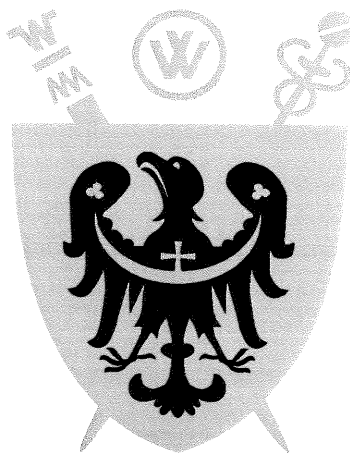


Dorota Polak-Jonkisz
Katedra i Klinika Nefrologii Pediatricznej
Uniwersytet Medyczny im Piastów Śląskich, Wrocław

AUTOREFERAT



Wrocław 2012

Spis treści

Życiorys.....	3
Omówienie wskazanego osiągnięcia naukowego.....	5
Pozostałe osiągnięcia naukowo - badawcze	17
Pozostałe informacje (działalność dydaktyczna i inne)	26

1. **Imię i Nazwisko:** Dorota Polak-Jonkisz

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

- 1990 rok- dyplom lekarz medycyny (Akademia Medyczna, Wydział Lekarski, Wrocław)
- 1994 rok- uzyskanie tytułu lekarza Chorób Dziecięcych
- 1995 rok – uzyskanie tytułu doktor nauk medycznych (Wydział Lekarski Kształcenia Podyplomowego, Akademia Medyczna, Wrocław) – rozprawa doktorska pt „Wtórna nadczynność przytarczyc u dzieci z przewlekłą chorobą nerek”
promotor: Prof. dr hab. n. med Zuzanna Morawska
- 1997 rok – uzyskanie tytułu specjalisty Chorób Dziecięcych
- 1999 rok – uzyskanie tytułu specjalisty nefrologa

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

- 1990-1991 rok- asystent -stażysta Państwowego Szpitala Klinicznego nr 1 we Wrocławiu
- 1991 rok - na drodze postępowania konkursowego otrzymałam 4 letnie Stypendium Doktoranckie pod kierownictwem Pani Prof. dr hab. n.med Zuzanny Morawskiej w Katedrze i Klinice Nefrologii Dziecięcej Akademii Medycznej we Wrocławiu
- 1995 - 1999 rok –asystent w Katedrze i Klinice Nefrologii Pediatrycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu
- 1999 - adiunkt w Katedrze i Klinice Nefrologii Pediatrycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu do chwili obecnej.

Istotnym punktem w moim rozwoju naukowym było otrzymanie stypendium doktoranckiego AM we Wrocławiu w Katedrze i Klinice Nefrologii Pediatricznej oraz staż w laboratorium naukowym przy Klinice Nefrologii, Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, kierowanym przez prof. Franciszka Kokota. Wówczas to zajęłam się problemem nieprawidłowości gospodarki wapniowo-fosforanowej u dzieci z przewlekłą chorobą nerek. Początkowo były to zagadnienia ściśle związane z rolą parathormonu, osteokalcyny oraz metabolitów witaminy D₃ w zaburzeniach homeostazy wapniowo-fosforanowej i w rozwoju wtórnej nadczynności przytarczyc. Rezultatem moich obserwacji klinicznych i badań laboratoryjnych była rozprawa doktorska zatytułowana „Badanie czynności przytarczyc u dzieci z przewlekłą niewydolnością nerek” (obrona: 1994r).

Ponadto opublikowałam szereg prac z zakresu zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej omawiające zarówno biochemiczne wykładniki towarzyszące przewlekłej chorobie nerek, jak i wpływ zastosowanego leczenia. W pracy pogładowej z roku 1998 pt. „Osteocalcin as a biochemical marker of bone turn-over” opublikowanej w *Nephrology* omówiłam rolę i znaczenie nowego markera obrotu kostnego – osteokalcyny, istotnego nie tylko w diagnostyce zaburzeń mineralnych. Z upływem czasu i gromadzeniem własnych doświadczeń laboratoryjnych moja uwaga została jednak skierowana na analizę nieprawidłowości metabolizmu jonów wapnia u dzieci z przewlekłą chorobą nerek, ale już na poziomie komórkowym, to jest w erytrocycie. Specyficzna budowa dojrzałego erytrocyta (brak jądra i mitochondrium) pozwala przepuszczać, że krwinka ta, w odróżnieniu od komórek jądrzastych, ma ograniczone możliwości w regulacji homeostazy wewnątrzkomórkowej. Dlatego intrygujące wydało mi się podjęcie badań analizujących procesy biochemiczne towarzyszące molekułom sygnałowej jaką jest cytoplazmatyczny wapń. Jego rola w patofizjologii przewlekłej choroby nerek wydaje się być szczególnie ze względu na wszechobecność i współodpowiedzialność tego kationu za rozwój m.in niedokrwistość, nadciśnienie tętnicze czy zmiany aterosklerotyczne naczyń.

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

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

Za najważniejsze osiągnięcie w mojej dotychczasowej pracy naukowo-badawczej uznałam cykl monotematycznych publikacji dotyczących „Erytrocytarnej homeostazy jonów wapnia u dzieci z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo i nerkozastępczo”. Cztery prace wchodzące w skład tego cyklu stanowią podstawę do sformułowania wniosku o nadanie tytułu doktora habilitowanego w dziedzinie medycyny. Sumaryczna wartość bibliometryczna tego cyklu wynosi 111 pkt MNiSW/KBN, a łączny Impact Factor (IF): 9.762

1. **Dorota Polak-Jonkisz**, Danuta Zwolińska, Leszek Purzyc, Kinga Musiał: Ca^{2+} - Mg^{2+} -dependent ATP-ase activity and calcium homeostasis in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* . 2007; 22:414–419. 9

IF: 1.936 ; Pkt. MNiSW/KBN : 20.000

Wkład własny: projektowanie badań, zbieranie danych klinicznych i analiza wyników, przygotowanie manuskryptu (75%).

2. **Dorota Polak-Jonkisz**, Leszek Purzyc, Krystyna Laszki-Szczachor, Kinga Musiał, Danuta Zwolińska: The endogenous modulators of Ca^{2+} - Mg^{2+} -dependent ATPase in children with chronic kidney disease (CKD). *Nephrol Dial Transplant* . 2010; 25: 438–444.

IF: 3.306 ; Pkt. MNiSW/KBN : 32.000

Wkład własny: projektowanie badań, zbieranie danych klinicznych i analiza wyników, przygotowanie manuskryptu (80%).

3. **Dorota Polak-Jonkisz**, Leszek Purzyc, Danuta Zwolińska : Ca^{2+} - Mg^{2+} -dependent ATP-ase activity in hemodialyzed children. Effect of a hemodialysis session. *Pediatr Nephrol*. 2010; 25:2501–2507

IF: 2.425; Pkt. MNiSW/KBN : 27.000

Wkład własny: projektowanie badań, zbieranie danych klinicznych i analiza wyników, przygotowanie manuskryptu (80%).

4. **Dorota Polak-Jonkisz**, Leszek Purzyc, Maria Szczepańska, Irena Makulska: Erythrocyte caspase-3 levels in children with chronic kidney disease. Clin Biochem 2012

IF: 2.079

Pkt. MNiSW/KBN: 32.000

Wkład własny: projektowanie badań, zbieranie danych klinicznych i analiza wyników, przygotowanie manuskryptu w 80%.

Kation wapnia, obok potasu i sodu, należy do najważniejszych jonów niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania komórki, a także decydujących o jej śmierci. Niemal cały wapń w organizmie człowieka znajduje się w przestrzeni międzykomórkowej, gdzie jego stężenie jest wielokrotnie wyższe niż we wnętrzu komórki. Utrzymanie tak wysokiego gradientu stężeń wymaga współdziałania wielu precyzyjnie funkcjonujących systemów rozmieszczonych w błonach cytoplazmatycznych, jak i w organellach komórkowych. Ta koordynacja procesu napływu i wyrzutu wapnia poza komórkę wiąże się z histologicznie prawidłową strukturą błony erythrocyta (RBC), jej przepuszczalnością dla jonów oraz efektywnym mechanizmem usuwającym wapnia przy współdziałaniu Ca^{2+} - Mg^{2+} -zależnej-ATP-azy (PMCA), czy też wymiennika błonowego $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Oba te systemy są kontrolowane m.in. przez zespół naturalnych agonistów (wtórne przekaźniki, hormony), białka (kalmodulina, kinazy białkowe, proteazy, białko G), kwaśne fosfolipidy. Pompa wapniowa PMCA należy do rodziny ATP-az., które wykorzystując energię z hydrolizy ATP wyrzuca wapń na zewnątrz komórki, obniżając jego stężenie w cytoplazmie.

