

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Alicja Kalinowska-Łyszczarz

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

08.06.2006: dyplom lekarza, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Wydział Lekarski I

19.10.2011: doktor nauk medycznych – na podstawie rozprawy pt. *Wybrane czynniki neurotroficzne w odniesieniu do sprawności funkcji poznawczych oraz parametrów morfometrycznych mózgowia u pacjentów z rzutowo-remisyjną postacią stwardnienia rozsianego*, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Wydział Lekarski I

15.04.2013: specjalizacja w dziedzinie neurologii, Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi

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

2007-2011: studia doktoranckie w Zakładzie Neuroimmunologii Klinicznej Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

01.11.2011-30.09.2012: asystent w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

01.10.2012 - nadal: adiunkt w Zakładzie Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego:

Charakterystyka wybranych parametrów immunologicznych, neuroobrazowych oraz neuropsychologicznych w chorobach autoimmunologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem stwardnienia rozsianego i toczenia rumieniowego układowego

Osiągnięcie zostało udokumentowane – zgodnie z wytycznymi Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu – cyklem czterech oryginalnych publikacji, powiązanych tematycznie, opublikowanych w czasopismach z Listy Filadelfijskiej – **całkowity wskaźnik wpływu (impact factor, IF) =10, 896, całkowita punktacja MNiSW =95**). Wymienione prace powstały po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych.

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

Publikacja nr 1.

Kalinowska-Łyszczarz Alicja, Michalak Sławomir, Pawlak Mikołaj A., Losy Jacek, Kozubski Wojciech. Serum sPECAM-1 and sVCAM-1 levels are associated with conversion to multiple sclerosis in patients with optic neuritis. *J Neuroimmunol.* 2016 Nov 15;300:11-14. doi: 10.1016/j.jneuroim.2016.10.003. Epub 2016 Oct 6. PubMed PMID: 27806869.

Impact Factor 2,720, Punktacja Min. Nauki: 25

Mój udział w pracy szacuję na 80% (autorska koncepcja pracy, rekrutacja grupy badanej, ocena kliniczna pacjentów, współudział w wykonaniu analizy statystycznej, interpretacja wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku, polemika z recenzentami).

Publikacja nr 2.

Kalinowska-Lyszczarz Alicja, Pawlak Mikołaj A., Pietrzak Anna, Pawlak-Bus Katarzyna, Leszczynski Piotr, Puszczewicz Mariusz, Paprzycki Włodzimierz, Kozubski Wojciech, Michalak Sławomir. Distinct regional brain atrophy pattern in multiple sclerosis and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* 2018 Sep;27(10):1624-1635. doi: 10.1177/0961203318781004. Epub 2018 Jun 27. PubMed PMID: 29950159.

Impact Factor 2,969, Punktacja Min. Nauki: 25.000

Mój udział w pracy szacuję na 60% (współtworzenie autorskiej koncepcji badań, rekrutacja grup badanych, ocena kliniczna pacjentów, udział w analizie danych neuroobrazowych,

wykonanie analizy statystycznej, interpretacja wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku, polemika z recenzentami).

Publikacja nr 3.

Kalinowska-Łyszczarz Alicja, Pawlak Mikołaj A., Pietrzak Anna, Pawlak-Buś Katarzyna, Leszczyński Piotr, Puszczewicz Mariusz, Majewski Dominik, Paprzycki Włodzimierz, Kozubski Wojciech, Michalak Sławomir. Subcortical gray matter atrophy is associated with cognitive deficit in multiple sclerosis but not in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2018 Apr;27(4):610-620. doi: 10.1177/0961203317735186. Epub 2017 Oct 9. PubMed PMID: 28992796 **Impact Factor 2,969, Punktacja Min. Nauki: 25.000**

Mój udział w pracy szacuję na 65% (współtworzenie koncepcji badań, rekrutacja grup badanych, ocena kliniczna i psychometryczna pacjentów, wykonanie analizy statystycznej, interpretacja wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku, polemika z recenzentami).

Publikacja nr 4.

Kalinowska-Łyszczarz Alicja, Pawlak Mikołaj A., Wyciszkiewicz Aleksandra, Pawlak-Buś Katarzyna, Leszczyński Piotr, Puszczewicz Mariusz, Paprzycki Włodzimierz, Kozubski Wojciech, Michalak Sławomir. Immune Cell Neurotrophin Production Is Associated with Subcortical Brain Atrophy in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Neuroimmunomodulation*. 2017;24(6):320-330. doi: 10.1159/000487139. Epub 2018 Mar 14.

Impact Factor 2,238, Punktacja Min. Nauki: 20.000

Mój udział w pracy szacuję na 70% (autorska koncepcja pracy, rekrutacja grupy badanej, udział w opracowaniu protokołu laboratoryjnego, analiza statystyczna, interpretacja wyników, napisanie i przygotowanie manuskryptu do druku, polemika z recenzentami).

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

Charakterystyka wybranych parametrów immunologicznych, neuroobrazowych oraz neuropsychologicznych w chorobach autoimmunologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem stwardnienia rozsianego i toczenia rumieniowatego układowego

Ośrodkowy układ nerwowy (OUN), pomimo obecności bariery krew-mózg, tradycyjnie uznawanej za gwarancję immunologicznego uprzywilejowania (co oznacza brak kontaktu OUN z obwodowym układem immunologicznym), wchodzi w złożone interakcje z komórkami immunologicznymi. Nierzadko przybierają one formę reakcji autoimmunologicznych. Zjawisko autoimmunologii obserwuje się w OUN zarówno w warunkach fizjologicznych, gdy sieć immunologicznych zależności reguluje procesy neuroplastyczności i regeneracji [Ortega-Hernandez 2014], jak i w przebiegu chorób autoimmunologicznych.

Prototypową chorobą autoimmunologiczną, która wybiórczo zajmuje ośrodkowy układ nerwowy, powodując wieloogniskową demielinizację i zmiany neurodegeneracyjne, jest stwardnienie rozsiane (łac. sclerosis multiplex, SM). Patofizjologia SM do dziś nie została jednoznacznie określona, mimo że dysponujemy wnikliwą charakterystyką neuropatologiczną choroby [Lucchinetti et al. 2000], wiedzą na temat immunologicznych i środowiskowych czynników ryzyka zachorowania [Thompson et al. 2018a] oraz precyzyjnymi definicjami klinicznymi i neuroobrazowymi [Thompson et al. 2018b; Lublin et al. 2014]. Swoistym przełomem w rozumieniu chorób istoty białej było wyodrębnienie spektrum *neuromyelitis optica* (NMOsd, ang. neuromyelitis optica spectrum disorders) [Wingerchuk et al. 2006; Wingerchuk et al. 2015], kiedyś określanego jako źle rokujący wariant stwardnienia rozsianego (choroba Devica), objawiający się zapaleniem nerwów wzrokowych i rdzenia, który okazał się astrocypatią spowodowaną przeciwciałami przeciwko akwaporynie 4 [Lennon et al. 2005], z wtórną w istocie demielinizacją. Przeciwciała przeciwko akwaporynie 4 (NMO-IgG) uznano za wysoce specyficzny marker NMO, choć dziś już wiadomo, że w ramach spektrum NMO istnieją także przypadki seronegatywne, definiowane na podstawie objawów klinicznych oraz bardziej restrykcyjnych kryteriów neuroobrazowych [Wingerchuk et al. 2015].

W przeciwieństwie do NMO, w stwardnieniu rozsianym nie opisano dotąd jednego, wysoce specyficznego markera choroby. Aktualnie obowiązujące kryteria rozpoznania SM [Thompson et al. 2018b; Lublin et al. 2014] służą potwierdzeniu choroby u pacjentów z klasycznym przebiegiem, ale nie mają wartości różnicującej z inną patologią istoty białej w przypadku sytuacji mniej typowych. Do schorzeń, które wymagają różnicowania ze stwardnieniem

rozszianym, należy toczeń rumieniowaty układowy (ang. systemic lupus erythematosus, SLE), klasyczna wieloukładowa choroba autoimmunologiczna, w której zajęcie OUN stanowi jedną z wielu możliwych manifestacji [Petri et al. 2012].

Pod względem biologii, epidemiologii oraz immunologii stwardnienie rozsiane i toczeń cechuje szereg podobieństw: dotyczą przede wszystkim młode kobiety i wiążą się ze zjawiskiem poliautoimmunizacji. Markery laboratoryjne wykorzystywane do diagnostyki obydwu schorzeń charakteryzują się niewystarczającą swoistością w ich rozróżnieniu. Obecność przeciwciał przeciwjądrowych, choć typowa dla pacjentów z toczeniem, może być jednak stwierdzana także u nawet 81% osób chorujących na SM [Magro Checa et al. 2013]. Z kolei przeciwciała skierowane przeciwko dwuniciowemu DNA (anty-dsDNA), choć wysoce specyficzne dla toczenia, są mniej przydatne w diagnostyce toczenia neuropsychiatrycznego (ang. neuropsychiatric SLE, NPSLE) [Mostafa et al. 2010], która to postać nierzadko wymaga różnicowania ze stwardnieniem rozsianym, zwłaszcza w przypadku obecności rozsianych zmian w istocie białej mózgowia, stwierdzanych w badaniu tomografii rezonansu magnetycznego (ang. magnetic resonance imaging, MRI). Prążki oligoklonalne, które stanowią dowód na intratekalną syntezę immunoglobulin w stwardnieniu rozsianym, mogą być obecne u do 60% pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym [Unterman et al. 2011; Mok et al. 2007]. Pomimo wielu oczywistych podobieństw, SM jest chorobą wybiórczo zajmującą OUN, podczas gdy w toczeniu zajęcie układu nerwowego obserwuje się w 25-75%, przy czym zdecydowaną większość tych przypadków (około 90%) stanowi manifestacja ośrodkowa, a nie obwodowa [Nived et al. 2003; Hanly et al. 2007]. Poza ewidentnymi klinicznie i radiologicznie powikłaniami naczyniowymi (np. udary – niedokrwienny i żylny, krwotok), stwierdzane w MRI ogniska uszkodzenia istoty białej w przebiegu toczenia są zwykle nieswoiste i wymagają różnicowania ze zmianami demielinizacyjnymi spowodowanymi stwardnieniem rozsianym. Innym interesującym aspektem zajęcia OUN przez toczeń rumieniowaty układowy są zaburzenia funkcji poznawczych, które nierzadko nie korelują z obrazem radiologicznym [Luyendijk et al. 2011; Steup-Beekman et al. 2013], a ich patogeneza i zależność od przeciwciał jest nadal niejasna [Faust et al. 2010].

