



COLLEGIUM MEDICUM
Uniwersytet Jana Kochanowskiego



AUTOREFERAT

dr n. med. Tomasz Wollny

Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach
Dział Diagnostyki i Terapii Gastroenterologicznej

Kielce 2023

Spis treści

1.	Imię i nazwisko	4
2.	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	4
3.	Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych	4
4.	Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)	5
4.1.	Tytuł osiągnięcia naukowego	6
4.2.	Wykaz publikacji stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego	6
4.3.	Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wraz z omówieniem ich potencjalnego wykorzystania.	8
4.4.	Omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.	11
4.5.	Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych	17
4.5.1.	Badania nad rolą serotoniny w rozwoju nadciśnienia tętniczego u pacjentów z niewydolnością nerek.	17
4.5.2.	Wpływ podawania heparyny i aspiryny na powstawania skrzepu i powikłania krwotoczne.	18
4.5.3.	Rola tlenu azotu w zakrzepicy żyłnej i tętniczej oraz w hemostazie.	19
4.5.4.	Udział sfingolipidów i mediatorów zapalenia w karcynogenezie oraz ich rola jako markerów chorób i punktów uchwytu leków.....	22
4.5.5.	Znaczenie naturalnych peptydów przeciwbakteryjnych i ich analogów z grupy ceragenin w karcynogenezie i rozwoju nowych terapii przeciwnowotworowych i przeciwdrobnoustrojowych.	24
4.5.6.	Rola metabolitów tryptofanu oraz flory jelitowej w powstawaniu objawów oraz leczeniu zespołu jelita nadwrażliwego (IBS).	30
4.6.	Bibliografia	32
5.	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	36
6.	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.	36
6.1.	Działalność dydaktyczna.....	36
6.2.	Działalność organizacyjna	36

6.3.	Działalność popularyzująca naukę.....	37
7.	Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej	38
7.1.	Nagrody za działalność naukową lub artystyczną	38
7.2.	Działalność edytorska i recenzencka	38
7.3.	Inne	39

1. Imię i nazwisko

Tomasz Wollny

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

1993 Dyplom lekarza, Akademia Medyczna w Białymstoku, Wydział Lekarski.

1998 Stopień doktora nauk medycznych, Akademia Medyczna w Białymstoku, Wydział Lekarski.

Temat pracy doktorskiej: „Badania na wpływem hemolizy na czas krwawienia u szczura”

promotor: prof. dr hab. Włodzimierz Buczek

recenzenci: prof. dr hab. Maria Kopeć

dr hab. Anna Bodzenta-Lukaszyk.

2000 Tytuł lekarza chorób wewnętrznych, Akademia Medyczna w Białymstoku, Klinika Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych

kierownik specjalizacji: prof. dr hab. Grażyna Rydzewska.

2004 Tytuł specjalisty chorób wewnętrznych, Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach, Dział Endokrynologii i Jodoterapii

kierownik specjalizacji: dr hab. Aldona Kowalska, prof. UJK.

2009 Tytuł specjalisty w dziedzinie gastroenterologii i hepatologii. Wojewódzki Szpital Bródnowski w Warszawie, Klinika Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych

kierownik specjalizacji: Prof. dr hab. Mirosław Jarosz.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

1993 – 1998 Akademia Medyczna w Białymstoku – asystent w Zakładzie Farmakodynamiki.

1993 – 1994	Akademia Medyczna w Białymstoku, Wydział Farmacji i Oddział Analityki Medycznej – wykładowca.
1994 – 1997	Consorzio Mario Negri Sud, Santa Maria Imbaro, Włochy – stypendysta w Laboratorium Farmakologii Zakrzepicy.
1997 – 1998	Akademia Medyczna w Białymstoku, Wydział Farmacji i Oddział Analityki Medycznej – wykładowca.
1998 – 2000	Akademia Medyczna w Białymstoku – asystent w Klinice Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych.
1998 – 2000	Akademia Medyczna w Białymstoku, Wydział Lekarski – wykładowca.
2000 – nadal	Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach – kierownik Działu Diagnostyki i Terapii Gastroenterologicznej.
2019 – 2022	Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Wydział Lekarski – wykładowca.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 4 jednotematycznych publikacji w tym 1 praca poglądowa i 3 prace oryginalne opublikowane w czasopismach o łącznym impact factor (IF) wg Journal Citation Reports 13,382 punktów i punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) 340 punktów.

Celem badań opisanych w tym rozdziale rozprawy habilitacyjnej była ocena roli sfingolipidów oraz ich współdziałania z cząsteczkami biorącymi udział w rozwój procesu zapalnego (tj. peptydu LL-37 i gelsoliny osoczowej) w patogenezie wybranych chorób zapalnych przewodu pokarmowego (ostrego zapalenia trzustki, nieswoistych zapalnych chorób jelit) oraz niektórych nowotworów (raka pęcherza, raka jelita grubego i raka płuca).

Wkład autorski w każdą z niżej wymienionych prac został określony poniżej. Zgody od współautorów na wykorzystanie prac w przygotowaniu rozprawy habilitacyjnej wraz z pełnymi tekstami prac stanowią załącznik numer 5.

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Znaczenie bioaktywnych sfingolipidów, katelicyny LL-37 i gelsoliny osoczowej w patogenezie wybranych chorób przewodu pokarmowego oraz nowotworów

4.2. Wykaz publikacji stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

Elektroniczne pełnotekstowe wersje publikacji są dostępne w linkach wyróżnionych w tekście kolorem niebieskim i podkreśleniem.

Publikacja 1 [P1]

Wollny T., Wątek M., Durnaś B., Niemirowicz K., Piktel E., Zendzian-Piotrowska M., Góźdz S., Bucki R. Sphingosine-1-Phosphate Metabolism and Its Role in the Development of Inflammatory Bowel Disease. Int J Mol Sci 2017;18(4), 741; doi: [10.3390/ijms18040741](https://doi.org/10.3390/ijms18040741)

IF= 3,687
MEiN=30

Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wybór/poszukiwanie literatury, zredagowanie pierwszej i ostatecznej wersji manuskryptu, przesłanie manuskryptu do redakcji i odpowiedź na uwagi recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 70 %.

Publikacja 2 [P2]

Wollny T., Wątek M., Wnorowska U., Piktel E., Góźdz S., Kurek K., Wolak P., Król G., Zendzian-Piotrowska M., Bucki R. Hypogelsolinemia and Decrease in Blood Plasma Sphingosine-1-Phosphate in Patients Diagnosed with Severe Acute Pancreatitis. Dig Dis Sci 2022; 67, 536-545; doi: [10.1007/s10620-021-06865-y](https://doi.org/10.1007/s10620-021-06865-y)

IF=3,1
MEiN =70

Mój wkład: opracowanie koncepcji i planu pracy, zaplanowanie doświadczeń, zbieranie materiału klinicznego, udział w wykonaniu doświadczeń, interpretacja wyników badań, przygotowanie pierwszej i ostatecznej wersji manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

Publikacja 3 [P3]

Wollny T., Wnorowska U., Piktel E., Suprewicz Ł., Król G., Głuszek K., Góźdz S., Kopczyński J., Bucki R. Sphingosine-1-Phosphate-Triggered Expression of Cathelicidin LL-37 Promotes the Growth of Human Bladder Cancer Cells. Int. J. Mol. Sci. 2022; 23(13), 7443; doi: [10.3390/ijms23137443](https://doi.org/10.3390/ijms23137443)

IF=5,6

MEiN =140

Mój wkład: udział w opracowaniu koncepcji pracy, zaplanowanie doświadczeń, zbieranie materiału klinicznego, udział w wykonaniu doświadczeń, interpretacja wyników badań, napisanie manuskryptu, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów.

Mój udział procentowy szacuję na 65%.

Publikacja 4 [P4]

Wollny, T., Suprewicz, L., Smok-Kalwat, J., Antczak, G., Piktel, E., Góźdz, S., Durnaś B., Bucki, R. Monitoring Inflammation in Patients Diagnosed with Non-small Cell Lung Cancer and Colorectal Cancer using Blood Levels of C-reactive protein, Procalcitonin, and Plasma Gelsolin. Studia Medyczne. 2023; 39(2), 103-113; doi: doi.org/10.5114/ms.2023.129100

IF=0,4

MEiN =100

Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie doświadczeń, zbieranie materiału klinicznego, udział w wykonaniu doświadczeń, interpretacja wyników badań, analiza statystyczna, przygotowanie rycin, przygotowanie pierwszej i ostatecznej wersji manuskryptu, przesłanie manuskryptu do redakcji, przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Łączna punktacja 4 publikacji zgłoszonych w postępowaniu habilitacyjnym:

IF = 12,787; MEiN = 340

4.3. Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wraz z omówieniem ich potencjalnego wykorzystania.

Grupa bioaktywnych lipidów obejmuje różnorodną grupę cząsteczek, do której zaliczamy między innymi metabolity kwasu arachidonowego, kwasu fosfatydowego, czynnik aktywujący płytki krwi, lizofosfolipidy, oraz sfingolipidy (SL) [1]. Te ostatnie, przez wiele lat po ich odkryciu w 1884 roku przez niemieckiego biochemika J. L. Thudichuma [2], traktowano jako strukturalny budulec błon komórkowych. Jednak badania ostatnich lat dostarczyły obserwacji pozwalających zaliczyć je do grupy istotnych cząsteczek regulatorowych procesy wzrostu, różnicowania, migracji i śmierci komórek [3, 4]. Sfingolipidy mogą być syntetyzowane drogą *de novo* lub mogą pochodzić z hydrolizy złożonych lipidów, głównie sfingomieliny (SM), która jest obecna w błonach plazmatycznych wszystkich komórek człowieka [5].

Ceramid (CER), który powstaje w wyniku kondensacji seryny i palmitoilo-CoA lub w trakcie rozpadu glikosfingolipidów, odgrywa centralną rolę w metabolizmie SL. Wykorzystując aktywność co najmniej trzech rodzajów ceramidaz, które mają odmienne lokalizacje komórkowe, CER jest metabolizowany do sfingozyny, która w wyniku fosforylacji przez jedną z dwóch kinaz sfingozyny (SPK1 i SPK2) tworzy ważny metabolit sfingozyno-1-fosforan (S1P). Poprzez aktywację jednego z pięciu typów receptorów dla S1P sprzężonych z białkiem G (S1PR1-5) uruchamiane są między innymi istotne szlaki sygnałowe regulujące migracje limfocytów i utrzymanie integralności naczyń, co w istotny sposób wpływa na rozwój procesów zapalnych [6, 7]. Przeprowadzone badania dostarczyły dowodów, że w zależności od rodzaju cząsteczki SL mogą stymulować lub hamować proliferację komórek [8]. Wykazano, że ceramid poprzez indukcję apoptozy i hamowanie cyklu komórkowego ma silny wpływ hamujący na rozwój procesów nowotworowych, działając jako mediator apoptozy [9]. Z drugiej zaś strony sfingozyno-1-fosforan, który jest metabolitem ceramidu istotnie stymuluje procesy prowadzące do wzrostu wielu nowotworów, poprzez pobudzanie namnażania komórek, rozwoju naczyń krwionośnych i hamowanie apoptozy [8]. Wyjaśnienie mechanizmu w jaki sposób sfingolipidy wpływają na proliferację i apoptozę komórek, może pozwolić na rozwój nowych metod leczenia opartych na punktach uchwytu białek szlaku transmisji sygnału zachodzących z udziałem SL.