W procesach fizjologicznych aktywność pompy PMCA jest bezpośrednio modyfikowana przez "sieć" wzajemnie zależnych czynników: białkowych i niebiałkowych. Mechanizmy uczestniczące w regulacji aktywności PMCA dzielimy na:

a) odwracalne – uczestniczą w nich: układy kinaz/fosfataz białkowych, proces agregacji/dysocjacji molekuł białkowych oraz endogenne wewnątrzkomórkowe aktywatory – kalmodulina (CALM).

b) nieodwracalne – stymulowane przez układ endogennych proteaz: kalpain (CANP) i współdziałających z nimi specyficznych inhibitorów - kalpastatyna (CAST).

PMCA zbudowana jest z 10 transmembranowych domen, których C i N końce skierowane są do wnętrza komórki, podobnie jak dwie pętle, wchodzące w skład katalitycznego rdzenia

enzymu. Domena C końcowa jest wysoce konserwatywnym, regulatorowym fragmentem, określonym jako calmoduling- fragment wiążący kalmodulinę. Działa ona również, jako autoinhibitor pompy, przez oddziaływanie z dwiema cytoplazmatycznymi pętlami (loops), tworząc formy zamknięte.

Przyłączenie kompleksu wapń- kalmodulina do tego regionu, przyczynia się do zmiany jego struktury (powstaje forma „open”), dochodzi wówczas do wzmacniania aktywności pompy. W ten sposób reguluje się dostęp jonów wapnia i ATP do aktywnego miejsca PMCA. Inhibicja aktywności biologicznej kalmoduliny przez związanie jej z inhibitorem, pozwala zatem określić tzw. podstawową aktywności PMCA – czyli basal PMCA (bPMCA).

W nieodwracalnej natomiast modulacji PMCA uczestniczą kalpajny. CANP należą do rodziny zależnych od wapnia proteaz cysteinowych. Katalizują one proces ograniczonej proteolizy różnych, multidomenowych białek, rozrywając wiązania peptydowe pomiędzy funkcjonalnymi domenami i tworzą fragmenty, które zachowują nadal fizjologiczną aktywność biologiczną.

O aktywności CANP decyduje, obok stężenia jonów wapnia, sieć czynników, wśród których istotną rolę odgrywa jej endogenny, odwracalnie działający inhibitor - kalpastatyna.

W komórce proces aktywacji CANP rozpoczyna się od dysocjacji kompleksu CANP-CAST, który zależny jest od stężenia wapnia cytoplazmatycznego (Ca_i^{2+}). Następnie, molekuly kalpajny, przy współudziale proteinowych czynników, wyszukują odpowiednią lipidową strukturę, otaczającą docelowe białka błonowe i przyłączają się do wewnętrznej powierzchni błony cytoplazmatycznej. W ten to sposób dochodzi do proteolitycznego ataku na specyficzne błonowe białka. Tak więc, CANP uczestniczą w regulacji procesów komórkowych w odpowiedzi na zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe stymulacje - zarówno w stanach fizjologicznych jak i patologicznych .

W komórkach, zarówno pobudzonych (excitable) i niepobudzonych (non-excitable), pod wpływem różnych zewnętrznych czynników dochodzi do gwałtownych, szczytowych wzrostów i następującego po nich spadku stężenia Ca_i^{2+} . Pojawia się wówczas fala wapniowa o określonej amplitudzie, częstotliwość i miejscu powstawania.

Wykazano, że odpowiednia aktywność pomp wapniowych i ich endogennych regulatorów, jest wynikiem pojawienia się piku fali wapniowej o wysokiej częstotliwości, a dalsze utrzymywanie wysokiej aktywności enzymatycznej pompy – obserwuje się w następstwie sygnałów wapniowych o znacznie mniejszej częstotliwości.

Białka te (pompa wapniowa i jej endogenne regulatory) wykazują specyficzną pamięć molekularną, polegającą na utrzymywaniu/podtrzymywaniu aktywności biologicznej pomiędzy powtarzającymi się "pikami" w odpowiedzi na pierwszy pojedynczy pik (szczyt) wapniowy.

Zaburzenia w aktywności pomp wapniowych wywołują zmiany w parametrach fali wapniowej, co skutkuje zmianami w przewodnictwie impulsu elektrycznego, a zarazem systemu informacyjnego wewnątrz i pomiędzy komórkami. Dlatego też cytoplazmatyczny jon wapnia uważany jest za wewnątrzkomórkową molekułę sygnałową przekazującą informacje i odpowiedzialną za uaktywnienie szeregu enzymów wapniowo-zależnych takich jak: kaspazy i transglutaminazy. Fizjologicznie enzymy te decydują m.in. o organizacji struktury błony i cytoszkieletu RBC. Indukowany podczas progresji przewlekłej choroby nerek (PChN) stres oksydacyjny i karboksylowy przyczynia się także do modyfikacji białek oraz lipidów błonowych erytrocytów. W patologii procesy te- prowadzą do dezintegracji fosfolipidów błony komórkowej, kurczenia się komórki oraz powstawania na jej powierzchni licznych wypukłości, co wiąże się z przyspieszeniem eliminacji krwinek czerwonych z krwioobiegu.

Zjawiska powyższe charakteryzują m.in. proces eryptozy, czyli samobójczej śmierci erytrocytów. Nadmierna eryptoza, obok niedoboru erytropoetyny, jest współodpowiedzialna za rozwój niedokrwistości u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek.

Zasadniczą przesłanką do podjęcia przeze mnie badań przedstawionych w tym cyklu publikacji była dążność do poznania przyczyn przedwczesnej eryptozy w przebiegu przewlekłej choroby nerek (PChN) i uzyskania odpowiedzi na następujące pytania:

1. Jaka jest dynamika fluktuacji wapnia wewnątrzerytrocytarnego w przebiegu przewlekłej choroby nerek u dzieci ?
2. W jaki sposób progresja PChN wpływa na sieć czynników regulujących stężenie wapnia wewnątrzerytrocytarnego, ze szczególnym uwzględnieniem systemu proteaz (kaspazy-3, układ kalpaina-kalpstatyna) oraz pompy PMCA?
3. Jaki jest wpływ upośledzenia filtracji kłębuszkowej na stężenia ATP jako głównego czynnika decydującego o poziomie energetycznym komórki?

Ad.1

Dorota Polak-Jonkisz, Danuta Zwolińska, Leszek Purzyc, Kinga Musiał : Ca²⁺-Mg²⁺-dependent ATP-ase activity and calcium homeostasis in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* . 2007; 22:414–419.

IF: 1.936; Pkt. MNiSW/KBN : 20.000

Towarzyszące PChN zaburzenia gospodarki wapniowej są wypadkową wielu procesów związanych przede wszystkim z jej "graczami", takimi jak m.in parathormon (PTH), metabolity witaminy D₃, czy stężenia wapnia wewnątrz- i pozakomórkowego. Dotychczasowe badania dotyczące homeostazy wapnia wewnątrzkomórkowego u pacjentów z PChN podkreślają istotną rolę w/w hormonów, a także enzymów, białek decydujących o utrzymaniu jonów wapnia na fizjologicznym poziomie. Wiadomo, że PTH jest czynnikiem zwiększającym dopływ wapnia do wielu typu komórek. Praktycznie jedynym aktywnym układem białkowym, uczestniczącym w fizjologicznym wyrzucie („exflux”) Ca_i²⁺ poza komórkę erytrocyta, jest zakotwiczona w błonie plazmatycznej, energiozależna pompa wapniowa PMCA, głównie izoformy typu 4b.

W przeprowadzonym, przy współudziale z Zakładem Biochemii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, badaniu oceniałam stężenie wewnątrzkomórkowego wapnia (oznaczonego w tej publikacji jako R-Ca) oraz aktywność PMCA u dzieci we wczesnych stadiach PChN (I-III), a także określiłam wpływ czynności przytarczyc na wewnątrzkomórkową homeostazę wapnia. Badania wykonano u 21 pediatrycznych pacjentów, których w zależności od stężenia intact PTH (iPTH) podzielono na 2 podgrupy. Grupę kontrolną stanowiło 18 dzieci, w odpowiednim wieku. Uzyskane wyniki wykazały istotny wzrost R-Ca u pacjentów z PChN, szczególnie wysokie wartości stwierdziłam u chorych z wtórną nadczynnością przytarczyc (WNP). Różniły się one znacząco w porównaniu do chorych z prawidłowymi wartościami iPTH. Zjawisku temu towarzyszyło obniżenie aktywności PMCA. Badane korelacje wykazały związek pomiędzy R-Ca a PMCA, co przemawia za istotną rolą tej pompy w utrzymaniu prawidłowej homeostazy wapnia w erytrocycie.

Jest to pierwsze w światowej literaturze badanie oceniające takie zależności w populacji dzieci we wczesnych stadiach PChN.

Jak już wcześniej wspomniałam aktywność PMCA regulowana jest przez endogenne modulatory. Brak danych na ten temat w dostępnej literaturze, zainspirował mnie do podjęcia badań w tym kierunku. Ich efektem jest publikacja nr 2.