Niniejszy cykl publikacji, prezentowany przeze mnie jako osiągnięcie naukowe, miał na celu interdyscyplinarną analizę i interpretację zjawisk związanych z zajęciem istoty białej OUN w przebiegu wybranych chorób autoimmunologicznych. W szczególności, analiza porównawcza stwardnienia rozsianego i toczenia rumieniowatego układowego, poprzez próbę połączenia różnych dziedzin (neurologia, reumatologia, neuroradiologia) i narzędzi

badawczych (immunologia, neuroobrazowanie i neuropsychologia), pozwoliła wyodrębnić dotąd nieznane dane ich cechy swoiste. Proponowane poniżej markery wymagają walidacji na większych populacjach, aby znalazły zastosowanie kliniczne, niemniej już teraz pozwalają na wyznaczenie kierunków dalszych badań podstawowych w chorobach autoimmunologicznych z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego.

Niniejsze osiągnięcie naukowe w dużej mierze stanowi **efekt realizacji kierowanego przeze mnie projektu naukowego, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, NCN** (projekt nr 2012/07/B/NZ6/03529 wyłoniony w konkursie OPUS pt. *Zaawansowane techniki oceny uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego w oparciu o badania neuroobrazowe, neuroimmunologiczne i neuropsychologiczne*, realizowany w okresie 07.2013-07.2017, kwota finansowania 498 822 PLN).

Omawiany cykl publikacji rozpoczyna praca nr 1 [**Kalinowska-Łyszczarz Alicja et al. Serum sPECAM-1 and sVCAM-1 levels are associated with conversion to multiple sclerosis in patients with optic neuritis. J Neuroimmunol. 2016**], której celem było poszukiwanie markerów predykcyjnych, zapowiadających rozwój chorób autoimmunologicznych OUN. W niniejszej pracy do analizy wybrano grupę pacjentów z pierwszym w życiu epizodem zapalenia pozagałkowego nerwu wzrokowego (ang. optic neuritis, ON), u których w momencie rozpoznania nie stwierdzono odchyłań w badaniu MRI głowy, ani innych objawów neurologicznych czy też układowych. Zapalenie pozagałkowe jest często pierwszym objawem SM (stanowi wówczas tzw. klinicznie izolowany zespół objawów neurologicznych, ang. clinically isolated syndrome, CIS), niemniej może być także symptomem innych chorób autoimmunologicznych, zarówno pierwotnie neurologicznych (spektrum NMO), jak i układowych (np. toczeń rumieniowaty układowy, zespół Sjögrena) [Wingerchuk & Weinshenker BG 2012]. U pacjentów z grupy badanej w czasie 7 dni od początku objawów ON pobrano krew celem uzyskania próbek surowicy, w których oznaczono przeciwciała przeciwko akwaporynie 4 (NMO-IgG) oraz stężenie wybranych cząsteczek adhezyjnych: rozpuszczalnych form cząsteczki adhezji komórkowej płytek i śródbłónka (sPECAM-1, ang. soluble Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1) i cząsteczki adhezji komórkowej naczyń (sVCAM-1, ang. soluble Vascular Cell Adhesion Molecule 1). Cząsteczki adhezyjne odgrywają kluczową rolę w procesie transmigracji leukocytów przez śródbłonek naczyńniowy, co stanowi ważny etap kaskady zdarzeń prowadzących do rozwoju zapalenia w obrębie OUN. Celem niniejszej pracy było określenie, czy sPECAM-1 i sVCAM-1 mogą być potencjalnymi markerami

różnicującymi pacjentów z pierwszym epizodem ON, którzy w przyszłości rozwiną lub nie poszczególne choroby autoimmunologiczne. Pacjentów poddano pięcioletniej obserwacji, podczas której co 12 miesięcy byli oni badani podmiotowo i przedmiotowo, a w przypadku wskazań klinicznych poszerzano diagnostykę o dodatkowe badania immunologiczne i neuroobrazowe. Poniżej przedstawiono najważniejsze wyniki publikacji nr 1:

1. W czasie pięcioletniej obserwacji po pierwszym izolowanym zapaleniu pozagałkowym nerwu wzrokowego u 58,62 % pacjentów potwierdzono rozpoznanie stwardnienia rozsianego, 31,03 % nie rozwinęło żadnych nowych objawów, u dwóch pacjentów (6,9 %) rozpoznano spektrum NMO, a u jednego pacjenta postawiono rozpoznanie zespołu Sjögrena (3,45 %).
2. W porównaniu z grupą kontrolną zdrowych ochotników, podczas zapalenia pozagałkowego nerwu wzrokowego stężenie sPECAM-1 w surowicy pacjentów było istotnie niższe (mediana 66,8 ng/ml względem 109,5 ng/ml, $p < 0,01$), a stężenie sVCAM-1 nie różniło się istotnie.
3. Pacjenci z ON, którzy w okresie pięcioletniej obserwacji spełnili kryteria rozpoznania SM, mieli istotnie niższe stężenie surowicze zarówno sPECAM-1, jak i sVCAM-1, względem osób, które nie rozwinęły SM. Na podstawie analizy krzywych ROC (ang. Receiver Operating Characteristic) jako optymalny punkt odcięcia wyznaczono stężenie $\leq 67,47$ ng/ml dla sPECAM-1 (czułość 81,2%, specyficzność 76,9%, pole pod wykresem krzywej ROC, ang. area under the curve, $AUC = 0,73$, $p = 0,03$) oraz $\leq 837,03$ ng/ml dla sVCAM-1 (czułość 87,5%, specyficzność 61,5%, $AUC = 0,76$, $p = 0,007$).
4. W zakresie seropozytywności pod względem NMO-IgG podczas objawów zapalenia pozagałkowego, u 5 na 29 pacjentów potwierdzono obecność NMO-IgG. W czasie pięcioletniej obserwacji, spośród 5 przypadków seropozytywnych u dwóch osób potwierdzono rozpoznanie spektrum NMO, dwie pozostały klinicznie bezobjawowe, a jedna osoba spełniła kryteria rozpoznania SM.

Na podstawie wyżej opisanych wyników określono, że wartości surowiczych stężeń **sPECAM-1 i sVCAM-1 mogą stanowić potencjalne markery późniejszej konwersji do stwardnienia rozsianego u pacjentów z zapaleniem pozagałkowym nerwu wzrokowego. Jest to pierwsza praca, w której poddano analizie rolę PECAM-1 i VCAM-1 w zapaleniu pozagałkowym nerwu wzrokowego.** Rozpuszczalne formy PECAM-1 i VCAM-1 są uważane za markery uszkodzenia bariery krew-mózg. Ważnym wnioskiem z niniejszej pracy jest określenie, że mniejsze uszkodzenie bariery krew-mózg na początku choroby autoimmunologicznej, wbrew

intuicyjnemu rozumowaniu, może być w istocie czynnikiem niekorzystnym rokowniczo. Dotychczas zjawisko tzw. „uwięzienia” (ang. entrapment) stanu zapalnego za barierą krew-mózg opisywano w późnej, wtórnie postępującej fazie stwardnienia rozsianego, kiedy stan zapalny stopniowo ulega ograniczeniu, a w patofizjologii choroby dominują procesy neurodegeneracyjne [Lassmann 2007]. Wedle wiedzy autorów, niniejsza publikacja jako pierwsza proponuje koncepcję uwięzienia stanu zapalnego za barierą krew-mózg na etapie CIS.