Dostępne doniesienia naukowe dowodzą, że SL poza ich wpływem na apoptozę i proliferację komórek, oddziałują także z białkami regulatorowymi w przestrzeni

zewnątrzkomórkowej [10-12]. Jednym z nich jest gelsolina osoczowa (pGSN), która została pierwotnie odkryta jako wewnątrzkomórkowe białko wiążące aktynę, zaangażowane w procesie reorganizacji struktury cytoszkieletu komórek, warunkując zmianę ich kształtu, chemotaksję i sekrecję. Gelsolina pełni też rolę białka czapeczkującego szybko rosnące końce filamentów aktynowych [13]. pGSN obecna we krwi wraz z białkiem wiążącym witaminę D₃ stanowi podstawowy element systemu buforowania aktyny we krwi, a także bierze udział w prezentacji kwasu lizofosfatydowego i innych mediatorów stanu zapalnego (włączając w to produkty pochodzące z bakterii: lipopolisacharydy i kwas lipoteichojowy) do receptorów, co reguluje ich dostępność i zdolność wywoływania efektów komórkowych [14, 15]. Opublikowane badania wykazały, że stężenie gelsoliny w osoczu zmniejsza się w odpowiedzi na ostre urazy i stany zapalne, zwłaszcza w zespole ostrej niewydolności oddechowej, sepsy, przedłużającej się hiperoksji, malarii, uszkodzeniu wątroby i reumatoidalnym zapaleniu stawów [15, 16]. pGSN we krwi wiąże między innymi S1P, co jednocześnie powoduje hamowanie przez S1P zdolności gelsoliny do łączenia/depolimeryzacji F-aktyny i hamowanie odpowiedzi komórek na działanie S1P [17].

Produkcja mediatorów stanu zapalnego w mikrośrodowisku guza jest uważana za kluczowy element w rozwoju choroby nowotworowej. Jak wykazały przeprowadzone badania, choroby zakaźne i przewlekłe procesy zapalne mogą stanowić około 25% czynników odpowiedzialnych za karcynogenezę [18]. Wiele mediatorów procesu zapalnego hamuje wzrost i progresję nowotworu, jednak niektóre cytokiny prozapalne mogą silnie stymulować rozwój choroby nowotworowej poprzez wpływ na wzrost, inwazyjność i przerzutowość raka [19]. Istotnym elementem mogącym decydować o rozwoju nowotworów są immunomodulujące peptydy przeciwdrobnoustrojowe, których ekspresja po części regulowana jest z udziałem bioaktywnych sfingolipidów, a ta znacznie wzrasta w odpowiedzi na zakażenia zarówno bakteryjne jak i wirusowe. W ostatnich latach duże zainteresowanie naukowców wzbudził ludzki peptyd LL-37, uwalniany z katelicydyny (hCAP-18) [20]. Jest on uważany nie tylko za istotny element wrodzonego systemu odpornościowego, ale pełni liczne funkcje fizjologiczne, zwłaszcza jako stymulator angiogenezy i proliferacji komórek [21-23]. W związku z tym, że katelicydyna LL-37 wpływa na apoptozę [24-26] oraz na właściwości mechaniczne komórek nabłonka oraz przepuszczalność nabłonków [27], jej rola w procesach istotnych w karcynogenezie jest coraz częściej podkreślana. Wiele prac eksperymentalnych

przedstawiło wyniki wskazujące na udział peptydu LL-37 w onkogenezie u ludzi [24]. Dostępne badania wskazały, że katelicydyna LL-37 może działać zarówno jako czynnik pro-nowotworowy, jak i przeciwnowotworowy [20, 28-33]. Opisano także zmiany w ekspresji LL-37 w tkankach nowotworowych w porównaniu ze zdrową tkanką tego samego pochodzenia [24]. Tak więc, elementy szlaków sygnalizacji komórkowej, które regulują powstawanie peptydu LL-37, mogą już wkrótce stanowić nowe cele terapeutyczne do interwencji farmakologicznej w onkologii. W kontekście prezentowanych wyników szczególnie ważne są odkrycia, które pokazują, że sfingozyno-1-fosforan jest w stanie znacznie zwiększyć produkcję peptydu LL-37 w komórkach nabłonka [34-36].

Cel naukowy badania:

Ocena znaczenia bioaktywnych sfingolipidów, katelicydyny LL-37 i gelsoliny osoczowej w patogenezie wybranych chorób przewodu pokarmowego oraz nowotworów.

Cele szczegółowe:

Publikacja P1 – praca pogładowa, dokonująca przeglądu najnowszego piśmiennictwa na temat funkcji sfingolipidów w patogenezie powstawania nieswoistych chorób zapalnych jelit (IBD, Inflammatory Bowel Disease) oraz sfingozyno-1-fosforanu w karcynogenezie związanej z IBD.

Publikacja P2 – ocena przydatności oznaczania stężenia gelsoliny i S1P w osoczu chorych z zagrażającym życiu ostrym procesem zapalnym jako czynników predykcyjnych do rokowania klinicznego oraz określenie współzależności ich stężenia z innymi markerami procesu zapalnego we wczesnym etapie choroby u pacjentów leczonych z powodu ostrego zapalenia trzustki.

Publikacja P3 – określenie zdolności S1P do indukcji wytwarzania i wydzielania katelicydyny LL-37 oraz zbadanie wpływu tego procesu na proliferację komórek nowotworowych pochodzących z pęcherza moczowego w modelu hodowli komórkowej.

Publikacja P4 – ocena przydatności oznaczania stężenia gelsoliny osoczowej u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca i rakiem jelita grubego do oceny ich stanu klinicznego.

4.4. Omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

Choroby zapalne jelit (IBD), do których zalicza się wrzodziejące zapalenie jelita grubego i chorobę Leśniowskiego-Crohna, to problem medyczny trwający całe życie pacjenta, którego częstość występowania i rozpowszechnienie ciągle wzrasta w krajach rozwiniętych. Zaburzenia te charakteryzują się okresami nawrotów i remisji, z wyniszczającym zapaleniem jelita i innych narządów, związanym z infekcjami, uszkodzeniem tkanek oraz zwiększonym ryzykiem raka okrężnicy [37]. IBD generuje olbrzymie koszty bezpośrednie i pośrednie w systemie ochrony zdrowia i znacząco wpływa na produktywność młodych ludzi. Przewlekły charakter choroby, trudności diagnostyczno-terapeutyczne napotykanie w codziennej pracy lekarza aktywnie zajmującego się pacjentami z IBD, były motywacją do przeglądu danych literaturowych. Opublikowane badania wskazują, że wiele mechanizmów regulujących odpowiedź immunologiczną, integralność nabłonka jelit oraz stan zapalny jest upośledzonych w IBD [38].

Inne obserwacje wskazywały, że utrzymujące się przewlekłe zapalenie ułatwia kolonizację przez patogenne szczepy bakteryjne, prowadząc do rozwoju przetok, perforacji, infekcji, ropni lub dysplazji w tkance jelit. W związku z tym, że zmieniona rekrutacja leukocytów w jelicie jest cechą charakterystyczną przewlekłego procesu zapalnego obserwowanego w IBD oraz fakt, że sfingozyno-1-fosforan, może regulować migrację białych krwinek do miejsc zapalenia w przewodzie pokarmowym, postanowiono wyjaśnić rolę sfingolipidów w procesach zapalnych i proces transmisji sygnału zachodzący z ich udziałem w IBD [37, 39]. Należy przy tym pamiętać o znaczeniu występowania enzymów i produktów szlaku sfingozynowego w nabłonku zmienionego zapalnie jelita, ponieważ wykazano, że aktywacja kinazy sfingozyny 1 i wytwarzanie S1P hamuje apoptozę, zwiększając przeżycie komórek nowotworowych, co związane jest bezpośrednio z karcynogenezą i tworzeniem przerzutów nowotworowych [40].

Analiza danych literaturowych upewniła mnie, że zrozumienie tych zjawisk może być niezbędne do opracowania nowych metod leczenia oraz zapobieganiu karcynogenezie u chorych z wieloletnim IBD. Przegląd literatury zaowocował publikacją pracy poglądowej (**Publikacja 1 [P1]**) oraz ukierunkował moje zainteresowania na szlaki sygnałowe, w których uczestniczą sfingolipidy oraz na ich immunomodulujące działanie

wynikające z możliwości regulacji ekspresji peptydów przeciwbakteryjnych i ich interakcję z gelsoliną buforu aktynowego krwi.

Dlatego moje badania są poszukiwaniem odpowiedzi na dwa zasadnicze pytania: 1) w jaki sposób sfingolipidy mogą wpływać na homeostazę funkcji immunologicznych w przewodzie pokarmowym? i 2) jaki jest mechanizm działania sfingolipidów w procesie onkogenezy oraz czy zmiany w sygnalizacji komórkowej zachodzącej z udziałem sfingolipidów mogą być istotne w zapobieganiu rozwojowi raka?

Prace badawcze nad jedną z najcięższych chorób zapalnych w gastroenterologii, jakim jest ostre zapalenie trzustki (OZT), były prowadzone we współpracy z panią Profesor Małgorzatą Żendzian-Piotrowską z Zakładu Higieny Uniwersytetu Medycznego (UM) w Białymstoku oraz panem Profesorem Krzysztofem Kurkiem z Kliniki Gastroenterologii i Chorób Wewnętrznych UM w Białymstoku.

Wysiłki wielu naukowców od dawna koncentrowały się na poszukiwaniu markera biochemicznego, dzięki któremu byłoby możliwe szybkie i pewne ustalenie ciężkości procesu zapalnego, rokowania oraz wybraniu najlepszego sposobu leczenia OZT. Wykorzystując dostępne obecnie metody wiadomo, że stwierdzenie stopnia ciężkości ostrego zapalenia trzustki jest relatywnie proste, jednak rokowanie, co do rozwoju choroby, wciąż nastęrcza licznych problemów. Poznanie metod wczesnego rokowania przebiegu OZT, szczególnie ciężkiej postaci, jest kluczowe w kontekście wyboru odpowiedniego sposobu leczenia, który jest w stanie zapobiec powstaniu powikłań układowych, odpowiedzialnych za wysokie ryzyko śmierci pacjenta. Nadal, mimo nowych sposobów diagnostyki, monitorowania i terapii ostrego zapalenia trzustki, ciężka postać OZT rozwija się u około 20% pacjentów i może doprowadzić do powikłań układowych, charakteryzujących się śmiertelnością na poziomie nawet 30% - 50% [41]. Tak więc, szybka i prawidłowa ocena ciężkości i przebiegu choroby są kluczowe dla dalszych losów chorego z OZT. Wcześniejsze badania, również te opublikowane przez moich współpracowników z UM w Białymstoku, wykazały znaczenie sfingolipidów w patogenezie OZT [42, 43]. Inne prace udowodniły, że osoczowe stężenie gelsoliny zmniejsza się, w takich sytuacjach klinicznych, jak zespół ostrej niewydolności oddechowej, sepsa, poważny uraz, przedłużająca się hiperoksja [14, 44]. Ponieważ wiadomo, że gelsolina usuwa z układu krążenia toksyczne filamenty aktyny (aktyne F), powstałe po polimeryzacji w płynach ustrojowych uwalnianej z rozpadłych komórek aktyny G i jest odpowiedzialna za prezentację mediatorów stanu zapalnego ich receptorom, a także ma zdolność wiązania bioaktywnych lipidów, w tym różnych

sfingolipidów zaangażowanych w odpowiedź zapalną [45], postanowiłem zbadać zmiany stężenia gelsoliny i istotnego metabolitu SL (sifingozyno-1-fosforanu) w osoczu krwi pobranej od pacjentów w pierwszym okresie rozwoju ciężkiego OZT (**Publikacja 2 [P2]**). Do badań zakwalifikowano 36 pacjentów, których wyniki oceniano w stosunku do grupy kontrolnej o tej samej liczebności. Zaobserwowano znamienne statystycznie spadki stężenia zarówno gelsoliny, jak i S1P u badanych pacjentów z OZT, w porównaniu do grupy kontrolnej. Obserwacja ta pozwoliła wskazać, że istnieje ścisły związek między istotnym obniżeniem poziomu gelsoliny a zmniejszeniem stężenia S1P stwierdzonym u chorych z ciężką postacią OZT. Ponadto stwierdzono, że hipogelsolinemia pozytywnie korelowała z aktywnością amylazy i lipazy we krwi oraz stężeniem CRP, co w naszej opinii sugerowało, że obniżenie stężenia pGSN może być istotnym elementem patofizjologicznego ogniw prowadzącego do rozwoju ciężkiego OZT. Nasza hipoteza była zgodna z wcześniejszymi obserwacjami uznającymi pGSN za marker predykcyjny krytycznych powikłań i/lub złego rokowania (w badaniach tych, niedobór gelsoliny w osoczu poprzedzał rozwój procesu zapalnego i uszkodzenie tkanek [14, 46]).