Ad. 2

Dorota Polak-Jonkisz, Leszek Purzyc, Krystyna Laszki-Szczachor, Kinga Musiał, Danuta Zwolińska: The endogenous modulators of Ca^{2+} - Mg^{2+} -dependent ATPase in children with chronic kidney disease (CKD). *Nephrol Dial Transplant* . 2010; 25: 438–444.

IF: 3.306; Pkt. MNiSW/KBN : 32.000

Za wysokie stężenia wapnia cytoplazmatycznego (Ca_i^{2+}) w uremicznym erytrocyte odpowiedzialna jest nie tylko w szybkości napływu tego kationu do wnętrza komórki, ale również dysregulacja systemu kontrolującego wypływ tych jonów. Podstawowym elementem tego systemu jest pompa PMCA i jej endogenne modulatory: układ kalpaina-kalpstatyna (CANP-CAST) oraz współdziałające z nimi modyfikatory. Do modyfikatorów tych należy: kalmodulina (CALM), kinazy i fosfatazy białkowe, lipidowe "otoczenie" PMCA w błonie, cytoplazmatyczne aktywatory i inhibitory. Dlatego też podjęłam się oceny aktywności pompy PMCA wraz z jej białkowymi, endogennymi modulatorami, jakimi są kalmodulina i układ kalpaina-kalpstatyna (CANP-CAST), biorących udział w homeostazie wapnia cytoplazmatycznego w erytrocytach u dzieci z PChN leczonych zachowawczo.

W badaniach uczestniczyło 36 dzieci z PChN w stadiach II-IV oraz 30 zdrowych rówieśników. U wszystkich oznaczono stężenie Ca_i^{2+} , aktywność podstawowej i stymulowanej kalmoduliną PMCA, stężenie kalmoduliny i aktywność układu CANP-CAST. Potwierdziłam obserwacje z poprzedniej publikacji wskazujące na wzrost kumulacji Ca_i^{2+} wraz z upośledzeniem filtracji kłębuszkowej.

Obniżona aktywność PMCA została wykazana zarówno w odniesieniu do aktywności podstawowej (bPMCA) jak i stymulowanej kalmoduliną. Spadek bPMCA był podobny we wszystkich grupach chorych, podczas gdy aktywność PMCA stymulowana kalmoduliną malała w miarę postępu niewydolności nerek. Ponadto, potwierdziłam ujemną korelację pomiędzy aktywnością PMCA i stężeniem cytoplazmatycznego Ca_i^{2+} na każdym etapie choroby. W pracy tej wykazałam po raz pierwszy, że obniżenie aktywności PMCA jest m.in. wynikiem zaburzeń na osi pompa- jej endogenne modulatory. Można sądzić, że bezpośrednio za ten stan rzeczy odpowiada niedobór CALM, który stwierdziłam we wszystkich grupach chorych na PChN. Fizjologiczne, wysokie stężenie CALM, powoduje permanentną stymulację PMCA, a tym samym utrzymuje strukturę enzymu w postaci aktywnej – zwanej formą otwartą

(„open”). PMCA poprzez fuzję z CALM, zachowuje swój poziom aktywności niezależnie od pulsacyjnych zmian w stężeniach Ca_i^{2+} .

Wspomniany już spadek aktywności PMCA najprawdopodobniej jest spowodowany również skróceniem działania "pamięci molekularnej" dla erytrocytarnej izoformy PMCA (typ 4b), jako następstwo ciągłego niedoboru CALM, który nie powodował jednak skorelowanej deaktywacji PMCA. Przemawia to za wzmocnieniem aktywności innych czynników uczestniczących w „sieci” utrzymujących aktywność PMCA, w tym układu CANP-CAST.

W odniesieniu do CANP, wykazano, że w początkowym stadium PChN dochodzi do wzrostu aktywności CANP, która w kolejnych stadiach choroby ulega obniżeniu.

Wysokie stężenie wapnia wewnątrzkomórkowego i wyraźny spadek aktywności CANP, stwierdzone w III i IV stadium PChN przyczynia się do deaktywacji PMCA w komórce. Mechanizm ten nie jest w pełni wyjaśniony, choć wysoce prawdopodobne jest, że dochodzi wówczas do interakcji domeny autoinhibitorowej CANP z otoczeniem lipidowym PMCA, co doprowadza właśnie do deaktywacji pompy.

O aktywności CANP w komórce decyduje nie tylko stężenie Ca_i^{2+} , ale i „sieć” czynników, wśród których szczególną rolę odgrywa jej naturalny, endogenny, odwracalnie działający inhibitor – kalpastatyna.

Mechanizm tłumaczący działanie kompleksu CANP-CAST nie jest w pełni jasny dla procesów *in vivo*. Wydaje się, że sekwencyjna, wieloetapowa aktywacja CANP rozpoczyna się od pojawienia się w komórce, wysokiego miejscowego stężenia Ca_i^{2+} lub fali wapniowej. Wówczas to oddziela się CAST, a CANP ulega autolizie i skrócone jej molekuly zaczynają atakować białka zarówno w cytoplazmie, jak i w błonie cytoplazmatycznej. Po proteolizie substratów białkowych i w zależności od stężenia Ca_i^{2+} , CANP tworzy kompleks z CAST o niepełnej aktywności.

W omawianym badaniu w II-gim stadium choroby, obserwujemy podwyższoną aktywności CANP przy równoczesnej niskiej aktywności CAST. W kolejnych stadiach PChN (III-IV) dochodzi do spadku aktywności CANP i zarazem do wzrostu aktywności jej inhibitora – CAST. Wzrost aktywności CAST „pośrednio” chroni struktury błony cytoplazmatycznej erytrocytu przed nadmiernym, niekontrolowanym rozkładem innych białek błonowych przez CANP.

W badanej populacji dzieci z PChN stwierdziliśmy ujemne korelacje pomiędzy bPMCA a CAST, CANP, Ca_i^{2+} oraz pomiędzy PMCA a CAST i Ca_i^{2+} potwierdza to szczególną rolę kalmoduliny i innych białek tworzących „sieć dróg” prowadzących w efekcie do aktywacji PMCA.

Dodatnia korelacja była obserwowana pomiędzy PMCA a CANP, sugeruje to konieczność utrzymania przez komórkę wysokiej aktywności pompy w następstwie proteolitycznego działania CANP. Można przypuszczać, że w erytrocytach pacjentów z PChN dochodzi do wzmocnienia aktywności innych, endogennych czynników zaliczanych do „sieci”, zadaniem której jest utrzymanie niskiego stężenia wewnątrzkomórkowego Ca_i^{2+} (np. kinaz, kaspaz czy białkowych aktywatorów PMCA).

Powyższe obserwacje pozwalają wnioskować, że wewnątrzkomórkowe zaburzenia w stężeniu Ca_i^{2+} są nie tylko prostą konsekwencją nieprawidłowości w zjawisku napływu (influx) i wypływu (exflux) jonów wapnia przez błonę erytrocytarną, ale również w systemach regulujących ten proces. Wraz z pogłębianiem się przewlekłej niewydolności nerek rozchwianie metabolizmu na poziomie już pojedynczej komórki, jakim jest erytrocyt, staje się punktem wyjścia dla rozwoju zaburzeń układu naczyniowo–sercowo–nerkowego.

Powyższa publikacja otrzymała w roku 2011 zespołową nagrodę Ministra Zdrowia. Przedstawione w niej wyniki badań zostały uznane za nowatorskie i ważne z punktu poznawczego zarówno w populacji chorych dorosłych jak i dzieci.

Ponadto, część powyższych wyników została zacytowana w *Letter to the Editor* w *Blood Purification* (2012; 33:125–130), jako komentarz do artykułu „Mechanisms and Significance of Eryptosis, the Suicidal Death of Erythrocytes” autorstwa Floriana Lang’a *et al.* List ten otrzymał odpowiedź od prof. Floriana Lang’a na łamach *Blood Purification* podkreślając istotność moich badań dla wyjaśnienia problemu starzenia się i przedwczesnej eryptozy uremicznych krwinek czerwonych.

Ad.3

Dorota Polak-Jonkisz, Leszek Purzyc, Danuta Zwolińska: Ca²⁺-Mg²⁺-dependent ATP-ase activity in hemodialyzed children. Effect of a hemodialysis session. *Pediatr Nephrol.* 2010; 25:2501–2507

IF: 2.425 ; Pkt. MNiSW/KBN : 27.000

Kolejnym krokiem w moich badaniach było objęcie analizą pacjentów pediatrycznych leczonych nerkozastępczo- hemodializami (HD). W dostępnej literaturze można było jedynie znaleźć pojedyncze informacje dotyczące obniżenia aktywności PMCA i kumulacje wapnia w erytrocytach, ale jedynie w populacji dorosłych chorych leczonych hemodializa i dializa otrzewnową. Wyniki te były niejednolite i nie zawierały danych dotyczyły endogennych modulatorów PMCA. Dlatego też celem omawianych badań było określenie stężenia Ca_i²⁺, aktywności PMCA i jej endogennych modulatorów w erytrocytach pacjentów pediatrycznych przewlekle hemodializowanych. Dodatkowym celem była ocena wpływu sesja hemodializy na wyżej wymienione parametry oraz zbadanie trwałości tego efektu.