Ponadto, w niniejszej pracy wskazano, iż seropozytywność w zakresie NMO-IgG nie musi determinować rozwoju klinicznie jawnego NMOsd. W naszej grupie badanej dwie osoby, pomimo obecności przeciwciał przeciwko akwaporynie 4 podczas epizodu zapalenia pozagałkowego, w czasie pięcioletniej obserwacji nie rozwinęły innych objawów NMOsd. Zgodnie z wiedzą o naturalnym przebiegu chorób ze spektrum NMO, jest mało prawdopodobne, aby pacjenci przez 5 lat pozostali bezobjawowi. Kolejny pacjent rozwinął klasyczną symptomatologię stwardnienia rozsianego, ze stosunkowo łagodnym przebiegiem i typowymi dla SM zmianami w badaniu MRI, pozostając nadal seropozytywnym w zakresie NMO-IgG. Zatem nawet w przypadku dobrze określonych markerów, jak przeciwciała przeciwko akwaporynie 4 w NMOsd, nadal istnieje potrzeba poszukiwania kolejnych czynników różnicujących choroby ze spektrum demielinizacji OUN. Przykładem z ostatnich lat, który został włączony do praktyki klinicznej, mogą być przeciwciała skierowane przeciwko mielinowemu białku oligodendrocytów (anty-MOG, ang. myelin oligodendrocyte glycoprotein). **Publikacja nr 1 z niniejszego cyklu wpisuje się w nurt badawczy dążący do opracowania wieloczynnikowej stratyfikacji ryzyka autoimmunologicznych chorób OUN, z wykreśleniem swoistej mapy biomarkerów, do której proponujemy włączyć m.in. cząsteczki adhezyjne.**

Publikacja nr 2 [Kalinowska-Lyszczyńska A et al. **Distinct regional brain atrophy pattern in multiple sclerosis and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus patients. Lupus. 2018**] kontynuuje wątek różnicowania chorób autoimmunologicznych z zajęciem OUN – w aspekcie neuroobrazowania. Wobec trudności w diagnostyce różnicowej stwardnienia rozsianego i toczenia rumieniowatego układu na podstawie aktualnie obowiązujących kryteriów rozpoznania, gdy objawom neurologicznym towarzyszy obecność niespecyficznych, rozsianych uszkodzeń w istocie białej, celem publikacji nr 2 było określenie, czy powyższe schorzenia różnią się w zakresie parametrów zaniku (atrofii) mózgowia oraz czy potencjalne odrębności w tym zakresie mogą służyć diagnostyce różnicowej bardziej precyzyjnie niż charakterystyka zmian ogniskowych w istocie białej. Uszkodzenia w istocie białej występują

w 40-60% przypadków toczenia z zajęciem OUN [Roura et al. 2016; Sarbu et al. 2015], a ich jednoznaczne odróżnienie od zmian demielinizacyjnych w przebiegu SM nie jest aktualnie możliwe, szczególnie przy użyciu klasycznych sekwencji i standardowej indukcji pola skanera MRI (1,5-3 Tesla).

W niniejszej pracy stworzono oparty na wielu zmiennych model diagnostyczny regresji krokowej, łączący markery wolumetryczne atrofii globalnej, atrofii jąder podkorowych oraz parametry kliniczne, celem wyodrębnienia parametrów badania MRI najlepiej różnicujących SM i toczeń. Zagadnienie atrofii jest stosunkowo dobrze opisane w kontekście stwardnienia rozsianego, natomiast danych na temat znaczenia i charakteru zaniku mózgowia w toczeniu jest znacznie mniej i są sprzeczne [Appenzeller et al. 2005; Tamires Lapa et al. 2016; Sarbu et al. 2017]. W niniejszej pracy po raz pierwszy w literaturze przedmiotu dokonano zestawienia obydwu schorzeń w kontekście wolumetrycznych markerów atrofii.

Do badania włączono grupę 38 pacjentów z rozpoznaniem toczenia rumieniowatego układowego według kryteriów American College of Rheumatology [Nived et al. 2003] oraz 37 pacjentów z postacią rzutowo-remisyjną stwardnienia rozsianego rozpoznaną zgodnie z obowiązującymi kryteriami McDonalda [Polman et al. 2005; Polman et al. 2011]. Wszyscy pacjenci z toczeniem spełniali kryteria toczenia neuropsychiatrycznego, ale żaden z nich nie miał wywiadu powikłań naczyniowych w obrębie OUN (udar niedokrwienny, krwotoczny, czy żylny). Co ważne, grupy były dopasowane pod względem wieku oraz czasu trwania choroby, gdyż obydwie te zmienne mogą istotnie wpływać na markery atrofii mózgowia. Protokół obrazowania na 1,5-T skanerze tomografii rezonansu magnetycznego obejmował m.in. sekwencje wolumetryczne T1 (Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo, MPRAGE) oraz FLAIR-SPACE (fluid-attenuated inversion recovery – sampling perfection with application optimized contrast using different flip-angle evolutions). Celem identyfikacji struktur OUN, których zajęcie w przebiegu choroby podstawowej różni się między SM a toczeniem, zastosowaliśmy metodę analizy wokselowej w oparciu o wyniki protokołu elastycznej rejestracji ANTS-SyN, oprogramowania FSL Randomise oraz Gamma, a następnie potwierdziliśmy wyniki poprzez analizę statystyczną danych wolumetrycznych uzyskanych za pomocą segmentacji mózgowia przy użyciu programu Freesurfer 5.3. **Dwuetaapowe podejście oraz zastosowanie zaawansowanych metod analizy obrazu MRI, które dały zgodne wyniki, stanowi o rzetelności naukowej oraz nowatorskim charakterze omawianego badania.**

Warto podkreślić, że w niniejszej pracy zaproponowano i po raz pierwszy opublikowano formułę nowego wskaźnika oceniającego atrofię struktur pośrodkowych (ang. mid-sagittal) mózgowia: wskaźnik stosunku objętości trzeciej komory do średniej objętości wzgórza (ang. third ventricle to thalamus ratio, 3VTR).

Najistotniejsze wyniki pracy można podsumować w następujący sposób:

1. Po raz pierwszy określono, że istnieje odrębny wzorzec zaniku mózgowia w stwardnieniu rozsianym i toczeniu rumieniowatym układowym.
2. Struktury, których objętość ma najwyższy potencjał różnicujący między SM a toczeniem, to czwarta komora (mediana 2009 mm³ w SM względem 1513 mm³ w toczeniu, $p < 0,001$), tylna część ciała modzelowatego (średnia 752 mm³ w SM względem 879 mm³ w toczeniu, $p = 0,007$) oraz trzecia komora (średnia 1510 mm³ w SM względem 1174 mm³ w toczeniu, $p = 0,009$), wraz ze wskaźnikiem 3VTR (mediana 0,2 w SM względem 0,16 w toczeniu, $p = 0,03$). Zatem w SM, w przeciwieństwie do pacjentów z neurotoczeniem, sparowanych pod względem wieku i czasu trwania choroby, stwierdzono wyraźną atrofię struktur pośrodkowych, co może wynikać z procesu neurodegeneracji, być może niezależnego od stanu zapalnego.
3. Znajomość opisanych powyżej odrębności ma potencjał praktycznego zastosowania w różnicowaniu obydwu schorzeń na podstawie analizy obrazu MRI.
4. Zarówno w SM, jak i w neurotoczeniu, objętość układu komorowego oraz całkowita objętość uszkodzeń istoty białej koreluje z czasem trwania choroby. Odmienna jest natomiast zależność między klinicznymi cechami przebiegu/aktywności choroby a parametrami wolumetrycznymi mózgowia. W SM większość pomiarów wolumetrycznych korelowała z kliniczną niepełnosprawnością określaną w skali EDSS (ang. Expanded Disability Status Scale), tzn. im niższe objętości struktur podkorowych i im wyższe globalne miary atrofii, tym większa niepełnosprawność. Z kolei w toczeniu jedynie pojedyncze parametry miały związek z aktywnością choroby mierzoną skalami SLEDAI (SLE Disease Activity Index) oraz SLICC/ACR Damage Index (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ACR, SLICC/ACR) Damage Index. W toczeniu miary atrofii korelowały przede wszystkim z wiekiem pacjentów, jak ma to miejsce w populacji osób zdrowych. W SM jedynie objętość trzeciej komory, jąder ogoniastych i skorup korelowała z wiekiem. Zatem można wnioskować, że w toczeniu atrofia mózgowia zależy od wieku pacjentów, a w SM od aktywności choroby.

Najważniejsze osiągnięcie omawianej publikacji z cyklu to wskazanie po raz pierwszy markerów atrofii (objętość trzeciej i czwartej komory, objętość tylnej części ciała modelowego oraz zaproponowany przez naszą grupę wskaźnik 3VTR), które mają potencjał różnicujący SM i neurotoczeń. Wyniki niniejszej pracy dostarczają naukowych podstaw do praktycznego zastosowania parametrów zaniku mózgowia w procesie diagnostyki różnicowej SM i toczenia w sytuacji, gdy badania biochemiczne i immunologiczne oraz obraz kliniczny, a także tradycyjne metody obrazowania MRI, nie pozwalają na postawienie jednoznacznego rozpoznania.