W interpretacji przeprowadzonych badań należy także uwzględnić możliwość, że spadek stężenia S1P i gelsoliny oraz wzajemna interakcja tych związków obserwowana w pierwszym okresie rozwoju ciężkiego OZT, jako istotne zjawiska dla przebiegu choroby, mogą także modulować ten proces poprzez wpływ na ścieżkę sygnałową S1P - receptory. Proces ten, w konsekwencji, może powodować zmiany w dystrybucji limfocytów w narządach limfatycznych i zaburzenie ich migracji do krwi oraz zależną od S1P modulację funkcji bariery komórkowej śródbłonna, w szczególności zmiany jego szczelności. Można założyć, że obniżenie stężenia S1P i gelsoliny w przebiegu początkowej fazy ciężkiego OZT u ludzi, może działać jako narzędzie przeciwdziałające gromadzeniu się płynu w tkankach. Obserwowane przez nas zjawisko daje podstawy teoretyczne do dalszych badań klinicznych nad nowymi kierunkami terapii OZT. Zaburzona równowaga między dwoma istotnymi elementami rozwoju procesu zapalnego (pGSN/S1P), co zaobserwowaliśmy w naszych badaniach, która prowadzić może do dalszych groźnych powikłań układowych OZT, mogłaby zostać potencjalnie przywrócona po podaniu ludzkiej rekombinowanej gelsoliny osoczowej. Jestem przekonany, że uzyskane dane otwierają drogę do praktycznego wykorzystania wyników tych badań.

Ponadto, postulowaliśmy, że pomiar S1P i pGSN w osoczu we wczesnych stadiach OZT mogą mieć znaczenie predykcyjne, a badanie tych substancji może stać się dodatkowym parametrem (biomarkerem) w stratyfikacji ryzyka pacjenta z ciężkim ostrym zapaleniem trzustki.

Moja bliska współpraca z dr n. med. Januszem Kopczyńskim z Zakładu Patologii Nowotworów Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach zaowocowała wykonaniem pilotażowych badań immunohistochemicznych (immunobarwienie katelicydyny hCAP-18/LL-37 i białek enzymatycznych uczestniczących w metabolizmie SL), które zostały przeprowadzone na utrwalonych bioptatach tkanek, pobranych od pacjentów leczonych z powodu raka pęcherza moczowego. Wykazały one silny pozytywny sygnał IHC błony śluzowej dla katelicydyny LL-37 i kinazy pierwszej sfingozyno-1-fosforanu (SPK1, enzym tworzący S1P ze sfingozyny) w badanych tkankach. Wyniki te zmotywowały mnie do prowadzenia dalszych eksperymentów, w których wykorzystując modele hodowli komórkowych, chcieliśmy wyjaśnić rolę LL-37 i S1P w patogenezie raka pęcherza.

Przegląd literatury oraz dyskusje z panem profesorem Robertem Buckim i członkami jego zespołu (z Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii Nanomedycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku) pozwoliły na sformułowanie hipotezy, że S1P, będący regulatorem kilku procesów komórkowych istotnych zarówno w zapaleniu, jak i rozwoju raka, może pośrednio wywierać niektóre działania pronowotworowe poprzez jego zdolność do regulowania ekspresji ludzkiej katelicydyny hCAP-18. Peptyd LL-37 uwalniany z białka hCAP-18 bierze udział w rozwoju różnych typów nowotworów u ludzi, zwłaszcza tych związanych z infekcjami. Rezultaty naszych badań, opublikowano w **Publikacji 3 [P3]**. W naszym modelu hodowli komórkowej, wykazaliśmy, że LL-37 statystycznie znamienne i w sposób zależny od dawki zwiększał proliferację ludzkich komórek pęcherza moczowego. Udowodniliśmy także, że S1P może stymulować ekspresję/uwalnianie hCAP-18/LL-37 ze stymulowanych ludzkich komórek pęcherza moczowego. Gdy komórki traktowano wstępnie FTY720P (syntetyczny analog S1P, o działaniu immunosupresyjnym, który blokuje receptory S1P), wpływ S1P na uwalnianie LL-37 był hamowany. Nasze badanie po raz pierwszy wskazało, że S1P może zwiększać proliferację komórek pęcherza moczowego poprzez dwa potencjalne mechanizmy: bezpośrednio działając na jego receptory komórkowe i pośrednio – wpływając na uwalnianie hCAP-18/LL-37. Wiele obserwacji jasno wskazuje, że S1P wywiera bezpośrednie działanie promujące rozwój

nowotworu; oddziaływanie na wzrost guza, jego przerzutowość oraz proces angiogenezy. Nasze badania jako jedne z pierwszych, pokazują możliwość redundancji tego zjawiska; postulujemy, że sfingozyno-1-fosforan wpływa bezpośrednio na wzrost komórek nowotworowych i pośrednio poprzez autokrynne / parakrynne uwalnianie pod jego wpływem LL-37, co może dodatkowo stymulować wzrost komórek nowotworowych. Jestem przekonany, że nasze obserwacje staną się motywacją do dalszych badań nad wpływem S1P i LL-37 na rozwój innych guzów pochodzenia nabłonkowego.

Od dawna wiadomo, że zapalenie jest krytycznym elementem progresji nowotworu i jest odpowiedzialne za nadmierną chorobowość i śmiertelność u pacjentów z rakiem. Dobrze udokumentowany jest związek między stanem zapalnym a rakiem [47, 48]. Jak pokazuje praktyka kliniczna, rozpoznanie stanu zapalnego u chorych cierpiących na raka ma kluczowe znaczenie w ich dalszym procesie terapeutycznym, jednak osoby te często wykazują niewielkie objawy zapalenia, co jest spowodowane obniżoną odpornością. Dostępna biochemiczna ocena stanu zapalnego opiera się zwykle na pomiarze stężeń markerów we krwi, takich jak CRP (białko-C-reaktywne) i/lub PCT (prokalcytonina). Jednak dokładna interpretacja ich poziomów u pacjentów onkologicznych nastrocza wiele problemów. Wykazano, że miejscowe i ogólnoustrojowe zapalenie są integralną częścią chorób onkologicznych, w tym chłoniaka, raka wątrobowokomórkowego, międzybłoniaka oraz raka płuca i jelita grubego [18, 49]. Co więcej, jak udowodniono, stymulacja układu odpornościowego związana ze wzrostem guza prowadzi do trwałego stanu zapalnego, który sprzyja proliferacji i rozprzestrzenianiu się komórek nowotworowych [50]. Ponadto, pacjenci z chorobą nowotworową często wymagają leczenia ogólnoustrojowych i miejscowych infekcji. W tych sytuacjach klinicznych odpowiedź zapalna jest w dużej mierze następstwem infekcji, a jej ryzyko jest kilkakrotnie większe u pacjentów onkologicznych aniżeli u pacjentów leczonych z powodu innych chorób. Sugeruje się, że u pacjentów onkologicznych, u których doszło do przerwania bariery skórnej lub/i śluzówkowej w wyniku progresji choroby lub w wyniku wykonywanych procedur diagnostycznych, częściej dochodzi do rozwoju stanu zapalnego w wyniku translokacji bakterii kolonizujących żywiciela [51]. Jednak ta grupa pacjentów wykazuje niewielkie objawy, nawet mimo szybkiego rozprzestrzeniania się zapalenia. Dlatego szybka diagnoza i odpowiednie leczenie mają kluczowe znaczenie dla przeżycia takich pacjentów. Jak dotąd najlepszym postępowaniem jest monitorowanie markerów stanu zapalnego we krwi, takich jak CRP i PCT.

Jednak właściwa interpretacja wzrostu PCT u pacjentów onkologicznych jest trudna, ponieważ wiele czynników, w tym przerzuty i funkcja endokrynną guza, mogą znacząco wpływać na jej wartości. Niektórzy autorzy postulowali, że podwyższonego stężenia PCT u pacjentów onkologicznych z chorobą uogólnioną nie można przypisać infekcji, ale można je uznać za marker progresji onkologicznej [52].

Biorąc pod uwagę moje wcześniejsze badania pokazujące złożone interakcje gelsoliny z bioaktywnymi lipidami, które mogą zachodzić podczas odpowiedzi zapalnej (**Publikacja 1 [P1]** i **Publikacja 2 [P2]**), postanowiliśmy ocenić poziom gelsoliny we krwi, jako markera odpowiedzi zapalnej u pacjentów z rozpoznaniem często spotykanych nowotworów; raka płuc i raka jelita grubego. Pierwotnie wysunęliśmy hipotezę, że poziom pGSN w osoczu może być szczególnie pomocny w monitorowaniu odpowiedzi zapalnej w powyższych chorobach, ponieważ rozwój raka w obrębie ścian oskrzeli lub światła przewodu pokarmowego (skolonizowanego przez bakterie) może skutkować niespecyficznym wzrostem CRP i PCT jako konsekwencja translokacji naturalnej mikrobioty. Bierzemy pod uwagę możliwość poprawy identyfikacji pacjentów z wyższym ryzykiem powikłań za pomocą pomiaru stężenia gelsoliny w osoczu, ponieważ stwierdzono, że spadek gelsoliny koreluje z występowaniem zespołu dysfunkcji wielonarządowej (MODS, Multiply Organ Dysfunction Syndrome) [53]. Do badań zakwalifikowaliśmy 154 pacjentów w tym: 69 pacjentów z rakiem jelita grubego (38 z rakiem okrężnicy i 31 z rakiem odbytnicy) i 85 pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca, 23 z nieokreślonym rakiem płuca (NOS, Not-Otherwise Specified), 35 z płaskonabłonkowym rakiem płuca (SCC, Squamous Cell Carcinoma) oraz 27 z gruczolakorakiem (AC, Adenocarcinoma).

Nasze eksperymenty wykazały istotny spadek stężenia pGSN we krwi pacjentów z rakiem okrężnicy i wszystkimi badanymi rakami płuca (NOS, SCC i AC). Wszystkie badane grupy miały podwyższone poziomy PCT i CRP, które były ze sobą dodatnio skorelowane.

Analizując uzyskane wyniki zasugerowaliśmy, że spadek stężenia gelsoliny może świadczyć nie tylko o rozwoju stanu zapalnego, ale mógłby być rozpatrywany jako parametr określający ryzyko zagrożenia zgonem u chorych na raka w sytuacji rozwijającej się infekcji. Na razie jednak, opracowanie testu diagnostycznego obejmującego ocenę pGSN w panelu badań chorego onkologicznego, wymaga dalszych wieloośrodkowych badań klinicznych.

Jestem przekonany, że lepsze zrozumienie roli zapalenia w nowotworach i potencjalnych funkcji pGSN w tych schorzeniach może doprowadzić do nowych zastosowań tego białka w diagnostyce i leczeniu.