Wykazałam, że stężenie Ca_i²⁺ w krwinkach czerwonych dzieci przewlekle hemodializowanych było ponad 2-krotnie wyższe w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Po sesji hemodializy uległo ono istotnemu obniżeniu w porównaniu z wartościami sprzed hemodializy, ale nadal pozostawało wyższe niż w grupie kontrolnej. Aktywność podstawowej jak i stymulowanej kalmoduliną PMCA była niższa w porównaniu do grupy kontrolnej. Obniżenie stężenie Ca_i²⁺ okazało się być efektem przejściowym, gdyż przed kolejnym zabiegiem HD u tych samych pacjentów, wartości stężenia wapnia wewnątrzkomórkowego jak i aktywności PMCA były podobne do obserwowanych przed poprzednią hemodializą.

Zabieg HD modyfikował także wartości CALM, obniżone stężenie CALM przed HD, ulegało wzrostowi po zabiegu HD, ale nadal nie osiągało wartości prawidłowych. Efekt ten, podobnie jak w przypadku aktywności pompy wapniowej, był przejściowy co potwierdza wpływ niedoboru CALM na deaktywację PMCA.

Modulacja aktywności erytrocytarnej PMCA, przy niedoborze CALM i nadmiernej akumulacji wapnia jest wspomagana poprzez inne endogenne modyfikatory, w tym układ CANP-CAST. Zdaniem niektórych badaczy podwyższona aktywność kalpajny jest ostatnią

linią obrony komórki przed nadmiernym, cytotoksycznym stężeniem Ca_i^{2+} przy jednoczesnym niedoborze kalmoduliny. Badania własne wykazały, że aktywność CANP było istotnie niższe przed hemodializą i ulegała niemal 2,5-krotnemu wzrostowi po sesji HD, nie osiągając jednak normalizacji. Efekt ten był również przejściowy. Aktywność CAST przed hemodializą była znacząco podwyższona w porównaniu do dzieci zdrowych. Po sesji hemodializy ulegała ona częściowej normalizacji, co sugeruje zmniejszenie poziomu aktywnych molekuł kalpastatyny, prawdopodobnie na skutek trawienia ich przez aktywne erytrocytarne kaspazy.

Wyniki tej pracy wykazały wyraźnie, że u dzieci i młodzieży leczonych powtarzanymi hemodializami, homeostaza wapnia cytoplazmatycznego jest szczególnie zaburzona. Pojedyncza sesja HD ma korzystny wpływ na poszczególne elementy homeostazy Ca_i^{2+} . Do całkowitej normalizacji tych zaburzeń nie dochodzi, a efekt jest tylko przejściowy.

Ad.4

Dorota Polak-Jonkisz, Leszek Purzyc, Maria Szczepańska, Irena Makulska. Erythrocyte caspase-3 levels in children with chronic kidney disease.

Clin Biochem 2012

IF:2.079; Pkt. MNiSW/KBN: 32.000

Kolejnym krokiem w analizowaniu procesów metabolicznych w uremicznych erytrocytach było określenie aktywności egzekutorowej kaspazy-3 i dehydrogenazy mleczanowej oraz poziomu ATP_e , jako odpowiedzi komórki na pogłębiającą się PChN.

Homeostaza krwinek czerwonych wymaga ciągłego dostarczania energii, a więc utrzymywania odpowiednio wysokiego stężenie ATP_e , oraz potencjału energetycznego (energy charge) wewnątrz komórki. O poziomie cytoplazmatycznego ATP_e i wartościach „energy charge” erytrocytów, decyduje nie tylko tempo syntezy w procesie glikolizy beztlenowej i proces reuitalizacji nukleotydów adenyłowych. Istotne jest również tempo rozkładu i wyrzutu ATP_e poza komórkę. Uważa się, że rodzaj śmierci komórki (nekroza lub eryptoza) jest związany ze zmianami m.in. w układzie „red-ox”, stężeniem wewnątrzkomórkowego ATP_e i kationów wapnia, a także uaktywnieniu szereg enzymów wapniowo-zależnych niezbędnych dla organizacji struktury błony i cytoszkieletu RBC.

Badaniami objęto 60 pacjentów pediatrycznych z PChN leczonych zachowawczo. W zależności od stopnia zaawansowania PChN, dzieci i młodzież zostały podzielone na 4 grupy: I grupa – chorzy w I stadium PChN, grupa II – chorzy w II stadium PChN, III grupa – III stadium PChN i IV grupa- chorzy w IV stadium PChN. Grupa zdrowa to rówieśnicy z prawidłową funkcją nerek.

Zaobserwowałam sukcesywny wzrost stężenia ATP_e od I do III stadium PChN. Wzrost ten związany był z aktywnie przebiegającym procesem glikolizy beztlenowej. W przeddializacyjnym stadium dochodzi natomiast do dużego spadku stężenia ATP_e . Przyczyną takiej zmiany w stężeniu ATP jest prawdopodobnie obniżenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) a także „przekierowania” katabolizmu glukozy w stronę szlaku pentozowo-fosforanowego. Wyczerpanie ATP_e w RBC doprowadza nie tylko do rozchwiania energetycznego komórki, ale również niekorzystnie wpływa na utrzymanie fizjologicznie dwuwklęsłego kształtu krwinki czerwonej.

W procesie glikolizy beztlenowej erytrocyta szczególną rolę odgrywa LDH, której aktywność i kierunek działania jest decydujący dla tempa przebiegu glikolizy i związanych z tym procesem konsekwencji energetycznych oraz red-ox komórki. W badanej populacji dzieci zaobserwowałam początkowo sukcesywny wzrost aktywności LDH do III stadium PChN. W przeddializacyjnym okresie dochodzi do istotnego obniżenia aktywności LDH w stosunku do badanych chorych, jak i w stosunku do grupy kontrolnej. Spadek aktywności LDH można być rezultatem niedoborem CALM u pacjentów z PChN, który został przeze mnie wykazany w publikacji nr 2 prezentowanego cyklu. Niedobór CALM, niezależnie od wysokiego stężenia Ca_i^{2+} , ogranicza przebieg glikolizy, poprzez hamowanie enzymów zależnych od stężenia kalmoduliny. W efekcie prowadzi to do obniżenia stężenia NADH i pirogronianiu, substratów niezbędnych do działania LDH. Towarzysząca PChN hipoksja, zwiększająca transport mleczanów oraz jonów H^+ do wnętrza komórki, może również przyczynić się do inaktywacji LDH. Stąd więc, zmniejszona aktywność LDH oraz niedobór erytrocytarnej CALM ogranicza efektywność przebiegu glikolizy, a co za tym idzie obniżenie syntezy erytrocytarnego ATP_e w przebiegu PChN

Stres oksydacyjny_towarzyszący przewlekłej chorobie nerek jest jednym z przyczyn aktywacji specyficznych proteazy –kaspaz. Wśród wielu białek uczestniczących w eryptozie, a będącymi substratami dla kaspazy-3 (Casp-3) wyróżnia się między innymi: ATP-zależną

pompę wapniową, kalpainy i band-3, a więc białek uczestniczących w utrzymaniu gradientu błonowego stężeń jonów wapniowych i stężenia wewnątrzkomórkowego ATP_e.

W badanej populacji dzieci z PChN doszło do stopniowego wzrost aktywności Casp-3 od I do III stadium choroby, w okresie przeddializacyjnym dochodzi wprawdzie do obniżenia aktywności tej proteazy, niemniej jednak jej poziom jest nadal wysoki.

Istotną rolę w wypływie z komórki wapnia odgrywa przedstawiana w powyższych publikacjach pompa PMCA i jej endogenne modulatory. Casp-3 odcina w PMCA cytoplazmatyczną, autoinhibitorową domenę i domenę przyłączającą CALM. Pozostaje skrócona, ale nadal aktywna, struktura PMCA.

Można zatem uważać, że Casp-3 również uczestniczy w sieci białkowo-lipidowej regulującej aktywność PMCA oraz pośrednio, w utrzymaniu wapniowo-zależnych enzymów glikolizy na odpowiednim poziomie aktywności. Ponadto, przyczynia się w istotny sposób do stymulacji procesu eryptozy w uremicznym erytrocyście.

Przedstawione w powyższej publikacji analiza procesów metabolicznych w oparciu o określenie aktywności egzekutorowej kaspazy-3 i dehydrogenazy mleczanowej oraz poziomu ATP_e była pierwszym tego typu badaniem przeprowadzonym u pacjentów pediatrycznych z PChN.