W publikacji nr 3 [Kalinowska-Łyszcza Alicja et al. *Subcortical gray matter atrophy is associated with cognitive deficit in multiple sclerosis but not in systemic lupus erythematosus patients. Lupus. 2018*], która również opiera się na zestawieniu dwóch grup badanych, tzn. pacjentów z postacią rzutowo-remisyjną SM oraz pacjentów z neurotoczeniem, podjęto z kolei zagadnienie zaniku jąder podkorowych w kontekście zaburzeń funkcji poznawczych. Nawiązując do powyżej omówionej pracy, w której wykazaliśmy, że atrofia struktur podkorowych jest cechą specyficzną dla SM, celem publikacji nr 3 było określenie, czy istnieje zależność między objętością podkorowej istoty szarej oraz globalnymi miarami atrofii a zaburzeniami funkcji poznawczych w SM i w toczeniu. Obydwie choroby mogą skutkować deficytem poznawczym, który istotnie wpływa na jakość życia pacjentów. Częstość zaburzeń poznawczych szacowana jest na 40-60% pacjentów z SM [Benedict et al. 2006] oraz 21 do 81% pacjentów z toczeniem [Ainiala et al. 2001; Hanly et al. 1992], przy czym w toczeniu nierzadko pojawiają się one u pacjentów bez jakichkolwiek uszkodzeń w obrębie istoty białej, a więc nie korelują z obrazem radiologicznym (z wyjątkiem powikłań naczyniowych OUN). Zatem trudno jednoznacznie określić przyczynę zaburzeń poznawczych w przebiegu toczenia. Do czasu powstania naszej pracy opublikowano jedynie kilka doniesień porównujących obydwa schorzenia w kontekście funkcji poznawczych [Benedict et al. 2008; Hanly et al. 2010; Covey et al. 2012; Cesar et al. 2015], ale w żadnej z tych prac nie analizowano aspektu objętości podkorowej istoty szarej. Hipoteza badawcza publikacji nr 3 zakłada, że nasilenie zaburzeń funkcji poznawczych jest porównywalne w SM i w toczeniu rumieniowatym układowym, pomimo znacznie większego uszkodzenia strukturalnego w SM. Celem weryfikacji powyższego założenia w obydwu grupach badanych (opisanych w publikacji nr 2), po wykluczeniu ciężkiej depresji, wykonano zestaw testów neuropsychologicznych/psychometrycznych, oceniających podstawowe funkcje poznawcze

(pamięć, uwaga, myślenie abstrakcyjne, przetwarzanie informacji wzrokowych, przerzutność uwagi). Grupy nie różniły się istotnie pod względem poziomu wykształcenia.

Najistotniejsze wyniki publikacji nr 3 można podsumować w następujący sposób:

1. W grupie chorych na stwardnienie rozsiane zdecydowana większość wyników psychometrycznych koreluje z objętością jąder podkorowych oraz globalną atrofią mózgowia (wskaźnik objętości miąższu do objętości mózgu, ang. brain parenchymal fraction, BPF) i całkowitą objętością zmian w istocie białej, a także z poziomem wykształcenia. Im większy jest zanik, zarówno podkorowy, jak i globalny, oraz im krótszy czas edukacji, tym gorsze wyniki psychometryczne. Jednakże w modelu regresji krokowej uwzględniającym zmienne wolumetryczne oraz kliniczne, dla poszczególnych testów psychometrycznych istotność osiągnęły: objętości jąder ogoniastych (dla testu łączenia punktów typu A i B, ang. trail making tests, TMT), które okazały się nawet silniejszym korelatem wyniku niż poziom wykształcenia (model o wartościach $R^2=0,68$, $p=0,001$ dla TMT-A oraz $R^2=0,67$, $p=0,0004$ dla TMT-B); objętość prawej gałki bladej i poziom wykształcenia dla Testu Matrycy Ravena w wersji kolorowej (model o wartościach $R^2=0,68$, $p=0,0004$); objętość prawego wzgórza i prawego jądra migdałowatego, a także BPF i czas trwania choroby dla testu zapamiętywania szczegółów ($R^2=0,68$, $p=0,0003$); całkowita objętość uszkodzeń dla testu spontanicznego tworzenia grup słów ($R^2=0,30$, $p=0,02$).
2. W grupie chorych na toczeń rumieniowaty układowy żaden z wyników psychometrycznych nie korelował z globalną miarą atrofii wyrażoną jako wskaźnik BPF, ani z aktywnością choroby (SLEDAI, SCLICC/ACR Damage Index), ale wyłącznie z poziomem wykształcenia. Jedynie wynik Testu Matrycy Ravena w wersji kolorowej korelował z objętością wzgórz, gałek białych, skorup i prawego jądra ogoniastego, wynik TMT-A z objętością prawego wzgórza, a wynik testu zapamiętywania szczegółów z objętością lewej gałki bladej. Z kolei w modelu regresji krokowej z użyciem wielu zmiennych, istotność statystyczną uzyskała objętość prawej gałki bladej, wiek i aktywność choroby mierzona w skali SLEDAI dla testu zapamiętywania listy słów (model o wartościach $R^2=0,80$, $p=0,01$) oraz objętość lewej skorupy i lewego wzgórza oraz wynik SLEDAI i poziom wykształcenia dla testu spontanicznego tworzenia grup słów (model o wartościach $R^2=0,68$, $p=0,009$).
3. Wyniki uzyskane we wszystkich testach psychometrycznych nie różniły się istotnie w grupie SM i tocznia, zatem funkcjonowanie poznawcze w badanych domenach jest

podobne w obydwu chorobach. Podobny jest też odsetek badanych, którzy osiągnęli najgorszy wynik (poniżej mediany dla grupy) dla największej liczby testów, co dotyczyło 21,62% pacjentów z SM oraz 25,81% pacjentów z toczeniem.

4. Na podstawie analizy krzywych ROC stwierdzono, że w obydwu badanych grupach najlepszym wolumetrycznym markerem różnicującym pacjentów z wyższym i niższym deficytem poznawczym, definiowanym na podstawie wybranych w niniejszym badaniu testów psychometrycznych, jest objętość lewej gałki bladej (dla wartości 1561 mm³ czułość 0,73, specyficzność 0,65, AUC=0,69, p=0,009).

Nowatorski charakter publikacji nr 3 polega na integracji danych wolumetrycznych mózgowia uzyskanych za pomocą konwencjonalnych technik MRI oraz dostępnych i względnie łatwych do zastosowania w praktyce klinicznej narzędzi psychometrycznych u chorych z toczeniem rumieniowatym układowym. Najważniejsze osiągnięcie publikacji nr 3 to wykazanie, że pod względem poznawczym pacjenci z toczeniem funkcjonują na poziomie podobnym względem grupy z SM, ale podczas gdy w SM deficyt poznawczy istotnie związany jest ze stopniem uszkodzenia mózgowia przez chorobę (całkowita objętość uszkodzeń, globalna i regionalna atrofia), w toczeniu może być niezależny od zmian strukturalnych mózgowia, ani w zakresie objętości zmian ogniskowych w istocie białej, ani w zakresie zaniku. W związku z powyższym można sądzić, iż zaburzenia poznawcze w toczeniu mogą być spowodowane zmianami mikrostruktury mózgowia, których nie są w stanie uwidocznic konwencjonalne techniki obrazowania MRI, albo uszkodzeniem o charakterze zaburzeń funkcji, chociażby poprzez wpływ autoprzeciwciał (np. o właściwościach anty-NMDA) na aktywność i przetrwanie neuronów. Powyższe wnioski, choć wymagają potwierdzenia badaniami obrazowymi o wyższej czułości dla potencjalnych uszkodzeń mikrostrukturalnych mózgowia oraz longitudinalnymi badaniami neuropsychologicznymi, mogą wskazywać, że zaburzenia poznawcze w toczeniu mogą być potencjalnie odwracalne.

Kolejnym istotnym odkryciem zaprezentowanym w publikacji nr 3 jest wskazanie kluczowej roli lewej gałki bladej w funkcjonowaniu poznawczym zarówno pacjentów z SM, jak i z toczeniem. Na podstawie niniejszej pracy można wnioskować, że choć pierwotny patomechanizm prowadzący do zaburzeń poznawczych w SM i toczeniu jest odmienny, zajęcie lewej gałki bladej może być wspólnym efektem końcowym, prowadzącym do manifestacji klinicznej.

W związku z tym, że w powyższych dwóch pracach u pacjentów z neurotocznem, w tym z zaburzeniami funkcji poznawczych, nie stwierdzono ewidentnych uszkodzeń strukturalnych mózgowia, w publikacji nr 4 [**Kalinowska-Łyszczarz Alicja et al. Immune Cell Neurotrophin Production Is Associated with Subcortical Brain Atrophy in Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus Patients. Neuroimmunomodulation. 2017**] postanowiono ocenić potencjalne zjawisko autoimmunologii neuroprotekcijnej w toczeniu rumieniowatym układowym. Przy użyciu metody ELISA oceniono zatem ekspresję wybranych czynników neurotroficznych, w szczególności neurotrofin (czynnik wzrostu nerwów pochodzenia mózgowego, ang. brain derived neurotrophic factor, BDNF, czynnik wzrostu nerwów beta, ang. nerve growth factor-beta, beta-NGF, neurotrofina 3, NT-3, neurotrofina 4/5, NT-4/5) w komórkach immunologicznych pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym spełniającym kryteria toczenia neuropsychiatrycznego. W zdrowym OUN głównym źródłem neurotrofin są komórki nerwowe. W warunkach patologicznych komórki immunologiczne, w szczególności mononukleary krwi obwodowej (ang. peripheral blood mononuclear cells, PBMCs), mogą stanowić dodatkowe źródło czynników neurotroficznych, kompensujące ich względny niedobór wobec uszkodzenia OUN. W stwardnieniu rozsianym autorka niniejszego autoreferatu opisała wraz z zespołem związek wyższej ekspresji neurotrofin w mononuklearach krwi obwodowej z niższą atrofią i lepszym funkcjonowaniem poznawczym [Kalinowska-Łyszczarz et al. 2011; Kalinowska-Łyszczarz et al. 2012]. W niniejszej pracy po raz pierwszy opisano ekspresję neurotrofin w mononuklearach krwi obwodowej wyizolowanych od pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym, zestawiając ją z wynikami grupy kontrolnej zdrowych ochotników. Dotychczas w literaturze dostępne były jedynie dane na temat stężeń surowiczych czynników neurotroficznych w toczeniu. W publikacji nr 4 dane neuroimmunologiczne (ekspresja neurotrofin w mononuklearach) zestawiono z danymi wolumetrycznymi mózgowia uzyskanymi w badaniu MRI (dokonano segmentacji szeregu struktur korowych i podkorowych oraz obliczono globalne markery atrofi) oraz miarami klinicznymi aktywności choroby.