4.5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych

Mój dorobek naukowy odzwierciedlający dotychczasową aktywność badawczą można podzielić według następujących kategorii tematycznych:

4.5.1. Badania nad rolą serotoniny w rozwoju nadciśnienia tętniczego u pacjentów z niewydolnością nerek.

Na ostatnim roku studiów medycznych, najpierw jako wolontariusz, rozpocząłem pracę w kierowanym przez pana Profesora Włodzimierza Buczko Zakładzie Farmakodynamiki Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. W pierwszych latach mojej pracy uczestniczyłem w badaniach wyjaśniających rolę serotoniny w powstawaniu nadciśnienia tętniczego u pacjentów z niewydolnością nerek leczonych erytropoetyną z powodu niedokrwistości. Wykorzystując zwierzęcy model uremii zaobserwowano istotny wzrost ciśnienia tętniczego po podaniu erytropoetyny; ten efekt był całkowicie niwelowany przez podanie ketanseryny (antagonisty receptora serotoninowego 5HT₂). W trakcie obserwacji odnotowano istotny wzrost stężenia serotoniny w osoczu i w płytkach krwi. Te obserwacje upoważniły nasz zespół do sformułowania hipotezy, że za trudne do leczenia nadciśnienie tętnicze u chorych z niewydolnością nerek, którym podawano erytropoetynę, odpowiadają mechanizmy serotoninergiczne. Wskazaliśmy także na kierunki rozwoju badań nad potencjalnym lekiem, który mógł być zastosowany w tej sytuacji klinicznej (antagonistą receptorów 5HT₂, ketanseryną). Te obserwacje oraz doskonała współpraca z klinicystami z Kliniki Nefrologii Akademii Medycznej w Białymstoku, dały podstawy do kolejnych eksperymentów, których celem było określenie roli L-karnityny w anemii obserwowanej u pacjentów z niewydolnością nerek. Wcześniejsze badania wykazały, że u pacjentów dializowanych dochodzi do istotnego obniżenia stężenia L-karnityny, co powoduje osłabienie siły skurczu mięśni szkieletowych i mięśnia serca, nieprawidłowe skurcze mięśniowe, miopatie oraz zaburzenia w metabolizmie lipidów. W naszym modelu zwierzęcym uremii udowodniliśmy, że podanie erytropoetyny i karnityny było skuteczniejsze, niż podanie samej erytropoetyny w leczeniu anemii.

W następnej pracy podjęliśmy próbę wyjaśnienia mechanizmu uwalniania i zwrotnego wychwytu serotoniny w płytkach krwi w modelu zwierzęcym. W tym celu ocenialiśmy wpływ histaminy i specyficznych agonistów receptorów histaminowych (receptora H1; 2-(2-tiazolilo)etyloaminy, receptora H2; dimapritu i receptora H3; R(-)-alfa-metylohistaminy) na metabolizm 5 hydrokсыtryptaminy we krwi i płytkach krwi zwierząt doświadczalnych. Wykazano, że histamina i specyficzni agoniści receptorów histaminowych nie wpływają na wychwyt serotoniny. Ponadto, dawko-zależne działanie hamujące wyższych stężeń 2-(2-tiazolilo)etyloaminy i dimapritu nie zostało zniesione przez antagonistę receptora H1, (dimetynden) i antagonistę receptora H2 (ranitydynę). Powyższe eksperymenty wykazały, że ani histamina, ani agoniści receptorów histaminowych H1, H2 i H3 nie mają znaczenia w szlaku wychwytu i uwalnianie serotoniny w płytkach krwi w zwierzęcym modelu badawczym.

Powyższe badania opublikowano w następujących pracach:

1. Azzadin A., Myśliwiec J., Wollny T., Myśliwiec M., Buczek W. Serotonin is involved in the pathogenesis of hypertension developing during erythropoietin treatment in uremic rats. *Thromb. Res.* 1995; 77, 217-224; doi: [10.1016/0049-3848\(95\)91609-0](https://doi.org/10.1016/0049-3848(95)91609-0).
2. Pawlak D., Malikowska B., Wollny T., Godlewski G., Buczek W. Lack of the specific influence of histamine and histamine H1, H2 and H3 receptor ligands on the serotonin uptake and release in rat blood platelets. *Pol. J. Pharm.* 1996; 48, 615-620; [PMID: 9112702](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9112702/).
3. Azzadin A., Wollny T., Pawlak R., Małyszko JS., Małyszko J., Myśliwiec M., Buczek W. L-carnitine effects on anemia in uremic rats treated with erythropoietin. *Nephron.* 1999; 83(4),370-1; doi: [10.1159/000045435](https://doi.org/10.1159/000045435).

4.5.2. Wpływ podawania heparyny i aspiryny na powstawania skrzepu i powikłania krwotoczne.

Praca w międzynarodowym zespole badawczym w Instytucie Mario Negri Sud pod kierunkiem Pani Profesor Marii Benedetty Donati, liderki w dziedzinie badań nad procesami krzepnięcia krwi, skierowała moje zainteresowanie na zagadnienia dotyczące roli heparyn i aspiryny w mechanizmie powstawania skrzepu i zatrzymania krwawienia po uszkodzeniu naczynia krwionośnego. Wykorzystując model zakrzepicy tętniczej u szczura, zaobserwowano, że drobnocząsteczkowe heparyny hamują powstawanie

zakrzepu, w dawkach niepowodujących powikłań krwotocznych. Co więcej, aspiryna podawana szczurom nie powodowała przedłużenia czasu krwawienia u zwierząt otrzymujących heparynę drobnocząsteczkową. Badania te udowodniły, że drobnocząsteczkowe heparyny mogą być bezpiecznie stosowane w terapii zakrzepicy tętniczej w monoterapii oraz w kombinacji z aspiryną. Dzisiejsze algorytmy postępowania w leczeniu zawału mięśnia sercowego (którego przyczyną jest zakrzepica tętnicza), wydają się w pełni potwierdzać nasze hipotezy.

W ramach powyższej tematyki badawczej opublikowano następującą pracę:

1. Iacoviello L., D'Adamo M.C., Pawlak K., Polishchuck R., Wollny T., Buczek W., Donati M.B. Antithrombotic activity of dermatan sulphates, heparins and their combination in an animal model of arterial thrombosis. *Thromb. Haemost.* 1996; 76, 1102-1107; [PMID: 8972038](#).

4.5.3. Rola tlenu azotu w zakrzepicy żyłnej i tętniczej oraz w hemostazie.

Badania Roberta F. Furchgotta, Louisa J. Ignarro i Ferida Murada (późniejszych laureatów Nagrody Nobla w r. 1998) związane z odkryciem tlenu azotu (NO), jako wszechstronnego regulatora w układzie krążenia zainspirowały mnie do wyjaśniania znaczenia tego związku w patomechanizmie powstawania zakrzepicy, nadciśnienia tętniczego i hemolizy.

Początkowo wykonane badania pozwoliły ocenić zależności między urazem krwinek czerwonych i następującą hemolizą a krwawieniem obserwowanym w niektórych stanach klinicznych. Zauważono, że wywołanie hemolizy u szczura powoduje znaczne wydłużenie czasu krwawienia. Porównywalne efekty obserwowano po wstrzyknięciu izotonicznego lizatu zawiesiny krwinek czerwonych. Jednak, po podaniu zwierzętom inhibitora syntazy tlenu azotu (L-NAME, metyloester L-nitro argininy) przed indukcją hemolizy, obserwowano normalizację czasu krwawienia. Ponadto, wywołanie hemolizy u zwierząt doświadczalnych zmniejszało ocenianą „ex vivo” adhezję płytek krwi do kolagenu, nie wywierając wpływu na agregację płytek i wywoływało przejściowy spadek ciśnienia krwi w ciągu pierwszej minuty po iniekcji. Podanie L-NAME przed indukcją hemolizy powodowało zwiększenie adhezji płytek krwi „ex vivo”, ale nie wpłynęło ani na agregację płytek krwi, ani na spadek ciśnienia krwi. Wszystkie efekty L-NAME zostały znacząco zmniejszone, gdy zwierzęta

otrzymywały prekursor tlenku azotu (L-argininę). Wykonane eksperymenty wykazały też, że iniekcja, jednego z głównych składników krwinek czerwonych, ADP (adenozyno dwufosforanu), w dawkach, które nie zwiększały poziomu hemoglobiny, wywołało efekty podobne do tych obserwowanych po hemolizie (na czas krwawienia i adhezję płytek krwi). Co więcej podobne efekty zaobserwowano po podaniu L-NAME, a ich przywrócenie po podaniu L-argininy. W związku z tym, że ADP jest obficie uwalniany z rozpadłych krwinek czerwonych i wiadomo, że stymuluje uwalnianie NO, silnego środka rozszerzającego naczynia krwionośne i inhibitora adhezji płytek krwi, wysunięto hipotezę, iż zależne od ADP uwalnianie tlenku azotu, może być odpowiedzialne za wydłużenie czasu krwawienia w użytym modelu zwierzęcym. Postulowano, że mechanizm powyższego działania jest związany z nieprawidłową interakcją między płytkami krwi a ścianą naczynia krwionośnego podczas ostrej hemolizy. Brano pod uwagę także fakt, że liza krwinek białych może również przyczynić się do wydłużenia czasu krwawienia. W związku z tym, że w tych komórkach nie wykryto ADP postulowano, że inne mechanizmy mogą być również zaangażowane w wydłużenie czasu krwawienia po aktywacji komórek krwi.

Następne badania dotyczyły wyjaśnienia mechanizmów działania często stosowanego w terapii nadciśnienia tętniczego leku – Losartanu, antagonisty receptora angiotensyny. Wykorzystując eksperymentalny model zakrzepicy żyłnej oceniano potencjalne działanie przeciwzakrzepowe Losartanu. Zbadano również udział tlenku azotu w tym efekcie. Przeprowadzone eksperymenty wykazały, że Losartan w dawce 10 mg/kg, doustne, istotnie zmniejszał wzrost skrzepu. Ponadto, działanie przeciwzakrzepowe leku u szczurów zostało zniesione, gdy zwierzęta otrzymały inhibitor syntazy tlenku azotu (L-NAME) i ponownie przywrócone przez podanie L-argininy (prekursora tlenku azotu). Wykazano także, że adhezja płytek krwi do kolagenu w badaniu „ex vivo” była znacznie zmniejszona u zwierząt, które otrzymały Losartan, ale nie obserwowano u nich zmian agregacji płytek krwi. Oceniane inne parametry układu krzepnięcia, takie jak czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT), czas protrombinowy (PT) i czas lizy euglobuliny, nie uległy zmianie po podaniu Losartanu zarówno w krążeniu ogólnoustrojowym, jak i w miejscu tworzenia się skrzepliny. Postulowano zatem, że działanie przeciwzakrzepowe Losartanu u szczurów w badanym modelu zakrzepicy jest zależne od tlenku azotu.

Liczne badania epidemiologiczne opublikowane w latach 1992-1996 wskazywały, że umiarkowane spożycie alkoholu, a szczególnie wina, powoduje zmniejszenie

powstawania chorób układu krążenia. Sugerowano, że niealkoholowe składniki tych napojów są odpowiedzialne za zmniejszone ryzyko powstawania choroby niedokrwiennej serca, głównej przyczyny śmierci w zachodnich populacjach. Ten efekt był najbardziej zauważalny w południowej Europie, gdzie wino jest zwyczajowo spożywane codziennie, w umiarkowanych ilościach. Inne badania prowadzone w warunkach „in vitro” przez Fitzpatricka w roku 1993 oraz Andriambelosona w roku 1997 udowodniły rolę polifenoli zawartych w winie czerwonym, na zależny od tlenu azotu efekt relaksacji naczyń krwionośnych. Nie udowodniono jednak, czy te mechanizmy odpowiadają za efekty wina (alkoholu) w żywych organizmach. Biorąc powyższe pod uwagę, zaplanowaliśmy badania, które mogłyby wyjaśnić następujące zagadnienia:

- ustalić czy alkohol etylowy i wino (czerwone i białe) wywierają wpływ na parametry hemostazy i wpływają na zakrzepicę u szczura,
- ocenić, czy wino bezalkoholowe również wywiera wpływ na hemostazę i zakrzepicę,
- określić czy mediatorem wpływu napojów alkoholowych na układ krążenia jest tlenek azotu.