Podsumowanie

W modelowym układzie krwinki czerwonej przedstawiłam swoistą sieć wzajemnie zależnych patofizjologicznych procesów zachodzących w komórce, a uaktywnionych w następstwie przeładowania jonami wapnia. Akumulacja wapniem narasta w kolejnych stadiach przewlekłej choroby nerek, pomimo uruchomienia w erytrocyście, kaskady reakcji mającej na celu ustabilizowanie napływu i wypływu Ca²⁺. Istotne znaczenie w tej sieci ma pompa wapniowa PMCA i jej endogenne modulatory. Celem tych procesów „naprawczych” jest próba stabilizacji poziomu energetycznego komórki, obniżenia wysokiego cytotoksycznego stężenia wapnia a tym samym „zahamowanie” nadmiernej eryptozy jako jednej z przyczyn mocznicowej niedokrwistości w organizmie człowieka. Przedstawione

obserwacje mają charakter nowatorski zarówno ze względu na ich biochemiczną stronę jak i populację pacjentów, w której zostały przeprowadzone.

Istotną wartością cyklu przedstawionych powyżej publikacji, obok wagi poznawczo-klinicznej tematu, była metodologia laboratoryjna. Zastosowane techniki badań biochemicznych (niekiedy we własnej modyfikacji) do oznaczeń wszystkich wiodących parametrów (Ca_i^{2+} , PMCA, CANP, CAST, CALM, ATP, kaspaz, dehydrogenazy mleczanowej) wymagały pogłębionej wiedzy biochemicznej. A ta z kolei była istotna do określenia celu, zaprojektowania badań oraz interpretacji otrzymanych wyników.

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

Moja naukowa aktywność ponadto koncentrowała się wokół następujących tematów badawczych:

- a. diagnostyki zaburzeń przewodnictwa śródkomorowego serca u dzieci z przewlekłą chorobą nerek
- b. oceny biochemicznych wykładników gospodarki wapniowo-fosforanowej u dzieci z PChN w oparciu o oznaczanie poziomu : intact parathormon wraz z jego składowymi CAP i CIP, metabolitów witaminy D_3 wraz z określeniem gęstości mineralnej kośćca
- c. oceny wpływu suplementacji $1\text{-}\alpha\text{-hydroksywitaminy D}_3$ na wybrane parametry homeostazy Ca-P u dzieci z PChN.
- d. analizy wybranych markerów obrotu kostnego uwalnianych do krwi i wydalanych z moczem u dzieci z PChN
- e. oceny roli *Chlamydia trachomatis* w rozwoju zakażeń dróg moczowych oraz efektywności zastosowanej terapii
- f. analizy migracji leukocytów w oparciu o zmianę stężeń wybranych cząsteczek adhezyjnych u dzieci z PChN.

ad. a.

Przewlekła choroba nerek należy do jednych z najważniejszych czynników rozwoju ryzyka schorzeń sercowo-naczyniowych. Już we wczesnych jej etapach dochodzi zarówno do zmian strukturalnych, jak i czynnościowych serca oraz naczyń. Zmiany te nasilają się wraz ze spadkiem filtracji kłębuszkowej, osiągając apogeum u chorych leczonych nerkozastępczo.

Można by sądzić, że u dzieci z PChN zaburzenia kardiologiczne nie stanowią tak istotnego problemu, ale dane statystyczne przyczyn zgonów w tej grupie chorych wykazały, że w ponad połowie przypadków powodem śmierci były zaburzenia sercowo-naczyniowe u pacjentów dializowanych, a w 37% przyczyną śmierci u chorych po transplantacji nerki. Przeprowadzona analiza patologii kardiologicznych obserwowanych u dzieci z PChN leczonych zachowawczo i nerkozastępczo wskazuje, że są to głównie zaburzenia rytmu, uszkodzenia zastawek serca, kardiomiopatie i zatrzymanie krążenia.

Wzrost zapadalności na schorzenia układu sercowo-naczyniowego u dzieci należy wiązać nie tylko z mnogością czynników sprzyjających uszkodzeniu mięśnia sercowego w przebiegu PChN, ale również ze szczególną podatnością rozwijającego się organizmu na wszelkie rozchwiania fizjologicznych procesów.

Istotnym elementem zaburzeń w układzie sercowo-naczyniowym u chorych z przewlekłą chorobą nerek są zmiany w śródkomorowym układzie bodźco-przewodzącym serca.

U ludzi zdrowych impuls elektryczny rozprzestrzenia się do komór serca poprzez węzeł przedsionkowo-komorowy, pęczek przedsionkowo-komorowy (pęczek Hisa), jego prawą i lewą odnogę, wiązki i włókna Purkiniego. Zwolnienie bądź przerwanie przewodzenia w jednej z odnóg pęczka Hisa prowadzi do opóźnionej depolaryzacji odpowiedniej komory serca, co w efekcie daje zaburzeniami synchronii hemodynamicznej i pogarsza funkcję serca jako pompy.

Diagnostyka kardiologiczna pacjentów pediatrycznych z PChN jest typowa i obejmuje badania obrazowe, rejestracje elektrokardiogramu oraz badania laboratoryjne. W obszarze badań elektrokardiograficznych od wielu lat obserwuje się sukcesywny wzrost zainteresowania metodą mappingu potencjałów serca z powierzchni ciała (ang. BSPM- body surface potential mapping), zarówno w aspekcie poznawczym, jak i pod kątem wdrażania tej metody do diagnostyki klinicznej.

Obraz BSPM z wykorzystaniem techniki komputerowej służy do rejestracji, analizy i prezentacji aktywności pola elektrycznego serca. Podczas badania BSPM otrzymujemy 3 rodzaje map: mapy izopotencjalne, izointegralne i izochronowe. Mapa izopotencjalna przedstawia rozmieszczenie chwilowych potencjałów serca podczas całego cyklu serca. Mapa izointegralna wyraża algebraiczną sumę wszystkich chwilowych wartości potencjałów

zintegrowanych w zadanym przedziale czasowym cyklu serca (np. Zespołu QRS lub odstępu ST-T). Mapa izochronowa obrazuje wartości czasowe przejścia pobudzenia w sercu. Według wielu autorów BSPM przewyższa elektrokardiografię klasyczną (12-odprowadzeniowe EKG) pod względem selektywnej oceny poszczególnych obszarów serca w kontekście miejscowych zmian pola kardioelektrycznego.

Podjęcie tematu diagnostyki zaburzeń układu bodźcoprzewodzącego serca u dzieci i młodzieży z przewlekłą chorobą nerek mogło być możliwe dzięki ścisłej współpracy z Zakładem Elektrokardiologii i Prewencji Chorób Serca Katedry Patofizjologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Do rejestracji pola elektrycznego serca użyto japońskiego aparatu Fukuda Denshi systemu HPM 7100 będącego w wyposażeniu tego Zakładu. Aparat Fukuda Denshi rejestruje zapisy elektrokardiograficzne z 87 elektrod umieszczonych na powierzchni klatki piersiowej (59 z przodu i 28 z tyłu).

Badania przeprowadziliśmy w grupie dzieci z PChN leczonych zachowawczo i nerkozastępczo. Grupa pacjentów leczonych nerkozastępczo obejmowała leczenie hemodializa, dializą otrzewnową i po transplantacji nerki.

U dzieci z PChN leczonych zachowawczo, jak i dializą otrzewnową w obrazie BSPM stwierdziliśmy charakterystyczne dla wczesnej fazy zaburzeń przewodzenia w obrębie lewej odnogi pęczka Hisa. Równocześnie w klasycznym zapisie EKG nie występowały cechy zmian w obrębie układu bodźco-przewodzącego serca. U pacjentów leczonych powtarzanymi hemodializami na uzyskanych mapach stwierdzono istotne zwolnienie rozchodzenia się fali pobudzenia w lewej odnodze pęczka Hisa. Taki obraz zmian w przyszłości prowadzi najczęściej do przerostu lewej komory serca. Zdecydowaliśmy się również o ocenę wpływu zabiegu hemodializy na śródkomorowy układ bodźco-przewodzący serca, przeprowadzając badanie bezpośrednio przed i po sesji hemodializy. Utworzona mapa BSPM charakteryzowała się dużymi, niesymetrycznymi zmianami linii izopotencjalnych nad lewą i prawą komorą serca, co sumarycznie pozwalało stwierdzić zwolnienie rozchodzenia się fali pobudzenia w lewej odnodze pęczka Hisa. Po zabiegu hemodializy obraz BSPM uległ wyraźnej poprawie, tj. układ izolinii częściowo się normalizował.

Kontynuując proces badawczy wśród dzieci po przeszczepie nerki, zaobserwowaliśmy, że im dłużej są one poddawane zabiegom hemodializy przed przeszczepem, tym mniejsze szanse mają na wycofanie się zaburzeń w obrębie układu

bodźcoprzewodzącego komór serca. Zmiany w obrębie lewej odnogi pęczka Hisa z czasem utrwalają się, i są zgodne ze wzorem niezupełnego bloku lewej odnogi pęczka Hisa.