Wyniki przedstawione w publikacji nr 4 można podsumować następująco:

1. Detekcja neurotrofin w mononuklearach krwi obwodowej pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym jest niższa niż u zdrowych osób. W grupie badanej BDNF zidentyfikowano w 86,8% próbek, NGF w 60,5% próbek, NT-4/5 zaledwie w 36,8% próbek, w żadnej z próbek nie stwierdzono natomiast ekspresji NT-3. W grupie

kontrolnej powyższe neurotrofiny zidentyfikowano odpowiednio w 97,4%, 92,3%, 82,0% oraz 33,3 %.

2. Stężenie BDNF oraz NGF w mononuklearach pacjentów z toczeniem jest istotnie niższe niż u osób zdrowych (dla BDNF mediana w toczeniu 297,44 pg/mg białka względem 1597,33 pg/mg białka u zdrowych, $p < 0,0001$; dla NGF mediana w toczeniu 1,86 pg/mg białka względem 4,55 pg/mg białka u zdrowych, $p = 0,002$). Na podstawie analizy krzywych ROC wyznaczono optymalne punkty odcięcia wartości BDNF i NGF, najlepiej różnicujące pacjentów z toczeniem od zdrowej populacji kontrolnej. W przypadku BDNF dla wartości $< 1308,02$ pg/mg białka czułość wyniosła 0,94, specyficzność 0,68, AUC 0,89, $p < 0,0001$). W przypadku NGF dla wartości $< 3,77$ pg/mg białka czułość wyniosła 0,85, specyficzność 0,59, AUC 0,72, $p = 0,0006$. Powyższe parametry statystyczne sugerują, że ekspresja wspomnianych neurotrofin w mononuklearach krwi obwodowej może być obiecującym markerem towarzyszącym (obok innych parametrów immunologicznych) w toczeniu rumieniowatym układowym.
3. U pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym poziom BDNF w mononuklearach jest istotnie skorelowany z aktywnością (SLEDAI) i czasem trwania choroby: im wyższy BDNF, tym niższa aktywność choroby (Spearman $R = -0,40$, $p = 0,02$); im wyższy BDNF, tym dłuższy czas trwania choroby (Spearman $R = 0,35$, $p = 0,04$). Nie stwierdzono korelacji dla NGF i parametrów klinicznych w toczeniu.
4. W zakresie parametrów neuroobrazowych, po weryfikacji metodą regresji logistycznej określono, że u pacjentów z toczeniem poziom BDNF w mononuklearach jest istotnie związany ze znormalizowaną objętością jądra ogoniastego (średnia objętość jądra ogoniastego/całkowita objętość wewnątrzczaszkowa) oraz znormalizowaną objętością wzgórza (średnia objętość wzgórza/całkowita objętość wewnątrzczaszkowa). Z kolei poziom NGF w komórkach jednojądrzastych u pacjentów z toczeniem jest istotnie związany jedynie ze znormalizowaną objętością wzgórza. Co ciekawe, im wyższy poziom BDNF i NGF, tym niższe objętości skorelowanych z nimi parametrów wolumetrycznych. Nie stwierdzono zależności między ekspresją neurotrofin a całkowitą objętością uszkodzeń ani globalnymi miarami atrofii u pacjentów z toczeniem.

Najważniejsze osiągnięcie publikacji nr 4 to opisanie po raz pierwszy ekspresji neurotrofin w komórkach immunologicznych pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym z objawami neurologicznymi oraz określenie ich związku z czasem trwania, aktywnością choroby oraz parametrami wolumetrycznymi mózgowia. Wobec stwierdzonej

w niniejszej pracy negatywnej korelacji między poziomem BDNF a aktywnością choroby, przy pozytywnej korelacji z czasem jej trwania, można wnioskować, iż **wyższa ekspresja BDNF w komórkach immunologicznych odgrywa rolę protekcyjną w kontekście aktywności choroby, przy czym ów mechanizm kompensacyjny narasta wraz z czasem trwania choroby**. Z drugiej strony, nieoczekiwanie stwierdzono, że zarówno BDNF, jak i NGF korelował negatywnie z parametrami wolumetrycznymi. Zatem im wyższy poziom neurotrofin w mononuklearach pacjentów z toczeniem, tym mniejsza objętość, a więc większy zanik w obrębie OUN. W kontekście pozostałych znalezisk niniejszej publikacji można wnioskować, że większe uszkodzenie OUN (większy zanik mózgowia) skutkuje nasileniem mechanizmów kompensacyjnych w zakresie produkcji neurotrofin. Procesy te mogą wystarczać dla ograniczenia całkowitej aktywności choroby (stąd negatywna korelacja BDNF i SLEDAI), ale nie uszkodzenia OUN. Z drugiej strony, z publikacji nr 2 i publikacji nr 3 niniejszego cyklu wynika, że rola samej atrofii w toczeniu nie jest tak istotna dla funkcjonowania poznawczego, ani tak wydatna jak w stwardnieniu rozsianym, a więc być może kompensacja neurotroficzna jednak jest w toczeniu skuteczna. Wreszcie rola produkcji neurotrofin przez komórki immunologiczne w toczeniu może polegać nie tyle na dostarczeniu dodatkowego stężenia neurotrofin w miejscu uszkodzenia, ale na modulacji odpowiedzi immunologicznej, co jest w zgodzie z obserwacją niższej aktywności choroby u pacjentów z wyższą ekspresją BDNF. **Wyniki niniejszej publikacji niewątpliwie dają podstawy do kontynuacji badań nad aspektem neuroprotekcyjnym autoimmunologii w kontekście zajęcia OUN w toczeniu rumieniowatym układowym.**

Podsumowanie cyklu prac:

Powyższy cykl prac, którego jestem pierwszym autorem, stanowi istotny wkład do badań nad chorobami autoimmunologicznymi, które przebiegają z uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego, ponieważ:

1. proponuje nowe, interdyscyplinarne ujęcie problemu różnicowania stwardnienia rozsianego, toczenia rumieniowatego układowego i spektrum *neuromyelitis optica*, zestawiając nowatorskie narzędzia badawcze (zaawansowane techniki analizy obrazu tomografii rezonansu magnetycznego), markery immunologiczne oraz psychometryczne, a przez to uzyskując wgląd w dotąd nieopisane aspekty patofizjologii wymienionych chorób;
2. proponuje nowe markery predykcyjne, sPECAM-1 i sVCAM-1, w chorobach autoimmunologicznych OUN przebiegających z uszkodzeniem istoty białej;

3. opisuje po raz pierwszy różnice we wzorcu zaniku/atrofii mózgowia u pacjentów z SM i neuropsychiatrycznym toczniem rumieniowatym układowym, które mogą być przydatne w praktyce klinicznej, a także wnoszą nowe informacje na temat patofizjologii neurodegeneracji w SM i w toczniu;
4. proponuje nowy, złożony wskaźnik oceniający atrofię struktur pośrodkowych mózgowia, wskaźnik stosunku objętości trzeciej komory do średniej objętości wzgórza (ang. third ventricle to thalamus ratio, 3VTR), który może znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej;
5. po raz pierwszy opisuje ekspresję neurotrofin (BDNF, beta-NGF, NT-3, NT-4/5) w mononuklearach krwi obwodowej pacjentów z toczniem rumieniowatym układowym;
6. po raz pierwszy analizuje zjawisko autoimmunologii protekcyjnej w kontekście tocznia rumieniowatego układowego, dostarczając dowodów na to, że produkcja neurotrofin przez mononukleary krwi obwodowej może stanowić element modulacji odpowiedzi immunologicznej, wpływając na aktywność choroby podstawowej;
7. dostarcza dowodów na to, że funkcjonowanie poznawcze u pacjentów chorujących na toczeń rumieniowaty układowy nie wynika z uszkodzenia definiowanego parametrami morfometrycznymi mózgowia, co może istotnie wpłynąć na dalsze kierunki badawcze w zakresie zaburzeń poznawczych w przebiegu tocznia.