W naszej pracy dostarczyliśmy silnych dowodów, że czerwone wino moduluje liczne mechanizmy hemostatyczne i istotnie zmniejsza zakrzepicę u szczurów, niezależnie od zawartości alkoholu, poprzez mechanizm, w którym pośredniczy tlenek azotu. Uważamy, że przeprowadzone „in vivo” badania, w dużym stopniu wyjaśniały klinicznie istotny mechanizm ochronnego wpływu umiarkowanego spożycia czerwonego wina na choroby sercowo-naczyniowe u ludzi. Znaczenie tego odkrycia odzwierciedla fakt odnotowania go w prestiżowym czasopiśmie *The Lancet* w r. 1999 (Bruno Simini: „Rats drinking Italian wine answer French paradox”, *The Lancet* 1999; 353: 1944). W następnych badaniach sprawdzaliśmy, czy również bułgarskie wina czerwone i białe mogą wpływać na zakrzepicę i mechanizmy hemostatyczne u szczurów. Tlenek azotu i prostacyklinę wytypowano jako możliwe mediatory tych efektów. Udowodniliśmy, że podawanie wina czerwonego szczurom przez 10 dni spowodowało istotne wydłużenie czasu krwawienia, zmniejszenie adhezji płytek krwi do kolagenu, zmniejszenie ciężaru skrzepliny żyłnej oraz skrócenie czasu okluzji w modelu zakrzepicy tętniczej u zwierząt doświadczalnych. Spadek masy skrzepliny żyłnej wywołało również podanie szczurom białego wina. Efektom tym zapobiegał inhibitor syntazy tlenu azotu (L-NAME) i inhibitor

prostacycliny (indometacyna). Przedstawione powyżej badania zaowocowały powstaniem czterech prac oryginalnych i jednej pracy poglądowej:

1. Wollny T., Iacoviello L., Buczek W., de Gaetano G., Donati M.B. Prolongation of bleeding time by acute hemolysis in rats: a role for nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 1997; 272:H2875-H2884; doi: [10.1152/ajpheart.1997.272.6.H2875](https://doi.org/10.1152/ajpheart.1997.272.6.H2875).
2. Wollny T., Aiello L., Di Tommaso D., Bellavia V., Rotilio D., Donati M.B., de Gaetano G., Iacoviello L. Modulation of haemostatic function and prevention of experimental thrombosis by red wine in rats: a role for increased nitric oxide production. *Br.J. Pharmacol.* 1999; 127,747-55; doi: [10.1038/sj.bjp.0702586](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702586).
3. Chabielska E., Pawlak R., Wollny T., Rólkowski R., Buczek W. Antithrombotic activity of losartan in two kidney, one clip hypertensive rats. A study on the mechanism of action. *J.Physiol. Pharmacol.* 1999; 50(1), 99-109; PMID: [10210158](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10210158/).
4. Buczek W., Wollny T., Chabielska E. Czy wino jest zdrowe? *Pol. Heart Journal.* 2002;57,72-76.
5. Wollny T., Chabielska E., Malinowska-Zaprzalka M., Nazarko J., Rozmyslowicz-Szerminska W., Buczek W. Effects of Bulgarian red and white wines on primary hemostasis and experimental thrombosis in rats. *Pol. J. Pharmacol.* 2003;55(6),1089-96; PMID: [14730105](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14730105/).

4.5.4. Udział sfingolipidów i mediatorów zapalenia w karcynogenezie oraz ich rola jako markerów chorób i punktów uchwytu leków.

Sfingolipidy, uważane do niedawna jako strukturalne cząsteczki błon biologicznych, biorą udział w wielu ważnych procesach komórkowych jako regulatory proliferacji, apoptozy, stanów zapalnych i migracji komórek. Zmieniony metabolizm tych bioaktywnych lipidów obserwuje się w wielu stanach patologicznych, w tym w wielu nowotworach, chorobach hematologicznych oraz chorobach przewodu pokarmowego. Sfingozyno-1-fosforan (S1P), metabolit sfingolipidu, działa jako cząsteczka sygnałowa w procesie zapalnym i jest obecnie postrzegana jako istotny cel terapeutyczny w leczeniu wielu chorób, także jako związek biorący udział w rozwoju nowotworów złośliwych. W publikacji poglądowej tego cyklu, dokonano przeglądu artykułów naukowych, dotyczących bioaktywnych lipidów; stało się to fundamentem pierwszych analiz doświadczalnych, planowania przyszłych badań i formułowania hipotez. Poza

przybliżeniem najważniejszych informacji dotyczących fizjologii i patofizjologii ścieżek sygnałowych szlaku sfingolipidów, zaprezentowano dane na temat udziału tych związków w rozwoju nowotworów układu krwiotwórczego (w tym ostrych białaczek i szpiczaka plazmocytozowego), co więcej, w pracach zostały omówione potencjalne możliwości wykorzystania zaburzeń metabolizmu sfingolipidów w nowoczesnych metodach terapii, ponieważ bioaktywne lipidy jako cząsteczki sygnalizacyjne, w najbliższej przyszłości mogą znaleźć zastosowanie w terapii nowotworów układu krwiotwórczego.

Powyższa publikacja pogładowa została opublikowana pod następującym tytułem:

1. Wątek M., Durnaś B., Wollny T., Żendzian-Piotrowska M., Pasiarski M. Rola i potencjał terapeutyczny sfingolipidowego szlaku sygnalizacyjnego w nowotworach hematologicznych. *Hematologia*. 2018; 9(4), 318-329; doi: [10.5603/Hem.2018.0038](https://doi.org/10.5603/Hem.2018.0038).

Wiadomo, że zaburzenie apoptozy występujące w komórkach białaczkowych umożliwia im niekontrolowany wzrost i są uznawane za podstawowy czynnik lekooporności tych komórek. W celu oceny potencjalnych nieprawidłowości, które mogłyby wywołać zmiany wzrostu komórek białaczkowych, w naszych badaniach oznaczano stężenia sfingozyny (SFO), sfinganiny (SFA), sfingozyno-1-fosforanu (S1P) i ceramidu (CER) we krwi od pacjentów z rozpoznaniem ostrej białaczki mieloblastycznej (AML, Acute Myeloid Leukemia), co porównywano z wartościami grupy kontrolnej (zdrowi ochotnicy), przy użyciu wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC, High Performance Liquid Chromatography). Ponadto, w grupie AML oznaczono stężenia SFO, SFA, S1P i CER w osoczu szpiku kostnego oraz stężenie białka wiążącego S1P i CER – gelsoliny osocza (GSN). Przeprowadzone oznaczenia wykazały, że u pacjentów z AML średnie stężenia sfingolipidów (SFO, SFA i CER) w osoczu krwi były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną, gdzie stężenie S1P w osoczu było znacznie niższe. Co więcej, średnie stężenie S1P w osoczu krwi było istotnie wyższe w porównaniu do jego stężenia w osoczu pobranym ze szpiku kostnego. Przeprowadzone badania wykazały, że zmiany w profilu stężenia sfingolipidów oraz białek istotnych w regulacji procesów zapalnych, takich jak GSN, we krwi i w szpiku kostnym u pacjentów z białaczką, mogą stanowić ważną wskazówkę przy opracowaniu nowych metod leczenia AML. Dostępne dane pokazują wiele dowodów wskazujących na zwiększone ryzyko rozwoju raka u pacjentów z wrodzonymi wadami metabolicznymi.

W wyniku genetycznie uwarunkowanego zakłócenia szlaku metabolicznego, dochodzi do powstawania nieprawidłowej ilości metabolitu (nadmiaru lub jego niedoboru), co istotnie wpływa na onkogenezę. Choroba Gauchera (GD, Gaucher Disease) jest rzadką lizosomalną chorobą spichrzeniową, w której dochodzi do istotnego zaburzenia metabolizmu sfingolipidów. Podkreślany jest istotny związek między GD a różnymi typami nowotworów, takich jak szpiczak mnogi, białaczka i rak wątrobowokomórkowy, choć podstawy molekularne prowadzące do powiązania GD i nowotworów nie są w pełni wytłumaczone. W poniższych pracach opisano rolę ceramidów w GD oraz wykazano w jaki sposób zaburzenia ich metabolizmu we krwi mogą być związane z karcynogenezą:

2. Wątek M., Durnaś B., Wollny T., Pasiarski M., Góźdz S., Marzec M., Chabowska A., Wolak P., Żendzian-Piotrowska M., Bucki R. Unexpected profile of sphingolipid contents in blood and bone marrow plasma collected from patients diagnosed with acute myeloid leukemia. *Lipids Health Dis.* 2017; 16, 235; doi: [10.1186/s12944-017-0624-1](https://doi.org/10.1186/s12944-017-0624-1).
3. Wątek M., Piktel E., Wollny T., Durnaś B., Fedoruk K., Lech-Marańda E., Bucki R. Defective Sphingolipids Metabolism and Tumor Associated Macrophages as the Possible Links Between Gaucher Disease and Blood Cancer Development. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(4), 843; doi: [10.3390/ijms20040843](https://doi.org/10.3390/ijms20040843).

4.5.5. Znaczenie naturalnych peptydów przeciwbakteryjnych i ich analogów z grupy ceragenin w karcynogenezie i rozwoju nowych terapii przeciwnowotworowych i przeciwdrobnoustrojowych.

Od ponad 23 lat pracuję w Świętokrzyskim Centrum Onkologii w Kielcach i stąd moje naturalne zainteresowanie mechanizmami karcynogenezy. Na początku inspiracją do prowadzenia badań w tym zakresie było zbieranie danych literaturowych do pracy o ludzkim naturalnym peptydzie przeciwbakteryjnym - katelicydynie LL-37 i jego zróżnicowanym wpływie na rozwój chorób nowotworowych. Zwiększona ekspresja LL-37 promuje rozwój i progresję raka jajnika, płuc i piersi. Jednak w raku okrężnicy i żołądka LL-37 działa odwrotnie - hamuje proces karcynogenezy.

Na podstawie przeprowadzonych badań wiadomo, że wpływ katelicydyny na wzrost guza, jest uzależniony od jej działania na tkankę, z której pochodzą komórki nowotworowe. Jak pokazały wcześniejsze doniesienia naukowe, w różnych typach nowotworów zaobserwowano różną ekspresję peptydu LL-37; większa ekspresję stwierdzono badając komórki raka jajnika, płuc, sutka i czerniaka złośliwego [22, 54-56].

W innych badaniach odnotowano, że komórki raka okrężnicy lub żołądka wytwarzają mniejsze ilości tego peptydu [25, 57], co sugeruje, że działania LL-37 są tkankowo specyficzne. Do tej pory wyodrębniono szeroki wachlarz mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za wpływ LL-37 na karcynogenezę. W raku jajnika LL-37 promuje nowotworzenie poprzez wpływ na wszczepianie komórek macierzystych do zrębu guza, co inicjuje jego wzrost i powstawanie przerzutów. Inne obserwacje podkreślają, że pronowotworowy mechanizm LL-37 w raku płuca polega na aktywacji nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor) oraz receptora kinazy tyrozynowej, których rola w onkogenezie jest znana od dekad. Z drugiej strony w badaniach nad komórkami raka jelita grubego, odnotowano całkowitą utratę ekspresji hCAP18/LL-37, tak więc postuluje się, że niski poziom ekspresji LL-37 może być uważany jako biomarker raka okrężnicy [25]. Zagadkową i nie w pełni wyjaśnioną rolę pełni LL-37 w rozwoju raka żołądka. Z jednej strony zaobserwowano, że jego ekspresja rośnie w infekcji *Helicobacter pylori*, która zapoczątkowuje onkogenezę. Z drugiej strony stwierdzono obniżone stężenie katelicyny w różnych odmianach raka żołądka [58]. Ciekawe obserwacje przyniosły badania ekspresji LL-37 w nowotworach hematologicznych, stwierdzono obniżone stężenie katelicyny u chorych z białaczką, co może być związane z progresją choroby nowotworowej oraz być odpowiedzialne za obniżoną odporność na infekcje u tych pacjentów [59]. Materiał zawarty w poniżej przedstawionej pracy w sposób kompleksowy pokazał, w jaki sposób LL-37 bierze udział w procesach związanych z odpornością oraz w sygnalizacji komórkowej – procesach które w istotny sposób są zaangażowane we rozwój choroby nowotworowej.

