mieczkowska A, Filipowicz N, Madanecki P, Piotrowski A, Czupryn A, Mucha P, Skowron P, Janus Ł, Sachadyn P.
5.	P.425038 z dnia 26.03.18. Nowe peptydowe pochodne płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF), sposób ich otrzymywania, kompozycja farmaceutyczna oraz zastosowanie. Rodziewicz-Motowidło S, Pikuła M, Deptuła M, Karpowicz P, Sass P, Wardowska A, Sawicka J, Dzierżyńska M, Kasprzykowski F, Sosnowski P, Mieczkowska A, Filipowicz N, Madanecki P, Piotrowski A, Czupryn A, Mucha P, Skowron P, Janus Ł, Sachadyn P.

6.5. Współpraca z jednostkami naukowymi

1. Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej GUMed
2. Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej GUMed
3. Katedra i Klinika Chirurgii Plastycznej GUMed
4. Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych GUMed
5. Pracownia Biotechnologii Regeneracyjnej, Katedra Biotechnologii Molekularnej i Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej
6. Katedra Biotechnologii Molekularnej Uniwersytetu Gdańskiego
7. Katedra Chemii Medycznej Uniwersytetu Gdańskiego
8. Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie
9. Międzynarodowa Agenda Badawcza (MAB) – GUMed i Uniwersytet w Uppsali
10. Department of Clinical Chemistry, Lund University (Szwecja)
11. Weatherall Institute of Molecular Medicine, University of Oxford (Wielka Brytania)

6.6. Członkostwo w Towarzystwach Naukowych:

1. Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej
2. Międzynarodowe Towarzystwo Inżynierii Tkankowej i Medycyny Regeneracyjnej - TERMIS
3. Międzynarodowe Towarzystwo Przeszczepienia Narządów – ESOT
4. Polskie Towarzystwo Histochemii i Cytochemii

6.7. Recenzowanie publikacji w czasopismach naukowych:

1. Biocell – IF 0,633
2. International Immunopharmacology – IF 3,361
3. International Journal of Molecular Sciences – IF 4,183
4. Journal of Clinical Medicine – IF 5,688
5. Nutrients – IF 4,171
6. Medicina – IF 1,467
7. Molecules – IF 3,060
8. Scientfic Reports – IF 4,122
9. Regulatory Peptides – IF 1,813
10. Theranostics - IF 8,063

6.8. Udział w organizacji zjazdów naukowych:

1. Członek Komitetu Organizacyjnego 14-tego Zjazdu Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Gdańsk, 16-18.06.2011
2. Członek Komitetu Organizacyjnego 13-tego Międzynarodowego Kongresu Towarzystwa Histochemii i Cytochemii „ICHC2008", Gdańsk, 23-28.08.2008

6.9. Odbyte szkolenia i staże naukowe

Szkolenia

1. 22.07-23.07.2020 – szkolenie cytometryczne z wykorzystaniem sprzętu CytoFLEX, Beckman Coulter i oprogramowania Kaluza – DiagMed, Gdański Uniwersytet Medyczny
2. 29.05-02.06.2017 – szkolenie „Computational Genomics and Genetics and Genomics in Clinical Research, dr David Crossman, dr Michael Crowley Heflin Center Genomics Core (Department of Genetics, University of Alabama at Birmingham), Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
3. 15.05-17.05.2017 warsztaty mikroskopowe „Mikroskopia konfokalna – zastosowanie skanera rezonansowego w szybkich badaniach przeżyciowych", Olympus Polska, Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego
4. 24.01.2017 szkolenie z użytkowania urządzenia Magpix: praca z oprogramowaniem xPotent v. 4.2 i Milliplex Analyst v. 5.1 (analiza białek) – Merck, Gdański Uniwersytet Medyczny