Piśmiennictwo:

Ainiala H, Loukkola J, Peltola J et al. The prevalence of neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus. *Neurology*. 2001; 57(3): 496–500

Appenzeller S, Rondina JM, Li LM, Costallat LTL, Cendes F. Cerebral and corpus callosum atrophy in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2783–2789

Benedict R, Cookfair D, Gavett R, et al. Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS). *J Int Neuropsychol Soc* 2006; 12: 549–558

Benedict RH, Shucard JL, Zivadinov R, Shucard DW. Neuropsychological impairment in systemic lupus erythematosus: A comparison with multiple sclerosis. *Neuropsychol Rev* 2008; 18: 149–166

Covey TJ, Shucard JL, Shucard DW, Stegen S, Benedict RH. Comparison of neuropsychological impairment and vocational outcomes in systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis patients. *J Int Neuropsychol Soc* 2012; 18: 530–540

Cesar B, Dwyer MG, Shucard JL et al. Cognitive and White Matter Tract Differences in MS and Diffuse Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015; 36(10): 1874-83

Faust TW, Chang EH, Kowal C, et al. Neurotoxic lupus autoantibodies alter brain function through two distinct mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 18569–18574

Hanly JG, Fisk JD, Sherwood G et al. Cognitive impairment in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1992; 19(4): 562–7

Hanly JG, Urowitz MB, Sanchez-Guerrero J, et al. Neuropsychiatric events at the time of diagnosis of systemic lupus erythematosus: An international inception cohort study. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 265–273

Hanly JG, Omisade A, Su L, Farewell V, Fisk JD. Assessment of cognitive function in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and multiple sclerosis by computerized neuropsychological tests. *Arthritis Rheum.* 2010; 62(5):1478-86

Kalinowska-Lyszczarz A, Pawlak MA, Michalak S et al. Immune cell NT-3 expression is associated with brain atrophy in multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol* 2011; 240–241: 109–113

Kalinowska-Lyszczarz A, Pawlak MA, Michalak S, Losy J. Cognitive deficit is related to immune-cell beta-NGF in multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci.* 2012 Oct 15;321(1-2):43-8

Lassmann H. New concepts on progressive multiple sclerosis. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2007; 7: 239–244

Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ.; Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J. Exp. Med.* 2005; 202: 473–477

Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology* 2014; 83: 278–86

Lucchinetti C, Brück W, Parisi J et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol.* 2000; 47(6):707-17

Luyendijk J, Steens SC, Ouwendijk WJ, et al. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: Lessons learned from magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum* 2011; 63: 722–732

Magro Checa C, Cohen D, Bollen EL et al. Demyelinating disease in SLE: Is it multiple sclerosis or lupus? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2013; 27: 405–424

Mok MY, Chan EY, Wong WS, Lau CS. Intrathecal immunoglobulin production in patients with systemic lupus erythematosus with neuropsychiatric manifestations. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 846–847

Mostafa GA, Ibrahim DH, Shehab AA, Mohammed AK. The role of measurement of serum autoantibodies in prediction of pediatric neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Neuroimmunol* 2010; 227: 195–201

Nived O, Sturfelt G, Liang MH, De Pablo P. The ACR nomenclature for CNS lupus revisited. *Lupus* 2003; 12: 872–876

Ortega-Hernandez. Mechanisms of autoimmunity in the central nervous system: Disturbance of natural autoimmunity, infectious agents, cell contribution and antibody signatures. *Clinical and Experimental Neuroimmunology* 2014; 5: 340-361

Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 2677-2686

Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Ann Neurol* 2005; 58: 840–846

Polman CH, Reingold SC, Banwell B et al. Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria. *Ann. Neurol.* 2011; 69(2): 292–302

Roura E, Sarbu N, Oliver A, et al. Automated detection of lupus white matter lesions in MRI. *Front Neuroinform* 2016; 10: 33

Sarbu N, Alobeidi F, Toledano P, et al. Brain abnormalities in newly diagnosed neuropsychiatric lupus: Systematic MRI approach and correlation with clinical and laboratory data in a large multicenter cohort. *Autoimmun Rev* 2015; 14: 153–159

Sarbu N, Toledano P, Calvo A, et al. Advanced MRI techniques: Biomarkers in neuropsychiatric lupus. *Lupus* 2017; 26: 510–516

Steup-Beekman GM, Zirkzee EJ, Cohen D, et al. Neuropsychiatric manifestations in patients with systemic lupus erythematosus: Epidemiology and radiology pointing to an immune-mediated cause. *Ann Rheum Dis* 2013; 72(Suppl 2): ii76–ii79

Tamires Lapa A, Postal M, Angélica Sinicato N, et al. Reduction of cerebral and corpus callosum volumes in childhood-onset systemic lupus erythematosus: A volumetric magnetic resonance imaging analysis. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68: 2193–2199

Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J et al. Multiple sclerosis. *Lancet.* 2018a; 391(10130):1622-1636

Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018b;17(2):162-173

Unterman A, Nolte JE, Boaz M, Abady M, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus: A meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum* 2011; 41: 1–11

Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006; 66: 1485–1489

Wingerchuk DM, Weinshenker BG. The emerging relationship between neuromyelitis optica and systemic rheumatologic autoimmune disease. *Mult Scler.* 2012; 18(1): 5-10

Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology* 2015; 85: 177–189

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

Poza cyklem czterech prac, które są podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy skupia się wokół chorób neuroimmunologicznych, obejmując analizę zarówno parametrów immunologicznych, jak i aspektów neuroobrazowych oraz neuropsychologicznych w wybranych autoimmunologicznych chorobach ośrodkowego, a także obwodowego układu nerwowego. Dorobek ów obejmuje publikacje w następujących obszarach tematycznych:

5.1. Postać rzutowo-remisyjna stwardnienia rozsianego (ang. relapsing-remitting multiple sclerosis, RRMS)

5.1.1. Sieć chemokin oraz procesy transmigracji komórek immunologicznych w stwardnieniu rozsianym

Pierwsze moje publikacje w tej tematyce miały na celu charakterystykę sieci chemokin biorącej udział w patofizjologii stwardnienia rozsianego, w kontekście parametrów klinicznych, a w szczególności odpowiedzi na leczenie steroidami. Chemokiny i ich receptory tworzą złożoną sieć interakcji i nadzorują migrację komórek immunologicznych przez barierę krew-mózg. W dwóch kolejnych pracach analizie poddano profil chemokin związanych z migracją limfocytów T (CXCL11) [Szczuciński et al. Eur Neurol 2007], z migracją limfocytów B (CXCL13) oraz odpowiedzią zależną od limfocytów T(H)-17 (IL-17, CCL17, CCL20) [Kalinowska-Łyszczarz et al. J Neurol Sci 2010]. Ustalono, że podczas rzutu pacjenci z postacią rzutowo-remisyjną SM mają wyższy niż osoby zdrowe surowiczy poziom CXCL11 i IL-18, a ów poziom nie zmienia się pod wpływem terapii rzutu dożylnym metyloprednizolonem. Leczenie steroidami obniżyło natomiast stężenia CCL17 oraz IL-17. Z kolei analiza próbek płynu mózgowo-rdzeniowego wykazała wyższe niż w grupie kontrolnej stężenia CXCL13 podczas rzutu SM oraz u pacjentów z SM w remisji. Poziom CCL20 w surowicy okazał się dobrym (dokładność 78%) markerem różnicującym pacjentów z rzutem względem pacjentów w remisji.

1. Szczuciński A, Kalinowska A, Losy J. CXCL11 (Interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant) and interleukin-18 in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with methylprednisolone. Eur Neurol. 2007; 58(4):228-32. Impact Factor 1,031, Punktacja Min. Nauki: 20

2. **Kalinowska-Łyszczarz A**, Szczuciński A, Pawlak MA, Losy J. Clinical study on CXCL13, CCL17, CCL20 and IL-17 as immune cell migration navigators in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci.* 2011; 300(1-2):81-5 Impact Factor 2,353, Punktacja Min. Nauki: 25

W ramach moich zainteresowań siecią chemokin oraz procesami transmigracji komórek immunologicznych przez barierę krew-mózg w SM oraz w innych chorobach autoimmunologicznych OUN powstały także dwie prace pogładowe z moim pierwszym autorstwem:

1. **Kalinowska A**, Losy J. Investigational C-C chemokine receptor 2 antagonists for the treatment of autoimmune diseases. *Expert Opin Investig Drugs.* 2008; 17(9):1267-79. Impact Factor 4,058, Punktacja Min. Nauki: 32
2. **Kalinowska A**, Losy J. PECAM-1, a key player in neuroinflammation. *Eur J Neurol.* 2006 Dec;13(12):1284-90. Impact Factor 2,437, Punktacja Min. Nauki: 20

5.1.2. Czynniki neurotroficzne w kontekście parametrów morfometrycznych mózgowia i funkcji poznawczych w stwardnieniu rozsianym

Kolejnym obszarem moich zainteresowań badawczych w SM stała się rola czynników neurotroficznych w odniesieniu do sprawności funkcji poznawczych oraz parametrów morfometrycznych mózgowia. Badania te uzyskały finansowanie w ramach uczelnianego grantu promotorskiego (nr 501-02-01111147-04505-50593/2010) i stały się podstawą mojej rozprawy doktorskiej. Projekt ów zapoczątkował w moim warsztacie naukowym podejście interdyscyplinarnego łączenia różnych narzędzi badawczych: badania immunologiczne (izolacja komórek immunologicznych, oznaczanie stężeń białek metodą immunoenzymatyczną ELISA) zestawiono z parametrami morfometrycznymi mózgowia uzyskanymi na podstawie segmentacji obrazów tomografii rezonansu magnetycznego, a także z wynikami testów psychometrycznych. Wszystkie wyżej opisane elementy, zarówno oznaczenia laboratoryjne, analiza obrazu MRI (przy użyciu oprogramowania MedINRIA, Medical Image Navigation and Research Tool by INRIA; MRICron i FSL) oraz badanie pacjentów z zastosowaniem testów psychometrycznych, realizowałam własnoręcznie, co ukształtowało moją samodzielność w tworzeniu projektów naukowych. W kolejnych publikacjach opisałam wraz z zespołem neuroprotektoryjny potencjał reakcji autoimmunologicznej w SM, polegający na wytwarzaniu neurotrofin przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej, w kontekście parametrów atrofi mózgowia [Kalinowska-Łyszczarz et al. *J Neuroimmunol* 2011] oraz zaburzeń funkcji

poznawczych [Kalinowska-Łyszczarz et al. J Neurol Sci 2012]. Neurotrofiny uwalniane przez mononukleary krwi obwodowej mogą w SM działać neuroprotekcynie zarówno w mechanizmie bezpośrednim (przez wiązanie receptorów trk na komórkach nerwowych), jak i pośrednio, łącząc się z receptorami na innych komórkach immunologicznych. Moje prace dostarczyły dowodów klinicznych na hipotezę o potencjale neuroprotekcijnym komórek immunologicznych w SM.