Jednocześnie moje zainteresowanie naukowe skierowałem w dziedzinę badań biomarkerów procesu zapalnego, gdyż mimo wielospecjalistycznej opieki nad pacjentem onkologicznym, olbrzymim wyzwaniem terapeutycznym są często występujące ogólnoustrojowe i miejscowe infekcje. Są one odpowiedzialne za liczne powikłania leczenia oraz są przyczyną przedwczesnej umieralności wśród chorych na nowotwory.

Praktyka kliniczna pokazuje, że prawidłowe rozpoznanie infekcji u pacjentów podczas leczenia onkologicznego jest trudne, ponieważ odróżnienie infekcji od gorączki nieinfekcyjnego pochodzenia jest problematyczne. Związane jest to z obserwacją, że w grupie pacjentów onkologicznych, zakażenia mogą przebiegać z minimalnymi objawami oraz szybko postępować. Tak więc, wczesne wykrycie i odpowiednie empiryczne leczenie przeciwdrobnoustrojowe ma kluczowe znaczenie dla przeżycia. Niestety w dużym odsetku przypadków, wykonane badania obrazowe, mikrobiologiczne

są negatywne lub niespecyficzne.

Dane literaturowe oraz praktyka kliniczne pokazały, że ocena stężenia prokalcytoniny (PCT) we krwi, może być bardzo pomocna we wczesnym wykrywaniu i leczeniu infekcji u pacjentów onkologicznych. W pracy pogładowej zawarto szczegółowe dane o możliwości wykorzystania PCT w onkologii, szczególnie w sytuacjach klinicznych, gdzie infekcje są częste, a także zagadnienia związane z problemami interpretacji wyników oznaczeń i ograniczeniami stosowania oznaczenia PCT.

Dalsze lata pracy oraz obserwacja, że ciężkie infekcje u chorych onkologicznych są drugą przyczyną zgonów w tej populacji, skłoniły mnie do kolejnych badań. Choroba nowotworowa, klasyczne metody leczenia przeciwnowotworowego, jak też rosnące znaczenie przeszczepów komórek macierzystych i immunoterapii, czynią chorych onkologicznych podatnymi na infekcje. Jednym z najtrudniejszych aspektów postępowania z pacjentem jest leczenie zakażeń wywołanych przez wielolekooporne (MDR, Multi Drug Resistant) Gram-ujemne pałeczki jelitowe, np. wytwarzające karbapenemazy i oporne pałeczki niefermentujące, z powodu narastającej oporności na antybiotyki. Powoduje to zmniejszenie skuteczności antybiotykoterapii, a w konsekwencji - zwiększa śmiertelność i obniża skuteczność terapii przeciwnowotworowej.

Kontynuacją tego zagadnienia, były badania nad czynnikami etiologicznymi zakażeń, mechanizmami antybiotykooporności, oraz nad sposobami leczenia i kontroli zakażeń szpitalnych. W naszej pracy skoncentrowaliśmy się na badaniach oportunistycznej pałeczki Gram-ujemnej - *Stenotrophomonas maltophilia* (*S. maltophilia*), odpowiadającej za zakażenia szpitalne, szczególnie u chorych z obniżoną odpornością. Badano potencjalne korzyści z łącznego stosowania i działania antibiofilmowego ceragenin: CSA-13, CSA-44 i CSA-131 (syntetyczne analogii naturalnych peptydów przeciwdrobnoustrojowych) z ceftazydymem, lewofloksacyną, kotrimoksazolem i kolistyną. Uzyskane dane wykazały, że cerageniny nie tylko silnie działają bójczo w stosunku do badanych szczepów *S. maltophilia* w hodowli planktonowej oraz wzrastających jako biofilm stacjonarny, ale dodatkowo w przypadku niektórych szczepów zaobserwowano ich synergię działania z konwencjonalnymi antybiotykami. Pozwoliło to na wysunięcie wniosku, że cerageniny są obiecującymi czynnikami do przyszłego rozwoju nowych metod leczenia zakażeń wywołanych przez *S. maltophilia* w połączeniu z konwencjonalnymi antybiotykami. Należy zaznaczyć, że

wymaga to dalszych badań w modelach *in vivo*.

Następnie, dzięki współpracy z zespołem profesora Roberta Buckiego, swoje zainteresowania naukowe skierowałem w kierunku nanotechnologii i możliwości zastosowania jej zdobyczy w nowoczesnej terapii chorób nowotworowych. W przeprowadzonych badaniach, zwrócono uwagę na możliwości zastosowania ceragenin oraz zawierających je nanosystemów w leczeniu chorób nowotworowych, były to jedne z pierwszych takich obserwacji na świecie. Uważa się, że postęp w rozwoju materiałów przeciwnowotworowych opartych na nanotechnologii w niedalekiej przyszłości może zapewnić nowoczesne, zindywidualizowane terapie przeciwnowotworowe zapewniające zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności w grupie pacjentów onkologicznych. W pracy pogładowej przeanalizowano możliwości wykorzystania nanomateriałów w rozwoju nowych leków przeciwnowotworowych oraz przedstawiono zalety strategii opartych na nanotechnologii w walce z rakiem, polegające na skutecznym celowanym dostarczaniu leków do masy guza.

Postęp nanotechnologii przyczynił się również do wskazania możliwości wykorzystania przeciwbakteryjnych właściwości nanocząstek srebra, złota oraz miedzi, które jak się uważa nie stymulują lekooporności. W oparciu o nanomateriały powstały również liczne związki, które coraz częściej wykorzystywane są w nanodiagnostyce, nanofarmakologii i nanoonkologii. Nanocząstki mają bardzo małe wymiary (z definicji 1-100 nm w jednym wymiarze) i duży stosunek powierzchni do objętości struktury, co powoduje, że mają inne właściwości fizykochemiczne, a jednocześnie są zdolne do pokonywania przeszkód biologicznych, np. bariery krew-mózg. Współcześnie najczęściej stosowane w medycynie są nanocząstki metali: srebra i złota, nanocząstki magnetyczne a także kropki kwantowe i nanorurki węglowe. Obecnie nanomateriały są głównie testowane w obrazowaniu tkanek patologicznych oraz w onkologii. Dzięki specyficznym właściwościom mogą być wykorzystywane w pokonywaniu ograniczeń pojawiających się w tradycyjnych sposobach diagnostyki i leczenia i są podstawą do rozwoju terapii opartych na metodach teranostycznych.

Powyższym zagadnieniom są poświęcone następujące prace oraz jednego rozdziału w monografii naukowej:

1. Piktel E., Niemirowicz K., Wnorowska U., Wątek M., Wollny T., Głuszek K., Gózdź, S., Levental I. i Bucki, R. The Role of Cathelicidin LL-37 in Cancer Development. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2016; 64, 33-46; doi: [10.1007/s00005-015-0359-5](https://doi.org/10.1007/s00005-015-0359-5).

2. Durnaś B., Wątek M., Wollny T., Niemirowicz K., Marzec M., Bucki R., Góźdz S. Utility of blood procalcitonin concentration in the management of cancer patients with infections. *Onco Targets Ther* 2016; 9, 469-475; doi: [10.2147/OTT.S95600](https://doi.org/10.2147/OTT.S95600).
3. Piktel E., Niemirowicz K., Wątek M., Wollny T., Deptuła P., Bucki R. Recent insights in nanotechnology-based drugs and formulations designed for effective anti-cancer therapy. *J Nanobiotechnology* 2016; 14(1), 39; doi: [10.1186/s12951-016-0193-x](https://doi.org/10.1186/s12951-016-0193-x).
4. Durnaś B., Piktel E., Wątek M., Wollny T., Góźdz S., Smok-Kalwat J., Niemirowicz K., Savage P. B., Bucki R. Anaerobic bacteria growth in the presence of cathelicidin LL-37 and selected ceragenins delivered as magnetic nanoparticles cargo. *BMC Microbiol* 2017; 17(1), 167; doi: [10.1186/s12866-017-1075-6](https://doi.org/10.1186/s12866-017-1075-6).
5. Cieśluk M., Piktel E., Wątek M., Durnaś B., Wollny T., Król G., Bucki R. Neutrophil extracellular traps as the main source of eDNA. *Medical Studies* 2017; 33(2); doi: [10.5114/ms.2017.68709](https://doi.org/10.5114/ms.2017.68709).
6. Wollny T., Piktel E., Durnaś B., Bucki R. Regulation of Cationic Antimicrobial Peptides Expression in the Digestive Tract. In: *Antimicrobial Peptides in Gastrointestinal Diseases*, Cho, C. H., Ed. Academic Press 2018; 1-20; doi: [10.1016/B978-0-12-814319-3.00001-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814319-3.00001-5).
7. Chmielewska S.J., Skłodowski K., Depciuch J., Deptuła P., Piktel E., Fiedoruk K., Kot P., Paprocka P., Fortunka K., Wollny T., Wolak P., Parlinska-Wojtan M., Savage P.B and Bucki R. Bactericidal Properties of Rod-, Peanut-, and Star-Shaped Gold Nanoparticles Coated with Ceragenin CSA-131 against Multidrug-Resistant Bacterial Strains. *Pharmaceutics* 2021; 13(3), 425; doi: [10.3390/pharmaceutics13030425](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030425).
8. Piktel E., Ościłowska I., Suprewicz L., Depciuch J., Marcińczyk N., Chabielska E., Wolak P., Wollny T., Janion M., Parlińska-Wojtan M., Bucki R. ROS-Mediated Apoptosis and Autophagy in Ovarian Cancer Cells Treated with Peanut-Shaped Gold Nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 2021; 16, 1993-2011; doi: [10.2147/IJN.S277014](https://doi.org/10.2147/IJN.S277014).
9. Paprocka P., Durnaś B., Mańkowska A., Król G., Wollny T., Bucki R. *Pseudomonas aeruginosa* infections in cancer patients. *Pathogens* 2022; 11(6), 679; doi: [10.3390/pathogens11060679](https://doi.org/10.3390/pathogens11060679).

10. Paprocka P., Mańkowska A., Skłodowski K., Król G., Wollny T., Lesiak A., Głuszek K., Savage P.B., Durnaś B., Bucki R. Bactericidal Activity of Ceragenin in Combination with Ceftazidime, Levofloxacin, Co-Trimoxazole, and Colistin against the Opportunistic Pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathogens* 2022; 11(6), 621; doi: [10.3390/pathogens11060621](https://doi.org/10.3390/pathogens11060621).
11. Skłodowski K., Chmielewska-Deptuła S.J., Piktel E., Wolak P., Wollny T. and Bucki R. Metallic Nanosystems in the Development of Antimicrobial Strategies with High Antimicrobial Activity and High Biocompatibility. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(3), 2104; doi: [10.3390/ijms24032104](https://doi.org/10.3390/ijms24032104).

Następnie moją uwagę zwróciły badania nad znaczeniem peptydu LL-37 w utrzymaniu homeostazy mikrobioty jamy ustnej. Zauważono, że odbywa się to poprzez modulację zawartości cytokin zapalnych, co zapewnia odpowiednie mikrośrodowisko niezbędne dla właściwego ukrwienia, promuje różnicowanie i migrację mezenchymalnych komórek macierzystych oraz ogranicza wpływ czynników zapalnych pochodzenia bakteryjnego. Analiza dostępnej literatury pozwoliła na stwierdzenie, że katelicydyna LL-37 może znaleźć zastosowanie w kompozytowym wypełnieniu kanałów korzeniowych w stomatologii, co pozwoli skutecznie leczyć próchnicę i groźne infekcje miazgi. Powyższe badania zainspirowały mnie do zrozumienia znaczenia mikrobiomu jamy ustnej w rozwoju zmian funkcjonalnych, metabolicznych i molekularnych, które prowadzić mogą do powstawania chorób ogólnoustrojowych. Wcześniejsze badania sugerowały także, że niektóre drobnoustroje zasiedlające jamę ustną mogą mieć znaczenie w inicjacji i progresji raka. W przeprowadzonych badaniach inkubowano wybrane linie komórkowe z inaktywowanymi termicznie bakteriami i supernatantami w obecności chirurgicznie usuniętych zębów i ludzkiej śliny. Oprócz zróżnicowanego wpływu produktów bakteryjnych na proliferację komórek, zaobserwowano istotne zmiany w sztywności komórek raka dziąseł i płuc stymulowanych *Enterococcus faecalis*, co w naszej opinii, mogło być nowym mechanizmem molekularnym zaangażowanym w patogenezę chorób w jamie ustnej. Co ważne, powyższe wyniki potwierdzają istotną rolę higieny jamy ustnej i skutecznego leczenia kanałowego w zapewnieniu zdrowego stanu mikrobiomu jamy ustnej. Niewątpliwie niezbędne są dalsze badania celem wyjaśnienia wpływu mikroflory kanałów korzeniowych na karcynogenezę.