Dla pacjentów pediatrycznych istotna jest nieinwazyjna kardiologiczna diagnostyka, która pozwoliłaby na wczesne uchwycenie patologii zarówno strukturalnych, jak i czynnościowych serca. Metoda mappingu potencjałów serca z powierzchni ciała spełnia te oczekiwania.

Uzyskane wyniki badań z zastosowaniem BSPM zostały opublikowane w czasopismach krajowych i zagranicznych oraz przedstawione na konferencjach naukowych.

Do najważniejszych publikacji w zakresie tej tematyki zaliczam:

- **Dorota Polak-Jonkisz**, Krystyna Laszki-Szcząchor, Danuta Zwolińska, Witold Pilecki, Lesław Rusiecki, Małgorzata Sobieszczęńska, Kinga Musiał, Renata Bednorz, Anna Janocha.: Zaburzenia rozchodzenia się fali pobudzenia w sercu u dzieci z przewlekłą chorobą nerek - badane metodą mapingu powierzchniowego
Stand.Med. 2007 T.4 nr 1; s.66-74; **MNiSW pkt wewn.:** 3.000
- **Dorota Polak-Jonkisz**, Krystyna Laszki-Szcząchor, Leszek Purzyc, Danuta Zwolińska, Kinga Musiał, Witold Pilecki, Lesław Rusiecki, Anna Janocha, Dariusz Kałka, Małgorzata Sobieszczęńska ” Usefulness of body surface potential mapping for early identification of the intraventricular conduction disorders in young patients with chronic kidney disease” .
J.Electrocardiol. 2009 Vol.42 no.2; s.165-171 ; **IF: 1.077** ; Pkt MNiSW: 20.000
- **Dorota Polak-Jonkisz**, Krystyna Laszki-Szcząchor, Małgorzata Sobieszczęńska, Irena Makulska, Witold Pilecki, Lesław Rusiecki, Danuta Zwolińska.: Effect of kidney transplantation on heart conduction disturbances in children treated with chronic hemodialysis - a pilot study. *Pediatr.Transplant.* 2011 Vol.15 no.8; s.835-843
IF: 1.475 ; Pkt MNiSW/KBN : 27.000
- Krystyna Laszki-Szcząchor, **Dorota Polak-Jonkisz**, Danuta Zwolińska, Lesław Rusiecki, Anna Janocha, Małgorzata Sobieszczęńska” Heart ventricular activation in VAT difference maps from children with chronic kidney disease”
Pediatr.Nephrol. 2012 Vol.27 no.2; s.251-259; **IF: 2.518** ; Pkt. MNiSW/KBN: 27.000

Osiągnięcia w zakresie badań nad zagadnieniem zaburzeń przewodnictwa układu bodźcoprzewodzącego serca u dzieci i młodzieży z przewlekłą chorobą nerek zostały docenione przez **JM Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W roku 2012 autorzy badań otrzymali nagrodę zespołową.**

Ad. b.

Kolejnym ważnym tematem moich badań była ocena biochemicznych wykładników towarzyszących zaburzeniom gospodarki wapniowo-fosforanowej u dzieci z PChN. Rozwój wtórnej nadczynności przytarczyc, tak charakterystyczny dla tej populacji chorych, prowadzi do przesunięcia równowagi w kierunku przewagi procesów osteolitycznych nad osteogennymi. Zaburzenia na osi parathormon-witamina D₃- jony Ca i fosforanowe obserwowane są najczęściej już przy obniżeniu filtracji kłębuszkowej poniżej 60ml/min/1.72m² pc. Końcowym efektem tych biochemicznych zmian jest osteopatia mocznicowa. W przypadku dziecka, młody, rozwijający się organizm jest szczególnie podatny za rozchwianie homeostazy wapniowo-fosforanowej, prowadząc do zmian w mikroarchitekturze tkanki kostnej. Do manifestacji klinicznych w tej populacji wiekowej należy zaliczyć zahamowanie wzrostu, deformacje kostne a nawet złamania. Obserwacje nasze obejmowały pacjentów pediatrycznych z PChN leczonych zachowawczo i nerkozastępczo. W badanej populacji oznaczaliśmy we krwi intact parathormon wraz z jego składowymi CAP i CIP, metabolity witaminy D₃ [25(OH) D₃ i 1.25 (OH)₂D₃] oraz jony wapnia i fosforanowe (P_i). Ponadto przeprowadziliśmy ocenę gęstości mineralnej kośćca w oparciu o pomiary przy użyciu aparatu Lunar DPX-L. Otrzymane wyniki badań pozwoliły nam na wysunięcie następujących wniosków:

- W grupie pacjentów leczonych zachowawczo średnie stężenia i PTH i P_i we krwi były znamienne wyższe w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Poziomy Ca w surowicy były natomiast obniżone, ale bez cech istotności statystycznej.
- Współczynnik CAP/CIP nie różnicuje jednoznacznie stanu gęstości mineralnej kośćca jak również nie wykazuje korelacji z oznaczonymi przez nas parametrami gospodarki Ca-P u dzieci z PChN
- Średnie stężenia 1.25 (OH)₂ D₃ i 25 (OH)D₃ u dzieci od III stadium PChN były obniżone
- Nieistotne obniżenie stężenia metabolitów witaminy D₃ prowadzi do podwyższonej sekrecji parathormonu u dzieci z PChN leczonych zachowawczo. Zaburzenia te pogłębiają się przy dalszym upośledzeniu filtracji kłębuszkowej.

- Pomimo suplementacji 1- α -hydroksywitaminy D₃ u dzieci leczonych nerkozastępczo może dojść do zaburzeń remodelingu kostnego.
- Ocena densytometryczna pozwoliła stwierdzić, że zmianom gęstości mineralnej kośćca towarzyszyły biochemiczne wykładniki wtórnej nadczynności przytarczyc

Ad.c.

Poza analizą wykładników biochemicznych gospodarki wapniowo-fosforanowej byłam współautorem publikacji omawiających wpływ zastosowanego leczenia u dzieci z PChN. Patomechanizm powstawania zaburzeń homeostazy Ca-P, podczas pogłębiania się PChN, jest złożony i wieloczynnikowy, a jedną z zasadniczych ról odgrywa niedobór aktywnego metabolitu witaminy D₃. Korekcja tych zaburzeń z jednoczesnym kompleksowym leczeniem pozwala na ograniczenie rozwoju powikłań, w szczególności osteodystrofii nerkowej. Stąd, cykl naszych kolejnych badań obejmowały obserwacje pacjentów pediatrycznych z PChN leczonych zachowawczo przed włączeniem 1- α -hydroksywitaminy D₃, półroczny okres terapii, a także u dzieci hemodializowanych. U chorych tych oznaczaliśmy w surowicy poziom iPTH, 25(OH)D₃, jony wapnia i fosforanowe. Otrzymane wyniki pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

- Monitorowanie poziomów iPTH, Ca oraz P_i u dzieci z PChN jest konieczne i niezbędne do podjęcia decyzji o rozpoczęciu leczenia metabolitami witaminy D₃
- Suplementacja 1- α -hydroksywitaminy D₃ pod kontrolą stężeń jonów Ca i P_i w surowicy, prowadzi do obniżenia poziomów iPTH.
- U chorych z zaawansowaną PChN nie należy dożyć do normalizacji stężeń iPTH we krwi z uwagi na ryzyko wystąpienia osteodystrofii nerkowej z niskim obrotem kostnym.

Publikacje z tego cyklu otrzymały **wyróżnienie Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej** za najlepszą pracę naukową opublikowaną w czasopiśmie polskim w latach 2006-2008

Ad.d.