5. 25.11.2016 szkolenie aplikacyjne z obsługi aparatu LightCycler 96, Roche Diagnostics Polska, Gdański Uniwersytet Medyczny
6. 14.10.2016 seminarium naukowe Darmacon, Abo, Gdański Uniwersytet Medyczny – interferencja RNA i technologia CRISP/Cas9: Fundamentals of CRISP-Cas9 Gene Editing, A comparison of RNAi and gene editing, Consideration for a CRISP-Cas9 experiment.
7. 23.06-24.06.2016 – Warsztaty Spektrometrii Mass „Warsztat Genomiczny", MOBI4Health, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed
8. 21-25.09.2015 szkolenie doskonalące dla osób wykonujących czynności związane z wykorzystywaniem zwierząt do celów naukowych lub edukacyjnych, Gdański Uniwersytet Medyczny
9. Dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń oraz za ich przeprowadzanie (2015-1911-206-144)
   - Dla osób wykonujących procedury (2015-1913-208-162)
   - Dla osób uczestniczących w wykonywaniu procedur (2015-1914-207-169)
   - Dla osób uśmiercających zwierzęta wykorzystywane w procedurach (2015-1915-209-163)
10. 08.06.2015 Active Motif seminar: "Ensuring ChIP-seq success", "Toolbox for studying non coding RNAs", Medical University of Gdansk
11. 13.12.2011 The instrument and software training on the ImmunoSpot® Series 6 Ultra V-Analyzer, ImmunoSpot® 5.0.Analysis Software and the ImmunoUV Image Acquisition Software, Medical University of Gdansk
12. 01.07-02.07.2010 The Basic Course in Laboratory Skills of EBSOT (The European Basic Science in Organ Transplantation), Nantes Univeristy Medical School, Francja – szkolenie z zakresu ekspansji i analizy ludzkich i zwierzęcych komórek dendrytycznych
13. 15.06-16.06.2007 IV Szkoła Letnia Komórki Macierzystej – Fundacja Ośrodka Transplantacji „Dar Nadziei" oraz Zakład Transplantologii Katedry Immunologii Klinicznej i Transplantologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
14. 16.06-23.07.2006 XII-ta Letnia Szkoła Biotechnologii – Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-AMG, Centrum Doskonałości BioMoBil oraz ScanBalt Knowledge Network
15. 12.05.2006 Kurs z zakresu barwienia preparatów histologicznych metodami: hematoksyliną i eozyną, Mallory'ego, May-Grunwald'a i Giemsy, Pracownia Preparatyki Histologicznej, Katedra Histologii i Immunologii Akademii Medycznej w Gdańsku
16. 06.02-20.02.2006 Szkolenie z zakresu pracy na zwierzętach w immunomodulacji – Zakład Immunologii Katedry Terapii Doświadczalnej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu
17. 02.06 – 30.06.2003 Praktyka zawodowa - Pracownia Biologii Molekularnej Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Gdańsku

Staże naukowe

1. 01.02–27.02.2009, 15.10.–14.11.2008 Transplantation Research Immunology Group, Nuffield Department of Surgery, University of Oxford
   Efektem stażu naukowego jest praca oryginalna opublikowana w 2010 roku w czasopiśmie *Mechanisms of Ageing and Development*, IF=4,857 (autoreferat str. 29).
2. 06.02-20.02.2006 Zakład Immunologii Katedry Terapii Doświadczalnej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu

6.10. Nagrody i wyróżnienia naukowe

- Nagroda zespołowa naukowa II stopnia Rektora GUMed za rozwój analizy transkryptomicznej komórek macierzystych tkanki tłuszczowej z użyciem unikatowych modeli bioinformatycznych, Gdańsk, 2019
- Dyplom przyznany przez Rektora GUMed za osiągnięcia naukowe zespołowe II stopnia za badania endogennych komórek macierzystych/progenitorowych we krwi obwodowej pacjentów z ostrym udarem niedokrwiennym mózgu, Gdańsk, 2019
- Nagroda zespołowa naukowa II stopnia Rektora GUMed za badania nad mechanizmami działania leków przeciwnowotworowych i powstawania oporności, Gdańsk, 2018
- Nagroda zespołowa dydaktyczna I stopnia Rektora GUMed za współautorstwo podręcznika „Przypadki laboratoryjno-kliniczne w medycynie praktycznej", Gdańsk, 2018
- Nagroda zespołowa naukowa II stopnia Rektora GUMed za badania układu odpornościowego biorców nerki w wieku podeszłym, Gdańsk, 2011
- Nagroda Międzynarodowego Towarzystwa Przeszczepienia Narządów – 2010 ESOT Basic Science Travel Grant, 2010
- Nagroda Rektora GUMed za wyróżnioną pracę doktorską „Immunomodulacyjne właściwości nowych analogów muramylodipeptydu (MDP) z tuftsyną", Gdańsk, 2010
- II miejsce w konkursie na najlepszy plakat na III Konferencji Szkoleniowej „Immunomodulacja i Immunotoksykologia" w Juracie za pracę pt. „Nowe immunomodulatory wykazujące aktywność muramylodipeptydu i tuftsyny", Jurata, 2006
- Wyróżnienie na III Międzynarodowej Konferencji Studenckiego Towarzystwa Naukowego w Bydgoszczy „Postępy w naukach biomedycznych i medycynie" za pracę pt. „Aktywność biologiczna tuftsyny i jej dwóch analogów", Bydgoszcz, 2005