Zagadnienia z tego zakresu opublikowano w:

12. Tokajuk J., Deptuła P., Piktel E., Daniluk T., Chmielewska S., Wollny T., Wolak P., Fiedoruk K., Bucki R. Cathelicidin LL-37 in Health and Diseases of the Oral Cavity. *Biomedicines* 2022; 10(5), 1086; doi: [10.3390/biomedicines10051086](https://doi.org/10.3390/biomedicines10051086).
13. Suprewicz L., Tokajuk G., Cieśluk M., Deptuła P., Sierpińska T., Wolak P., Wollny T., Tokajuk J., Głuszek S., Piktel E., Bucki, R. Bacteria Residing at Root Canals Can Induce Cell Proliferation and Alter the Mechanical Properties of Gingival and Cancer Cells. *Int J Mol Sci* 2020; 21(21), 7914; doi: [10.3390/ijms21217914](https://doi.org/10.3390/ijms21217914).

4.5.6. Rola metabolitów tryptofanu oraz flory jelitowej w powstawaniu objawów oraz leczeniu zespołu jelita nadwrażliwego (IBS).

Zespół jelita drażliwego (IBS, Irritable Bowel Syndrome) jest występującym globalnie zaburzeniem czynnościowym, o olbrzymim wpływie na populację. Jak dotąd jego patofizjologia nie została w pełni wyjaśniona. Jego głównym objawem jest ból brzucha związany ze zmianą postaci lub częstości oddawania stolca, występujący przez co najmniej 6 miesięcy. Objawy te są odpowiedzialne za znaczne obniżenie jakości życia pacjentów. W naszych badaniach podjęliśmy próbę wyjaśnienia mechanizmu powstawania bólu u chorych z IBS, która została oparta o pomiar stężeń niektórych metabolitów szlaku kinureninowego. Kinurenina powstaje z tryptofanu i jest następnie przekształcana dwoma szlakami metabolicznymi, które prowadzą do powstania 3-hydroksy-kinureniny i kwasu chinolinowego albo kwasu kinureninowego. 3-hydroksykinurenina zwiększa stres oksydacyjny działający na ośrodkowy układ nerwowy, zwiększając produkcję wolnych rodników tlenowych, przyczyniając się do apoptozy neuronów i zaburzenia funkcji receptorów serotonergicznych i noradrenergicznych. Kwas chinolinowy jest natomiast silnym agonistą receptorów N-metylo-D-asparagianu (NMDA) i wykazuje działanie neuroekscytacyjne i neurotoksyczne. Kwas kinureninowy natomiast, ze względu na swój antagonizm do receptorów NMDA, wykazuje działanie neuroprotektoryjne. W naszej pracy ocenialiśmy metabolity kinureniny u 37 pacjentów z rozpoznaniem wg kryteriów rzymskich zespołem jelita nadwrażliwego i u osobników zdrowych. Wykazano, że stężenie kwasu antranilowego i 3-hydroksy antranilowego (prekursora agonisty receptorów NMDA) w surowicy pacjentów z IBS jest istotnie wyższe niż u osób zdrowych, natomiast stężenie kwasu kinureninowego (antagonisty receptora NMDA) jest znamienne wyższe grupie

kontrolnej. Nie obserwowano żadnych zmian w stężeniu tryptofanu ani serotoniny w badanych grupach. Wyszliśmy hipotezę, że zaobserwowane zjawiska mogą przyczynić się do powstania dalszych badań prowadzących do wyjaśnienia powstawania bólu trzewnego w IBS.

Problematyka IBS zawsze przewija się w moim życiu aktywnego gastroenterologa i przez lata aktywnie śledziłem zagadnienia związane z zespołem jelita nadwrażliwego, aby moi pacjenci mieli dostęp do optymalnych metod diagnostyki i terapii. Doniesienia naukowe ostatnich lat jasno wskazują, że to dysregulacja dwukierunkowej komunikacji między ośrodkowym układem nerwowym (OUN) a jelitami prowadzi do zaburzeń motoryki, nadwrażliwości trzewnej i zmienionego przetwarzania w OUN, co prowadzi do rozwoju kłopotliwych dla chorych objawów, w tym bólu trzewnego. Liczne opublikowane prace sugerują, że zaburzenia mikrobiomu jelitowego mogą być kluczowo istotne dla powstawania objawów IBS. To skłoniło mnie do dokonania szerokiego przeglądu literatury na temat terapii IBS, roli mikrobioty jelitowej w patogenezie IBS oraz skutecznych metod leczenia tej choroby.

Przedstawione poniżej publikacje to wynik mojej pracy nad problematyką IBS:

1. Wollny T., G. Rydzewska G., Pawlak A., Turecka-Kulesza E., Buczek W., Łaszewicz W. Metabolity szlaku kinureniny w surowicy pacjentów z zespołem jelita nadwrażliwego – przypuszczalna rola w mechanizmie bólu trzewnego. *Gastroenterologia Polska* 2006; 13(3), 159-162.
2. Wollny T., Daniluk T., Piktel E., Wnorowska U., Bukłaha A., Głuszek K. Durnaś B. Bucki R. Targeting the Gut Microbiota to Relieve the Symptoms of Irritable Bowel Syndrome. *Pathogens* 2021; 10(12),1545; doi: [10.3390/pathogens10121545](https://doi.org/10.3390/pathogens10121545).

4.6. Bibliografia

1. Sabbadini, R.A., *Targeting sphingosine-1-phosphate for cancer therapy*. Br J Cancer, 2006. 95(9): p. 1131-5.
2. Thudichum, J.L.W., *A treatise on the chemical constitution of the brain; based throughout upon original researches*. 1884, London,: Baillière, Tindall, and Cox. xxiii, 262 p.
3. Divecha, N. and R.F. Irvine, *Phospholipid signaling*. Cell, 1995. 80(2): p. 269-78.
4. Hannun, Y.A., C. Luberto, and K.M. Argraves, *Enzymes of sphingolipid metabolism: from modular to integrative signaling*. Biochemistry, 2001. 40(16): p. 4893-903.
5. Bartke, N. and Y.A. Hannun, *Bioactive sphingolipids: metabolism and function*. J Lipid Res, 2009. 50 Suppl: p. S91-6.
6. Obinata, H. and T. Hla, *Sphingosine 1-phosphate and inflammation*. Int Immunol, 2019. 31(9): p. 617-625.
7. Wang, P., et al., *Roles of sphingosine-1-phosphate signaling in cancer*. Cancer Cell Int, 2019. 19: p. 295.
8. Watters, R.J., et al., *Targeting sphingosine-1-phosphate receptors in cancer*. Anticancer Agents Med Chem, 2011. 11(9): p. 810-7.
9. Huang, W.C., et al., *Apoptotic sphingolipid ceramide in cancer therapy*. J Lipids, 2011. 2011: p. 565316.
10. Burns, T.A. and C. Luberto, *Sphingolipid metabolism and leukemia: a potential for novel therapeutic approaches*. Anticancer Agents Med Chem, 2011. 11(9): p. 863-81.
11. Maceyka, M., et al., *Sphingosine kinase, sphingosine-1-phosphate, and apoptosis*. Biochim Biophys Acta, 2002. 1585(2-3): p. 193-201.
12. Ogretmen, B. and Y.A. Hannun, *Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment*. Nat Rev Cancer, 2004. 4(8): p. 604-16.
13. Yin, H.L. and T.P. Stossel, *Control of cytoplasmic actin gel-sol transformation by gelsolin, a calcium-dependent regulatory protein*. Nature, 1979. 281(5732): p. 583-6.
14. Osborn, T.M., et al., *Decreased levels of the gelsolin plasma isoform in patients with rheumatoid arthritis*. Arthritis Res Ther, 2008. 10(5): p. R117.
15. Watek, M., et al., *Hypogelsolinemia in Patients Diagnosed with Acute Myeloid Leukemia at Initial Stage of Sepsis*. Med Sci Monit, 2019. 25: p. 1452-1458.

16. Bucki, R., et al., *Plasma gelsolin modulates cellular response to sphingosine 1-phosphate*. Am J Physiol Cell Physiol, 2010. 299(6): p. C1516-23.
17. Xu, X.Q., et al., *S1PR1 mediates anti-apoptotic/pro-proliferative processes in human acute myeloid leukemia cells*. Mol Med Rep, 2016. 14(4): p. 3369-75.
18. Hussain, S.P. and C.C. Harris, *Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials*. Int J Cancer, 2007. 121(11): p. 2373-80.
19. Shadpour, P., et al., *Inflammatory cytokines in bladder cancer*. J Cell Physiol, 2019. 234(9): p. 14489-14499.
20. Vandamme, D., et al., *A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide*. Cell Immunol, 2012. 280(1): p. 22-35.
21. Bucki, R., et al., *Cathelicidin LL-37: a multitask antimicrobial peptide*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2010. 58(1): p. 15-25.
22. Coffelt, S.B. and A.B. Scandurro, *Tumors sound the alarmin(s)*. Cancer Res, 2008. 68(16): p. 6482-5.
23. Durr, U.H., U.S. Sudheendra, and A. Ramamoorthy, *LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides*. Biochim Biophys Acta, 2006. 1758(9): p. 1408-25.
24. Piktel, E., et al., *The Role of Cathelicidin LL-37 in Cancer Development*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2016. 64(1): p. 33-46.
25. Ren, S.X., et al., *Host immune defense peptide LL-37 activates caspase-independent apoptosis and suppresses colon cancer*. Cancer Res, 2012. 72(24): p. 6512-23.
26. Shaykhiev, R., et al., *Human endogenous antibiotic LL-37 stimulates airway epithelial cell proliferation and wound closure*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005. 289(5): p. L842-8.
27. Byfield, F.J., et al., *Cathelicidin LL-37 increases lung epithelial cell stiffness, decreases transepithelial permeability, and prevents epithelial invasion by Pseudomonas aeruginosa*. J Immunol, 2011. 187(12): p. 6402-9.
28. Kuroda, K., et al., *The Human Cathelicidin Antimicrobial Peptide LL-37 and Mimics are Potential Anticancer Drugs*. Front Oncol, 2015. 5: p. 144.
29. Wnorowska, U., et al., *Nanoantibiotics containing membrane-active human cathelicidin LL-37 or synthetic ceragenins attached to the surface of magnetic nanoparticles as novel and innovative therapeutic tools: current status and potential future applications*. J Nanobiotechnology, 2020. 18(1): p. 3.
30. Bandurska, K., et al., *Unique features of human cathelicidin LL-37*. Biofactors, 2015. 41(5): p. 289-300.