Kolejny cykl moich badań obejmował biochemiczną ocenę metabolizmu kostnego u pacjentów z PChN w oparciu o markery obrotu kostnego, których stężenie we krwi i w moczu jest wypadkową toczących się procesów przebudowy w obrębie szkieletu. Towarzyszące PChN nieprawidłowości w mikroarchitekturze tkanki kostnej, prowadzą do degradacji masy kostnej ,a tym samym zmniejszenia jej wytrzymałości mechanicznej. Zaburzenia modelowania strukturalnego i wewnętrznej przebudowy tkanki kostnej u dzieci i młodzieży występuje częściej, niż powszechnie się uważa, i mogą prowadzić do nieodwracalnych zmian szkieletowych. Ocenę tempa obrotu kostnego umożliwiają tzw. markerów obrotu kostnego. Są to fragmenty białkowych elementów strukturalnych kości (lub produkty ich degradacji oraz enzymy i białka uwalniane do krążenia w czasie aktywacji metabolicznej osteoklastów i osteoblastów. Markery te ze względu na rolę jaką odgrywają w metabolizmie kostnym dzielimy na: markery kościotworzenia i markery resorpcji. W praktyce klinicznej zastosowanie mają wszystkie wskaźniki obrotu kostnego , zarówno te uwalniane do krążenia jak i wydalane z moczem. W badaniach naszych oznaczaliśmy, poza poziomem iPTH, stężenie wydalanego z moczem C-końcowego usieciowanego telopeptydu łańcucha alfa kolagenu typu I (CrossLaps), osteokalcyny (OST), C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PICP), karboksyterminalny telopeptyd kolagenu typu I (ICTP). Obserwacje zostały przeprowadzone u dzieci i młodzieży z PChN z prawidłowym jak z podwyższonym stężeniem parathormonu w surowicy. Badania te zostały przeprowadzone we współpracy z Zakładem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Otrzymane wyniki pozwoliły nam na wysunięcie następujących wniosków:

- Największe stężenie wydalonego z moczem CrossLaps stwierdzono u pacjentów z podwyższonym surowiczym poziomem iPTH
- Średnie stężenia ICTP –markera degradacji kostnej w obu podgrupach dzieci z PChN były wyraźnie podwyższone, podczas gdy stężenie PICP utrzymywało się na niezmiennym poziomie.
- Oznaczenie stężenie w/w markerów obrotu kostnego w okresie leczenia zachowawczego PChN jest pomocne w podjęciu odpowiedniej strategii leczniczej oraz może mieć wpływ na wczesną prewencję osteodystrofii nerkowej.

Wyniki powyższych badań, przyczyniły się do poznania roli oraz przydatności biochemicznych parametrów homeostazy wapniowo-fosforanowej u dzieci z PChN. Obserwacje nasze oparliśmy na nowatorskich, jak na tamte lata, oznaczeniach markerów obrotu kostnego, zarówno tych uwalnianych do krążenia jak i wydalanych z moczem. Ocenialiśmy ponadto, efektywność zastosowanej terapii 1- α -hydroksywitaminy D₃, w tej populacji chorych. Spostrzeżenia te zostały opublikowane w czasopiśmie medycznym o zasięgu ogólnokrajowym i byłam w nich pierwszym autorem.

Ad. e.

Wieloletnie statystyki medyczne zwracają uwagę, że zakażenia atypową bakterią Gram-ujemną nie są zarezerwowane jedynie dla populacji dorosłych. Uporczywe dolegliwości dysuryczne i/lub jałowa leukocyturia bądź erytrocyturia o niejasnej etiologii u dzieci może być efektem stanu zapalnego wywołanego przez *Chlamydia trachomatis* (*C.trachomatis*). W badaniach dotyczących roli tej bakterii w rozwoju zakażeń dróg moczowych wykorzystaliśmy technikę immunofluorescencji bezpośredniej za pomocą odczynnika MicroTrack *Chlamydia trachomatis*. Przedmiotem badań były zarówno próbki moczu (wykrywanie DNA *C.trachomatis* przy użyciu zestawu PCR *C.trachomatis*) jak i wymaz z cewki moczowej. Obserwacje nasze były przeprowadzone u dzieci i młodzieży z prawidłową budową dróg moczowych jak i z wadami utrudniającymi odpływ moczu. Ocenialiśmy ponadto skuteczność leczenia u pacjentów pediatrycznych z już udokumentowanym zakażeniem *C.trachomatis* układu moczowego. Nasze badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

- *Chlamydia trachomatis* jest częstym czynnikiem etiologicznym zakażeń dróg moczowych u dzieci, a szczególnie u niemowląt i młodszych dzieci. Obecność antygeny *C. trachomatis* stwierdzono u około połowy badanych dzieci z wadami utrudniającymi odpływ moczu. Najwyższy odsetek wyników dodatnich (52%) wykazano w grupie dzieci z odpływami pęcherzowo-moczowodowymi oraz ze zwężeniem ujścia podmiedniczkowego i przypęcherzowego moczowodów.
- Ponad połowa badanych dzieci miała zapalenie spojówek i/lub zapalenie płuc.
- Infekcja wywołana u dziecka przez *Chlamydia trachomatis* jest często pierwszym indykatorem zakażenia w rodzinie.

- Wczesne wykrycie zakażenia *Chlamydia trachomatis* wpływa korzystnie na przebieg antybiotykoterapii i dalsze losy dziecka.

Ad.f.

Zaburzenia funkcji układu immunologicznego u dzieci z PChN były kolejnym tematem badawczym w jakim uczestniczyłam. W projekcie analizowano poziom stężenia wybranych cząsteczek adhezyjnych u chorych z PChN, leczonych zachowawczo i nerkozastępczo

(hemodializa, dializa otrzewnowa). Cząsteczki adhezyjne to związane z błoną komórkową białka, biorące udział w interakcji komórek. Cząsteczki te należą do trzech strukturalnie spokrewnionych rodzin: nadrodziny immunoglobulin, integryn i selektyn. Udział cząsteczek adhezyjnych w migracji leukocytów jest związany z procesem zapalnym, towarzyszącym m.in uszkodzeniu naczyń. Metodą ELISA oznaczano stężenie: naczyniowej cząsteczki adhezyjnej (sVCAM-1), międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej (sICAM-1) oraz selektynę P (sP-selectin) i selektyne L (sL-selectin). Otrzymane wyniki badań pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

- Wzrost stężenia sICAM-1, sVCAM-1 oraz sP-selektyny i obniżenie stężenia sL-selektyny u dzieci z PChN leczonych zachowawczo są wyrazem zaburzeń stanu równowagi immunologicznej.
- Wraz z pogłębianiem się PChN obserwuje się narastanie dysfunkcji leukocytów, co świadczy o postępującym upośledzeniu odpowiedzi immunologicznej.
- Zmiany stężeń cząsteczek adhezyjnych podczas zabiegu hemodializy zależą od typu zastosowanej błony dializacyjnej. Najmniejszą biokompatybilność wykazują błony kuprofanowe (CU) i celulozowe modyfikowane witaminą E (VE) w porównaniu do błon polisulfonowych (PS)
- Znamienne różnice w stężeniu badanych cząsteczek adhezyjnych pomiędzy pacjentami z PChN leczonymi zachowawczo i nerkozastępczo, wskazują na narastanie zaburzeń immunologicznych podczas dializoterapii, a w szczególności hemodializy.

Plany Naukowe

W październiku br odbywałam staż krajowy w Instytucie Biologii Doświadczalnej PAN w Warszawie. Celem tego stażu było przygotowanie się do kontynuacji badań związanych z homeostazą wapnia cytoplazmatycznego, ale już w oparciu o mikroskop konfokalny i cytofluorymetr przepływowy. Wiązało się to z koniecznością opracowania metody ustabilizowania erythrocyta. Pierwsze otrzymane wyniki tej wizualizacja wydają się być interesujące. Zostałam także zaproszona na warsztaty mikroskopii konfokalnej organizowane w ramach projektu Euro-BioImagine oraz Konferencję pt Wizualizacja starzenia się komórek *in vitro* i *in vivo*.

6. Pozostałe informacje

Podsumowanie dorobku naukowego

Mój dorobek po obronie rozprawy doktorskiej obejmuje 34 publikacji w czasopismach recenzowanych o łącznej wartości IF 23,691, **MNiSW/KBN** : 363pkt

- Prace oryginalne: 30 publikacji o łącznej wartości 339 pkt **MNiSW/KBN** w tym:
 - 13 publikacji z **IF= 22,595**, **MNiSW/KBN** 256 pkt, z których w 7 jestem pierwszym autorem o łącznej ilości punktów IF=12.968, **MNiSW/KBN** - 162 pkt
 - 17 publikacji bez IF, **MNiSW/KBN** - 83pkt
 - ogólnie w 17 publikacjach jestem pierwszym autorem
- Artykuły poglądowe: łącznie 2 z **IF =1.096**, **MNiSW/KBN** 16 pkt, jako pierwszy autor z IF = 0.442
- Opis przypadku: 2 publikacje o wartości 8 pkt **MNiSW/KBN**
- Listy do redakcji : łącznie 3 publikacje z **IF = 6.097** jako pierwszy autor 2 z nich z **IF= 4.622**
- Rozdziały w monografiach, podręcznikach, skryptach : 16
 - 3 w międzynarodowych
 - 13 w krajowych
- Publikacje pełno tekstowe w suplementach czasopism: 4

- Streszczenia konferencyjne ze zjazdów: międzynarodowych – 41, krajowych - 25
- Liczba cytowań 38; indeks Hirsha 3 (ISI Web of Science 1945-2012 z dnia 20.09.2012)