1. **Kalinowska-Łyszczarz A**, Pawlak MA, Michalak S, Losy J. Cognitive deficit is related to immune-cell beta-NGF in multiple sclerosis patients. J Neurol Sci. 2012; 321(1-2): 43-8. Impact Factor 2,243, Punktacja Min. Nauki: 25
2. **Kalinowska-Łyszczarz A**, Pawlak MA, Michalak S, Paprzycki W, Losy J. Immune cell NT-3 expression is associated with brain atrophy in multiple sclerosis patients. J Neuroimmunol. 2011; 240-241:109-13. Impact Factor 2,959, Punktacja Min. Nauki: 25

Powyższą tematykę kontynuowałam w **pierwszym kierowanym przeze mnie projekcie, który uzyskał finansowanie Narodowego Centrum Nauki, NCN (projekt nr 2012/05/D/NZ6/00989, wyłoniony w konkursie SONATA, zatytułowany *Czynniki neurotroficzne w procesach protekcji oligodendrogleju oraz ochrony integralności aksonów u pacjentów z rzutowo-remisyjną postacią stwardnienia rozsianego*, realizowany w okresie 02.2013-02.2017, kwota finansowania 322 476 PLN). W ramach powyższego projektu stworzyłam pracownię hodowli komórkowych (dotychczas w ośrodku takowa nie istniała), działającą w ramach Zakładu Neurochemii i Neuropatologii Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (UMP). W ramach projektu opracowano skuteczny protokół hodowli oligodendrocytów ludzkich oraz mononuklearów krwi obwodowej w warunkach niestymulowanych i stymulowanych; uzyskano dane longitudinalne w zakresie parametrów atrofii mózgowia u pacjentów chorujących na postać rzutowo-remisyjną stwardnienia rozsianego i przeprowadzono ocenę ilościową objętości mózgu u w/w pacjentów; opracowano nowatorską metodę określenia wpływu mononuklearów krwi obwodowej na komórki oligodendrocytów ludzkich. W ramach niniejszego grantu na podstawie zorganizowanego przeze mnie konkursu zatrudniłam wykonawcę, mgr Aleksandrę Wyciszewicz, która w 07.12.2016 otworzyła na Wydziale Lekarskim I UMP przewód doktorski, w którym pełnię funkcję promotora pomocniczego.**

Najnowszą pracą z tego obszaru tematycznego, opartą na wynikach realizacji w/w grantu NCN, jest publikacja [Kalinowska-Łyszczarz et al. Neurol Neurochir Pol 2018], w której określiliśmy, że stężenie BDNF w komórkach immunologicznych pacjentów z SM jest istotnie

niższe niż u osób zdrowych, a roczna immunomodulacja z zastosowaniem interferonu beta lub octanu glatirameru nie wpływa istotnie na ekspresję BDNF.

1. **Kalinowska-Łyszcza A**, Pawlak MA, Wyciszewicz A, Osztynowicz K, Kozubski W, Michalak S. Immune-cell BDNF expression in treatment-naïve relapsing-remitting multiple sclerosis patients and following one year of immunomodulation therapy. *Neurol Neurochir Pol*. 2018; 52(4): 483-489. Impact Factor 0,817, Punktacja Min. Nauki: 15

Wyrazem moich zainteresowań powyższym zagadnieniem są także dwie prace pogładowe, w których jestem pierwszym autorem:

1. **Kalinowska-Łyszcza A**, Losy J. The role of neurotrophins in multiple sclerosis-pathological and clinical implications. *Int J Mol Sci*. 2012 Oct 22;13(10):13713-25. doi: 10.3390/ijms131013713. Impact Factor 2.464, Punktacja Min. Nauki: 30
2. **Kalinowska-Łyszcza A**. Neurotrophins, cognition and multiple sclerosis. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia* 2012, 7 (2): 51-56. Punktacja Min. Nauki: 4

Ważnym aspektem w projekcie związanym z rolą neurotrofin w stwardnieniu rozsianym jest zagadnienie zaniku mózgowia u pacjentów chorujących na SM. W kolejnej publikacji [Nowaczyk et al. *Neurol Neurochir Pol* 2018] oceniliśmy związek zmian degeneracyjnych w istocie białej, reprezentowanych przez zmiany hipointensywne w T1 (tzw. „czarne dziury”, ang. black holes) w badaniu MRI, z zaburzeniami funkcji poznawczych. Wykazaliśmy, że objętość „czarnych dziur” w płacie ciemieniowym jest najlepszym predyktorem funkcjonowania poznawczego. Nasz zespół zaproponował nowatorskie rozwiązanie, polegające na generowaniu map czarnych dziur na podstawie dostępnych atlasów probabilistycznych mózgowia, które to mapy pozwoliłyby na indywidualną ocenę ryzyka zaburzeń funkcji poznawczych u danego pacjenta.

Owocem moich zainteresowań aspektem neuroobrazowania w SM było także zaproszenie do zespołu, który opracował zalecenia odnośnie protokołu MRI u pacjentów z SM, opublikowane w *Neurologii i Neurochirurgii Polskiej* w 2018 [Sąsiadek et al. *Neurol Neurochir Pol* 2018].

1. Nowaczyk N, **Kalinowska-Łyszcza A**, Paprzycki W, Michalak S, Kazmierski R, Pawlak M. Spatial distribution of white matter degenerative lesions and cognitive dysfunction in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Neurol Neurochir Pol* 2018 (in press); Impact Factor 0,817, Punktacja Min. Nauki: 15

2. Sęsiadek M, Katulska K, Majos A, Siger M, Hartel M, **Kalinowska A**, Walecki J. Guidelines of the Polish Medical Society of radiology for the routinely used MRI protocol in patients with multiple sclerosis. *Neurol Neurochir Pol.* 2018; 52(6):638-642. Impact Factor 0,817, Punktacja Min. Nauki: 15

5.1.3. *Immunologiczne i biochemiczne markery odpowiedzi na leczenie immunomodulujące w stwardnieniu rozsianym*

W tematyce stwardnienia rozsianego interesują mnie również immunologiczne markery odpowiedzi pacjentów na terapię. Owocem tych zainteresowań jest współpraca w ramach projektu dotyczącego wytwarzania przeciwciał wiążących interferon u pacjentów z SM leczonych różnymi preparatami interferonu beta. Wyniki badania pilotażowego, w którym przy użyciu metody ELISA (in-house) oceniono obecność przeciwciał wiążących (ang. binding antibodies, BAbs) interferon beta u 49 pacjentów z RRMS leczonych podskórnym preparatem interferonu beta-1a przez dwa lata i rok po zakończeniu leczenia, opublikowaliśmy w 2016 roku w czasopiśmie *Medicine* [Wencel-Warot et al. *Medicine* 2016]. W naszej grupie badanej wykazaliśmy, że przeciwciała wiążące interferon beta-1a występują u 24,4% pacjentów po dwóch latach terapii. Poziom przeciwciał nie zmienił się istotnie po roku od zakończenia leczenia. Wykazaliśmy także, że obecność BAbs przewiduje pogorszenie niepełnosprawności mierzonej w skali EDSS po roku od zakończenia leczenia, co potwierdza sens stosowania oznaczeń BAbs, chociażby jako testu przesiewowego, u pacjentów z nieskutecznością terapii interferonami beta. Potwierdziliśmy także krzyżową reaktywność BAbs pomiędzy różnymi preparatami interferonów beta, co ma istotne implikacje kliniczne, tzn. przemawia przeciwko zmianie leczenia na inny preparat interferonu beta w przypadku stwierdzonej nieskuteczności terapii interferonem beta. W niniejszej pracy zaproponowaliśmy także nowy sposób wyrażania pomiaru przeciwciał jako odwrotność rozcieńczenia surowicy (ang. reciprocal serum dilution), która to miara lepiej korelowała z parametrami klinicznymi niż klasycznie stosowane wartości absorbancji lub jednostki arbitralne (Arbitrary Units, AU/ml).

1. Wencel-Warot A, Michalak S, Warot M, **Kalinowska-Lyszczarz A**, Kazmierski R. The cross-reactivity of binding antibodies with different interferon beta formulations used as disease-modifying drugs in multiple sclerosis patients. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(45):e5337. Impact Factor 1,803, Punktacja Min. Nauki: 35

Podobną tematykę podejmuje cykl prac z pierwszym autorstwem lek. Anny Pietrzak (w trakcie recenzji), który powstaje w ramach przewodu doktorskiego otwartego w dniu 14.06.2017 na

Wydziale Lekarskim I UMP pt. „Ocena znaczenia markerów aktywności choroby i odpowiedź na leczenie interferonem beta w przebiegu stwardnienia rozsianego”, w którym pełnię funkcję promotora pomocniczego. W kluczowej pracy z tego cyklu [Pietrzak A, **Kalinowska-Lyszcza** A, Osztynowicz K, Khamidulla A, Kozubski W, Michalak S. A long-term follow-up study on biochemical and clinical biomarkers of response to interferon beta-1b treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis; w trakcie recenzji] w długofalowej obserwacji wykazaliśmy użyteczność nowych biomarkerów odpowiedzi na terapię interferonem beta-1b: białka USP18 (ang. Ubiquitin specific peptidase 18), SOCS3 (ang. Suppressor of cytokine signalling 3) oraz wiperyny.