31. Xhindoli, D., et al., *The human cathelicidin LL-37--A pore-forming antibacterial peptide and host-cell modulator*. Biochim Biophys Acta, 2016. 1858(3): p. 546-66.
32. Wu, W.K., et al., *Emerging roles of the host defense peptide LL-37 in human cancer and its potential therapeutic applications*. Int J Cancer, 2010. 127(8): p. 1741-7.
33. Hancock, R.E., E.F. Haney, and E.E. Gill, *The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity*. Nat Rev Immunol, 2016. 16(5): p. 321-34.
34. Park, K., et al., *A novel role of a lipid species, sphingosine-1-phosphate, in epithelial innate immunity*. Mol Cell Biol, 2013. 33(4): p. 752-62.
35. Spiegel, S., *Sphingosine and sphingosine 1-phosphate in cellular proliferation: relationship with protein kinase C and phosphatidic acid*. J Lipid Mediat, 1993. 8(3): p. 169-75.
36. Spiegel, S. and S. Milstien, *Sphingosine-1-phosphate: an enigmatic signalling lipid*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003. 4(5): p. 397-407.
37. Degagne, E. and J.D. Saba, *Slipping fire: Sphingosine-1-phosphate signaling as an emerging target in inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer*. Clin Exp Gastroenterol, 2014. 7: p. 205-14.
38. Bamias, G. and F. Cominelli, *Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease: current concepts*. Curr Opin Gastroenterol, 2007. 23(4): p. 365-9.
39. Ilan, Y., *Oral immune therapy: targeting the systemic immune system via the gut immune system for the treatment of inflammatory bowel disease*. Clin Transl Immunology, 2016. 5(1): p. e60.
40. Huang, W.C., et al., *Emerging Role of Sphingosine-1-phosphate in Inflammation, Cancer, and Lymphangiogenesis*. Biomolecules, 2013. 3(3).
41. McKay, C.J. and C.W. Imrie, *The continuing challenge of early mortality in acute pancreatitis*. Br J Surg, 2004. 91(10): p. 1243-4.
42. Li, Q., et al., *The role of sphingosine kinase 1 in patients with severe acute pancreatitis*. Ann Surg, 2012. 255(5): p. 954-62.
43. Kononczuk, T., et al., *Plasma Sphingolipids in Acute Pancreatitis*. Int J Mol Sci, 2017. 18(12).
44. van Santvoort, H.C., et al., *A conservative and minimally invasive approach to necrotizing pancreatitis improves outcome*. Gastroenterology, 2011. 141(4): p. 1254-63.
45. Bucki, R., et al., *Plasma gelsolin: function, prognostic value, and potential therapeutic use*. Curr Protein Pept Sci, 2008. 9(6): p. 541-51.

46. Dinubile, M.J., *Plasma gelsolin: in search of its raison d'etre. Focus on "Modifications of cellular responses to lysophosphatidic acid and platelet-activating factor by plasma gelsolin"*. Am J Physiol Cell Physiol, 2007. 292(4): p. C1240-2.
47. Balkwill, F. and A. Mantovani, *Inflammation and cancer: back to Virchow?* Lancet, 2001. 357(9255): p. 539-45.
48. Coussens, L.M. and Z. Werb, *Inflammation and cancer*. Nature, 2002. 420(6917): p. 860-7.
49. Ismail, F., et al., *Primary Sjogren's syndrome and B-non-Hodgkin lymphoma: role of CD4+ T lymphocytopenia*. Rheumatol Int, 2013. 33(4): p. 1021-5.
50. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, *Hallmarks of cancer: the next generation*. Cell, 2011. 144(5): p. 646-74.
51. Keramidaris, D., et al., *Procalcitonin in patients with colorectal cancer*. J BUON, 2013. 18(3): p. 623-8.
52. Matzaraki, V., et al., *Evaluation of serum procalcitonin and interleukin-6 levels as markers of liver metastasis*. Clin Biochem, 2007. 40(5-6): p. 336-42.
53. Berg, R.D., *The indigenous gastrointestinal microflora*. Trends Microbiol, 1996. 4(11): p. 430-5.
54. Bals, R., et al., *Mouse beta-defensin 3 is an inducible antimicrobial peptide expressed in the epithelia of multiple organs*. Infect Immun, 1999. 67(7): p. 3542-7.
55. Heilborn, J.D., et al., *Antimicrobial protein hCAP18/LL-37 is highly expressed in breast cancer and is a putative growth factor for epithelial cells*. Int J Cancer, 2005. 114(5): p. 713-9.
56. Kim, J.E., et al., *The antimicrobial peptide human cationic antimicrobial protein-18/cathelicidin LL-37 as a putative growth factor for malignant melanoma*. Br J Dermatol, 2010. 163(5): p. 959-67.
57. Hase, K., et al., *Expression of LL-37 by human gastric epithelial cells as a potential host defense mechanism against Helicobacter pylori*. Gastroenterology, 2003. 125(6): p. 1613-25.
58. Wu, W.K., et al., *The host defense peptide LL-37 activates the tumor-suppressing bone morphogenetic protein signaling via inhibition of proteasome in gastric cancer cells*. J Cell Physiol, 2010. 223(1): p. 178-86.
59. An, L.L., et al., *Marked reduction of LL-37/hCAP-18, an antimicrobial peptide, in patients with acute myeloid leukemia*. Int J Hematol, 2005. 81(1): p. 45-7.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W okresie od 1.09.1994 do 30.08.1997 odbyłem stypendium naukowe w Laboratorium Farmakologii Zakrzepicy w Instytucie Consorzio Mario Negri Sud w Santa Maria Imbaro, Włochy, pod kierownictwem Prof. Marii Benedetty Donati.

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

6.1. Działalność dydaktyczna

1. W latach 1993-1994 – prowadzenie zajęć z farmakologii ze studentami Wydziału Farmacji i Oddziału Analityki Medycznej Akademii Medycznej w Białymstoku (obecnie Uniwersytet Medyczny w Białymstoku).
2. W latach 1997-1998 - prowadzenie zajęć z farmakologii ze studentami Wydziału Farmacji i Oddziału Analityki Medycznej Akademii Medycznej w Białymstoku (obecnie Uniwersytet Medyczny w Białymstoku).
3. W roku 1999: promotor pracy magisterskiej mgr Agnieszki Stępień (temat: „Ocena przeciwwzakrzepowego działania wina czerwonego”) oraz Małgorzaty Anny Ludwiniak (temat: „Udział tlenu azotu w przedłużaniu czasu krwawienia wywołanego podawaniem szczurom czerwonego wina”).
4. W latach 1998-2000 – prowadzenie zajęć z chorób wewnętrznych i gastroenterologii ze studentami Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Białymstoku (obecnie Uniwersytet Medyczny w Białymstoku).
5. W latach 2019-2022 - prowadzenia zajęć z gastroenterologii ze studentami Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu im. Jana Kochanowskiego w Kielcach.

6.2. Działalność organizacyjna

1. Od roku 2000 organizacja od podstaw Działu Terapii i Diagnostyki Gastroenterologicznej w Świętokrzyskim Centrum Onkologii w Kielcach. Moja rola: zaplanowanie wyposażenia jednostki w nowoczesny sprzęt endoskopowy oraz realizacja zakupu wyposażenia, zbudowanie i wyszkolenie wzajemnie uzupełniających się zespołu lekarzy oraz pielęgniarek endoskopowych.
2. Od 2007 współorganizator oraz współprowadzący coroczną konferencję naukowo-szkoleniową pt.: Kielecki Dzień Gastroenterologiczny (łącznie 13 edycji).

6.3. Działalność popularyzująca naukę

Prezentacje i udział jako wykładowca w następujących szkoleniach na terenie Polski:

1. Nowoczesne metody leczenia raka żołądka z uwzględnieniem oznaczania HER2. Klub Endoskopowy i zebranie naukowo-szkoleniowe Oddziału Podlaskiego Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii; Giżycko, 23.05. 2015.
2. Zasadność oznaczania HER2 u pacjentów z rakiem żołądka - jesienne zebranie naukowo-szkoleniowe Oddziału Świętokrzyskiego Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii; Kielce, 25.09.2015.
3. Rak jelita grubego. Rola endoskopii. Wspólne posiedzenie naukowo – szkoleniowe Oddziału Świętokrzyskiego Towarzystwa Chirurgów Polskich i Oddziału Świętokrzyskiego Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii; Kielce, 18.12.2015.
4. Diagnostyka chorób nowotworowych dolnego odcinka układu pokarmowego pod kątem karty onkologicznej. Europejski Program Edukacyjny (EPE) – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Arłamów, 09.04.2016.
5. Diagnostyka chorób nowotworowych układu pokarmowego. Karta Diagnostyki i Leczenia Onkologicznego w praktyce codziennej. Europejski Program Edukacyjny (EPE) – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Łódź, 05.09.2016.
6. Nowotwory przewodu pokarmowego z punktu widzenia lekarza POZ. Europejski Program Edukacyjny (EPE) – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Bukowina Tatrzańska, 15.04.2016.
7. Endoskopowa dyssekcja podśluzówkowa w jelicie grubym. Posiedzenie naukowo- szkoleniowe Oddziału Świętokrzyskiego Towarzystwa Chirurgów Polskich Kielce, 14.12.2016.
8. Niewydolność zewnątrzwydzielniczą trzustki. Cykl wykładów dla lekarzy POZ. Kielce, jesień 2017.
9. Aktualne wytyczne w leczeniu schorzeń górnego odcinka przewodu pokarmowego. Analiza przypadków. Europejski Program Edukacyjny (EPE) – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Białka Tatrzańska, 13.05.2017.
10. Niewydolność zewnątrzwydzielniczą trzustki – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ z województwa lubelskiego. Trojanów Talaría k/Ryków, 26.08.2017.

11. Zespół jelita drażliwego w podstawowej opiece zdrowotnej. Europejski Program Edukacyjny (EPE) – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Białka Tatrzańska - konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Białka Tatrzańska, 15.10.2017.
12. IBS a choroba uchyłkowa - overlap objawów a postępowanie terapeutyczne. Wiosenne posiedzenie szkoleniowe Podlaskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. Piaski k/Rucianego Nida, 25.05.2019.
13. Postępowanie w SIBO/IBS. Szkolenie dla lekarzy POZ, Kielce, 07.06.2019.
14. Elementy nowych wytycznych diagnostyczno - terapeutycznych w zespole jelita drażliwego. Szkolenie dla lekarzy POZ. Sobków k/Kielc, 28.6.2019.
15. Kurs dla diagnostów laboratoryjnych odbywających specjalizację w dziedzinie Mikrobiologii Medycznej pt.: Etiologia, obraz kliniczny i diagnostyka zakażeń przewodu pokarmowego i zatruc pokarmowych. Prowadzenie cyklu wykładów pt.: Terapia zakażeń przewodu pokarmowego, Wybrane zakażenia pasożytnicze przewodu pokarmowego, Zakażenia wywołane przez *Campylobacter* (i gatunki pokrewne), Zakażenia wywołane przez przecinkowce, Postępowanie w infekcji *Helicobacter pylori* aktualny konsensus. Białystok, 2-4.2.2022.
16. GERD, czy jest miejsce dla prokinetyków w gabinecie lekarza POZ? Cykl wykładów dla lekarzy POZ. Kielce, Tarnów, Rzeszów, Krosno: wiosna – jesień, 2022.
17. Maślan sodu - nowe praktyczne zastosowania w gabinecie lekarza POZ. Europejski Program Edukacyjny (EPE) – konferencja szkoleniowa dla lekarzy POZ. Białka Tatrzańska, 1.10.2022.
18. Wiele pytań – jedna odpowiedź; zaburzenia motoryczne przewodu pokarmowego. Cykl wykładów dla lekarzy POZ. Jędrzejów, Kielce, Radom, Stalowa Wola, Ostrowiec Świętokrzyski, maj-czerwiec 2023.

7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej

7.1. Nagrody za działalność naukową lub artystyczną

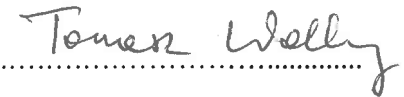
Indywidualna Nagroda II^o Rektora Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 1999/2000.

7.2. Działalność edytorska i recenzencka

Recenzent czasopisma The Lancet Infectious Diseases's.

7.3. Inne

1. 30 letnie doświadczenie w zawodzie lekarza.
2. Przebyte szkolenia i nabycie umiejętności w podstawowych i zaawansowanych technikach endoskopowych w zakresie przewodu pokarmowego prowadzonych przez dyplomowanych Mistrzów Endoskopii Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii (dr n. med. Andrzej Baniukiewicz, dr n. med. Jan Pertkiewicz, dr n. med. Jacek Pachlewski).
3. Od 1998 członek Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii.


.....
(podpis wnioskodawcy)