Udział czynny w międzynarodowych lub krajowych konferencjach naukowych

- a. Nazwa kongresu : International Congress of Nephrology(1993,1997, 1999), Congress of the European Renal Association European Dialysis and Transplant Association (1994,1995,1996,2000-2008, 2011-12), International Congress on Dialysis in Developing Countries (1994), Asian Pacific Congress of Nephrology (1995), Congress of the International Pediatric Nephrology Association(2001, 2002, 2004-2009), International Congress on Electrocardiology (2009,2010), Kongres Naukowo-Szkoleniowy "Nadciśnienie tętnicze jako problem interdyscyplinarny (2005).
- b. Konferencje, zjazdy i sympozja: Konferencja Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej 1999, 2000, 2002-2008, 2010), Polish - German - Czech Symposium "Modern aspects of nephrology and hypertension" (2005), Konferencja Naukowo-Szkoleniowa "Problemy endokrynologiczne i diabetologiczne wieku rozwojowego(2009)

Udział w projektach badawczych

- Projekt badawczy KBN nr 0758/PO5/2000/18 pt „,Cząsteczki adhezyjne sICAM-1, sVCAM-1, sL-selektyna i sP-selektyna w surowicy krwi dzieci z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo i nerko zastępczo” – **kierownik zadania**
- Projekty badawcze w ramach badań własnych Akademii Medycznej we Wrocławiu:
 - grant nr 1303 - pt „,Wyznaczniki metabolizmu kostnego u dzieci z przewlekłą chorobą nerek” - **jako członek zespołu badawczego**
 - grant nr PB 860 - pt „,Kaspazy - enzymy "śmierci" w erytrocytach u dzieci z przewlekłą chorobą nerek „, – **kierownik zadania**
 - grant nr PB 936 – pt” Metabolity witaminy D3 u dzieci z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo i nerko zastępczo” – **kierownik zadania**
 - grant nr 1760- pt. „, Kaspaza-3 jako regulator homeostazy wapnia w płytkach krwi u dzieci i młodzieży z przewlekłą choroba nerek o różnym stopniu zaawansowania” – **kierownik zadania**

Dodatkowe szkolenia i kursy

- 1994 rok- staż w laboratorium naukowym, Katedra i Klinika Nefrologii, Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii, Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach,
- 1998 rok- Staż 6 tygodniowy w Dept. of Nephrology, Birmingham Children's Hospital, Wielka Brytania.
- 2008 rok- szkolenie pt.: „Zasady planowania badań naukowych w medycynie” w Warszawie, organizowanym przez Nutricia –Fundacja Badawcza
- 2012 roku- staż krajowy w Instytucie Biologii Doświadczalnej Państwowej Akademii Nauk im M.Nenckiego, Warszawa

Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i innych

- 2002 rok- recenzent pracy magisterskiej pani Anety Łęgosz pt: Witamina 25(OH)D₃ i 1,25(OH)₂D₃ oraz inne parametry biochemiczne u dzieci z przewlekłą niewydolnością nerek .
- 2011 rok - publikacja pt “ Analyzing Temporal Variability of Standard Descriptors of Poincaré plot “ dla Journal of Electrocardiology, IF 1.077
- 2012 rok - publikacja pt “ Vitamin D Insufficiency and Treatment with Oral Vitamin D₃ in Children with Chronic Kidney Disease” dla Saudi Medical Journal
- 2012 rok - publikacja pt “"Diastolic dysfunction measured by Tissue Doppler imaging in children with End-stage renal disease" dla Pediatric Nephrology, IF 2.518

Działalność na rzecz Dolnośląskiego Festiwalu Nauki

Dolnośląskiego Festiwalu Nauki jest imprezą popularnonaukową przygotowywaną przez pracowników wyższych uczelni Wrocławia, instytutu Polskiej Akademii Nauk i środowisko pozauczelniane. Ma on na celu przybliżenie różnych dyscyplin naukowych, nowych kierunków badań, rozwiązań technologicznych, a przede wszystkim promowanie nauki.

Mój osobisty udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki to :

- 2004 rok – wykład pt „Nowi „gracze” w regulacji metabolizmu kostnego”
- 2005 rok – wykład pt „ Choroby nerek i dróg moczowych u dzieci”

- 2005 rok- wykład pt „Nie tylko o chorobach nerek u dzieci „
- 2008 rok – wykład pt „ Sepsa u dzieci z chorobami nerek”
- 2008 rok - wykład pt „ Depresja i stany lękowe u dzieci z chorobami nerek”
- 2012 rok – warsztaty pt „ Mapy serca u dzieci w chorobach nerek”

Działalność dydaktyczna

Jako pracownik naukowo-dydaktyczny Katedry i Kliniki Nefrologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu prowadzę zajęcia z zakresu pediatrii ze studentami IV roku Wydziału Lekarskiego i propedeutyki pediatrii ze studentami III roku Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego oraz nefrologii dziecięcej ze studentami IV roku Wydziału Lekarskiego.

W ramach dyżurów lekarskich odbywam zajęcia przy łóżku pacjenta ze studentami VI roku Wydziału Lekarskiego. Zajęcia te mają na celu doskonalenie umiejętności lekarskiej opieki nad chorym i prowadzenia dokumentacji medycznej.

Jestem opiekunem lekarzy odbywających coroczny staż podyplomowy (6-8 lekarzy). W okresie wakacyjnym pełnię funkcję opiekuna praktyk studenckich 2-3 studentów Wydziału Lekarskiego.

Brałam udział w przygotowaniu kursów doszkalających dla personelu pielęgniarskiego Stacji Dializ organizowanych przez Dolnośląski Ośrodek Doskonalenie Kadr Medycznych we Wrocławiu, przygotowując wykłady z zakresu przewlekłej choroby nerek u dzieci, leczenia nerkozastępczego oraz organizacji stacji dializ.

Działalność w Organach Samorządu Lekarskiego

- dwukrotnie członek Komisji Konkursowej ds. obsady stanowiska ordynatora oddziału Nefrologii Dziecięcej (szpital im Korczaka, Wrocław) i oddziału Nefrologii, Stacji Dializ (szpital im dr A.Sokołowskiego, Wałbrzych) przy Dolnośląskiej Izbie Lekarskiej we Wrocławiu
- członek Zarządu Koła Pediatrycznego Dolnośląskiej Izby Lekarskiej od 2009 roku
- dwukrotnie delegat na Zjazd Delegatów Dolnośląskiej Izby Lekarskiej (2011, 2012)

Działalność organizacyjna

- członek komitetu organizacyjnego Sympozjum Nefrologii Dziecięcej w Cieplicach w 2001 roku i Zjazdu Nefrologii Dziecięcej We Wrocławiu w 2012r .
- członek komitetu organizacyjnego XIV Polsko-Niemiecko-Czeskie Sympozjum "Modern Aspects of Nephrology and Hypertension" we Wrocławiu i XVII Polsko-Niemiecko-Czeskie Sympozjum „Modern Aspects of Nephrology and Hypertension

Działalność w zawodzie lekarza

Posiadam tytuł specjalisty z zakresu pediatrii oraz specjalisty nefrologa. Jako pracownik Kliniki Nefrologii Pediatrycznej i Stacji Dializ Akademickiego Szpitala Klinicznego udzielam świadczeń zdrowotnych dla pacjentów tego szpitala. Od kilku lat jestem konsultantem z zakresu nefrologii na oddziałach noworodkowych na terenie miasta Wrocławia. Okresowo współpracuję z publicznymi i niepublicznymi stacjami dializ na terenie województw dolnośląskiego i łódzkiego.

Członkostwo w krajowych towarzystwach naukowych

- Polskie Towarzystwo Nefrologii Dziecięcej
- Polskie Towarzystwo Pediatryczne

Nagrody i wyróżnienia

Na przestrzeni mojej pracy w Akademii Medycznej, a następnie na Uniwersytecie Medycznym im Piastów Śląskich we Wrocławiu otrzymałam:

- 1998 rok- nagrodę **zespołową JM Rektora Akademii Medycznej** we Wrocławiu za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowo-badawczej.
- 2008 rok - nagrodę **zespołową JM Rektora Akademii Medycznej** we Wrocławiu za cykl prac poświęconych zaburzeniom homeostazy wapnia oraz jego wpływu na układ bódźco-przewodzący serca u dzieci z przewlekłą chorobą nerek
- 2009 rok- **wyróżnienie** Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej za najlepszą pracę naukową opublikowaną w czasopiśmie polskim w latach 2006-2008

- 2011 rok – **nagroda zespołowa Ministra Zdrowia** za publikację pt “ The endogenous modulators of Ca²⁺-Mg²⁺-dependent ATPase in children with chronic kidney disease (CKD)”
- 2012 rok – **odznaka “Przyjaciel Dziecka”** przyznana przez Towarzystwo Przyjaciół Dzieci za pracę społeczną dla dobra dzieci.
- 2012 rok – **nagroda zespołowa JM Rektora Uniwersytetu Medycznego im Piastów Śląskich we Wrocławiu** za cykl prac poświęconych „Zaburzenia przewodzenia śródkomorowego u dzieci z przewlekłą chorobą nerek”

Dorota Polak-Jonkisz