6.11. Działalność dydaktyczna

2018 – obecnie	Przedmiot Embriologia; seminaria i ćwiczenia; I rok kierunek lekarski polsko- i anglojęzyczny, położnictwo, Wydział Lekarski GUMed oraz Wydział Nauk o Zdrowiu GUMed
2014 – 2018	zajęcia dydaktyczne ze studentami II roku Wydziału Lekarskiego GUMed, II English Division oraz studentami II i IV roku Wydziału Farmaceutycznego GUMed – specjalność Analityka Medyczna, udział w przygotowaniu testów na egzaminy; przedmiot: Immunologia i Immunopatologia laboratoryjna; język wykładowy: polski, angielski
2009 – 2013	zajęcia dydaktyczne ze studentami IV roku Wydziału Lekarskiego GUMed oraz studentami II roku Wydziału Farmaceutycznego GUMed – specjalność Analityka Medyczna, udział w przygotowaniu testów na egzaminy; przedmiot: Immunologia i Immunopatologia laboratoryjna; język wykładowy: polski
2006 – 2008	zajęcia dydaktyczne ze studentami kierunku lekarskiego English Division I roku Wydziału Lekarskiego AMG; udział w przygotowywaniu prezentacji multimedialnych na ćwiczenia, testów na kolokwia i egzaminy; przedmiot: Histology; język wykładowy: angielski
2006 – 2008	zajęcia fakultatywne (praktyczne) za studentami I roku Wydziału Lekarskiego i Wydziału Farmaceutycznego AMG; tematy: „Metody barwienia komórek i tkanek, Teoria i praktyka”, „Zasady morfometrii i cytometrii. Ich zastosowanie w badaniach naukowych i diagnostyce medycznej”'; przygotowywanie rozmazów krwi
2005 – 2008	zajęcia dydaktyczne ze studentami I roku Wydziału Lekarskiego AMG oraz studentami kierunku Zdrowie Publiczne – specjalność – Techniki Medyczne – Elektroradiologia, Fizjoterapia; udział w przygotowywaniu testów na kolokwia i egzaminy; przedmiot: Histologia z cytofizjologią; język wykładowy: polski

6.12. Popularyzacja nauki i opieka nad magistrantami

1. Medyczny Dzień Nauki - organizacja stoiska popularnonaukowego dla młodzieży „Nowoczesne terapie biologiczne”, Gdańsk, 26.05.2017
2. Projekt Zdolni z Pomorza przeznaczony dla uczniów szkół ponadgimnazjalnych realizowany w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Pomorskiego na lata 2016-2021 (charakter udziału: koordynator naukowy i wykonawca pierwszego cyklu zajęć dotyczącego komórek macierzystych), Gdańsk, 05.11.2016
3. Opiekun pracy mgr. Patrycja Dawid , Odział Medycyny Laboratoryjnej, Analityka Medyczna, tytuł „Analiza fenotypowa limfocytów B u pacjentów z toczniem rumieniowatym trzewnym” rok 2016, praca finansowana z 2012/05/D/NZ5/01224.

6.13. Plany naukowe

Moje plany naukowe związane są z dalszym badaniem zjawisk molekularnych w komórkach układu immunologicznego w przebiegu tocznia rumieniowatego trzewnego. Głównym celem moich przyszłych badań jest bliższe poznanie mechanizmów epigenetycznych związanych z obserwowanymi w toczniu zmianami patologicznymi. Wśród zjawisk wzbudzających moje duże zainteresowanie znajdują się modyfikacje epigentyczne RNA wchodzące w zakres epitranskryptomiki. Doniesienia z ostatnich lat wykazały, że nie tylko metylacja DNA i remodeling chromatyny mogą w znacznym stopniu prowadzić do zmiany wzorca epigenetycznego komórki, a co za tym idzie zmiany stopnia i sposobu jej pobudzenia. Wśród zjawisk skupiających uwagę naukowców jest jedna z modyfikacji cząsteczki RNA – metylacja adenozyny - N^6-Metyladenozyna –m6A, której przypisuje się znaczącą rolę m.in. w onkogenezie. Podejrzewa się również, że m6A RNA może być powiązana z zaburzeniami w aktywności i funkcji układu immunologicznego, prowadzących do zjawisk autoimmunologicznych. Ze względu na brak jakichkolwiek danych dotyczących występowania m6A RNA w toczniu rumieniowatym trzewnym, złożyłam wniosek projektowy w ramach konkursu OPUS19 Narodowego Centrum Nauki. Celem tego projektu jest wykrycie i ocena modyfikacji m6A w RNA komórek immunologicznych z krwi obwodowej pacjentów z SLE. Jednocześnie planuje rozwijać dotychczasowe badania w celu precyzyjnego określenia sposobu epigenetycznej regulacji ekspresji genów w komórkach dendrytycznych pacjentów z toczniem.

Oświadczam, iż nie ubiegałam się dotychczas o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Anna Wardowska