W związku z moim klinicznym i naukowym zainteresowaniem skutecznością terapii w SM powstała także praca pogładowa:

1. Losy J, **Kalinowska-Lyszcza** A. Emerging disease-modifying oral therapies for multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 2011; 231(1-2):15-22. Impact Factor 2,959, Punktacja Min. Nauki: 25

5.2. *Spektrum neuromyelitis optica (NMO)*

W ramach mojej pracy badawczej podjęłam też tematykę spektrum *neuromyelitis optica*. Jej owocem jest wysoko cytowana (liczba cytowań wg Web of Science 17) praca pogładowa, której powstanie nadzorowałam, oraz badania lek. Michaliny Jasiak-Zatońskiej pt. „Rola diagnostyczna oraz prognostyczna przeciwciał przeciw akwaporynie 4 (NMO-IgG) w zapaleniu nerwów wzrokowych i rdzenia kręgowego (NMO) w kontekście poszerzonego profilu immunologicznego oraz analizy parametrów badań tomografii rezonansu magnetycznego” w ramach przewodu doktorskiego, w którym jestem promotorem pomocniczym (otwarcie przewodu na Wydziale Lekarskim I UMP w dniu 09.03.2016).

1. Jasiak-Zatonska M, **Kalinowska-Lyszcza** A, Michalak S, Kozubski W. The Immunology of Neuromyelitis optica-Current Knowledge, Clinical Implications, Controversies and Future Perspectives. Int J Mol Sci. 2016; 17(3):273. Impact Factor 3,226, Punktacja Min. Nauki: 30

5.3. *Immunologia migreny*

Mimo że migrena nie jest zaliczana do klasycznych schorzeń o etiologii zapalnej, układ immunologiczny niewątpliwie odgrywa istotną rolę w patofizjologii migreny (konceptja neurogennego zapalenia). W pierwszej pracy [Michalak et al. Int J of Mol Sci 2017] z cyklu

publikacji dotyczących migreny, w których jestem drugim autorem, dokonano wieloczynnikowej analizy roli monocytów w patomechanizmie migreny. Wykazaliśmy, że u pacjentów chorujących na migrenę stężenie monocytarnego białka CD14 jest wyższe (i wzrasta wraz z czasem trwania choroby), a ekspresja TNF-alfa w obrębie monocytów niższa niż u zdrowych kontroli. Obniżenie ekspresji TNF-alfa może zatem wynikać z przedłużonej stymulacji monocytów krwi obwodowej przez CD14, które blokuje produkcję cytokin przez monocyty. Ponadto wykazaliśmy, że surowicze stężenie białka zapalnego makrofagów 1 (ang. macrophage inflammatory protein-1, MIP-1), chemokiny aktywującej monocyty, choć nie różni się względem zdrowych kontroli, pozytywnie koreluje z klinimetrycznymi wskaźnikami bólu. Omawiana publikacja dostarczyła dowodów na potencjalne nowe punkty uchwytu terapii w migrenie w obrębie układu immunologicznego.

W kolejnej pracy [Michalak et al. Neuromol Med 2017] u pacjentów z migreną oceniono stężenia czynników proangiogennych, które mogą wpływać na funkcjonowanie śródbłonka. Wykazaliśmy, że stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (ang. vascular endothelial growth factor, VEGF) oraz angiogeniny w surowicy pacjentów są niższe niż u zdrowych kontroli, co może skutkować wzrostem ryzyka chorób naczyniowych u osób chorujących na migrenę. Nie zaobserwowaliśmy różnic w zakresie innych czynników proangiogennych, angiopoetyny oraz receptora Tie-2.

1. Michalak S, **Kalinowska-Lyszcza A**, Wegrzyn D, Niezgoda A, Losy J, Osztynowicz K, Kozubski W. Increased Serum CD14 Level Is Associated with Depletion of TNF- α in Monocytes in Migraine Patients during Interictal Period. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(2). pii: E398. doi: 10.3390/ijms18020398. Impact Factor 3,687, Punktacja Min. Nauki: 30
2. Michalak S, **Kalinowska-Lyszcza A**, Wegrzyn D, Thielemann A, Osztynowicz K, Kozubski W. The Levels of Circulating Proangiogenic Factors in Migraineurs. *Neuromolecular Med.* 2017; 19(4): 510-517 Impact Factor: 2,952, Punktacja Min. Nauki: 30

5.4. Rola bariery krew-mózg w neurologicznych zespołach paranowotworowych

Kontynuacją moich zainteresowań rolą bariery krew-mózg w chorobach autoimmunologicznych OUN jest udział w projekcie dotyczącym neurologicznych zespołów paranowotworowych. Uszkodzenie bariery krew-mózg jest istotnym etapem rozwoju zespołu paranowotworowego, ale dotąd nie jest znany dokładny mechanizm i kolejność zdarzeń w patofizjologii zespołu. W pracy opublikowanej w *Journal of Neural Transmission* [Michalak

et al. 2018] oceniliśmy markery uszkodzenia bariery krew-mózg, białko S100B oraz neuronospecyficzną enolazę (ang. neuron specific enolase, NSE), zestawiając je ze stężeniami wybranych pro- i antyzapalnych cytokin (odpowiednio TNF-alfa i VEGF, oraz IL-4) oraz profilem przeciwciał onkoneuronalnych. Jest to pierwsze w literaturze badanie oceniające rolę bariery krew-mózg nie w warunkach eksperymentalnych, ale klinicznych. Wykazaliśmy, że obecność paranowotworowego zespołu neurologicznego u pacjentów seropozytywnych pod względem przeciwciał onkoneuronalnych ma związek z markerami uszkodzenia bariery krew-mózg jedynie w grupie chorych klinicznie bezobjawowych (a więc na wczesnym etapie rozwoju zespołu) oraz z zajęciem obwodowego układu nerwowego. Dodatkowo wykazaliśmy obniżenie surowiczego stężenia VEGF u pacjentów z obecnością przeciwciał anti-Hu, a wzrost w grupie chorych z objawami zajęcia OUN. W obliczu licznych publikacji na temat roli antagonistów VEGF w onkologii, wyniki naszej pracy mogą wskazywać na nowe możliwości terapeutyczne także w zespołach paranowotworowych.

1. Michalak S, **Kalinowska-Lyszczyarz A**, Rybacka-Mossakowska J, Zaborowski M, Kozubski W. The associations between serum vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor and interleukin 4 with the markers of blood-brain barrier breakdown in patients with paraneoplastic neurological syndromes. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018 Oct 29. doi: 10.1007/s00702-018-1950-9. Impact Factor 2,776, Punktacja Min. Nauki: 25

5.5. Immunologiczne markery demielinizacyjnego uszkodzenia obwodowego układu nerwowego

W nawiązaniu do wcześniejszych badań na temat roli cząsteczek adhezyjnych w zapaleniu pozagałkowym nerwu wzrokowego oraz zjawiska interakcji komórkowych podjęłam współpracę w projekcie dotyczącym tej tematyki w kontekście obwodowego układu nerwowego. Projekt ów podsumowuje publikacja w *Immunology Letters* [Niezgoda et al. 2017], w której zaproponowano nowy specyficzny marker demielinizacji nerwów obwodowych, rozpuszczalną formę cząsteczki adhezyjnej komórki nerwowej (ang. soluble neural cell adhesion molecule, sNCAM, CD56). Wykazaliśmy, że w surowicy pacjentów z uszkodzeniem nerwów obwodowych stężenie sNCAM jest wyższe niż u zdrowych kontroli. Stwierdzone w badaniu neuroelektrofizjologicznym uszkodzenie demielinizacyjne wiązało się z wyższym poziomem sNCAM niż uszkodzenie aksonalne. Określiliśmy także dodatnią korelację poziomu sNCAM z klinicznym nasileniem objawów mierzonym w skali ONLS (ang.

Overall Neuropathy Limitations Scale) oraz ujemną korelację z minimalną prędkością przewodzenia oraz latencją fali F.

1. Niezgoda A, Michalak S, Losy J, **Kalinowska-Łyszcza A**, Kozubski W. sNCAM as a specific marker of peripheral demyelination. Immunol Lett. 2017; 185: 93-97. Impact Factor: 2,436, Punkt. Ministerstwa Nauki: 20

Uwagi końcowe:

W powyższym zestawieniu nie uwzględniono mniej istotnych prac, głównie o charakterze pogładowym, oraz doniesień naukowych o charakterze referatów i plakatów, a także dorobku dydaktycznego i popularyzującego naukę, realizowanych projektów naukowych, staży zagranicznych, otrzymanych nagród, przynależności do towarzystw naukowych i innych osiągnięć (wszystkie omówiono w załączonym wykazie).

Podsumowując, mój dorobek naukowy obejmuje **28** publikacji pełnotekstowych o współczynniku **IF =50,731, MNiSW =539 pkt.**

Dorobek poza cyklem to 24 publikacji o współczynniku IF=39,835, MNiSW =444 pkt.

Punktacja prac po uzyskaniu stopnia naukowego doktora: współczynnik IF =37,893, MNiSW = 417 pkt.

W oparciu o listę Journal Citation Reports liczba cytowań moich publikacji według bazy Web of Science wynosi: **156**. Indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi **8** (w załączeniu szczegółowa analiza bibliometryczna przygotowana przez Bibliotekę UMP).

Alina Kalinowska-Łyszcza