

AUTOREFERAT

1. Małgorzata Knaś
2. Stopień naukowy doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej uzyskany na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku w 2004 rok (tytuł rozprawy: „Wpływ kwasu ursodeoksycholowego (UDCA) na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w wątrobie, nerkach i surowicy krwi szczurów narażonych na stres”).
3. 2002r.-2003r. stanowisko asystenta-stażysty w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Białymstoku (przez ostatnie dwa lata studiów),
2004r.-2005r. stanowisko asystenta w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Białymstoku,
2005r.-2009r. stanowisko adiunkta w Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (do 2007 roku Akademii Medycznej),
2009r.-2013r. p. o. kierownika Samodzielnej Pracowni Kosmetologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku,
2013r.- do chwili obecnej zatrudnienie w Instytucie Ochrony Zdrowia Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. prof. Edwarda F. Szczepanika w Suwałkach.
4. Szczególne osiągnięcie naukowe
 - a) cykl publikacji pt.: Zmiany biochemiczne w ślinie pacjentów z twardziną układową.
 - b) **M. Knaś**, A. Zalewska, N. Waszkiewicz, J. Szulimowska, J. Dzieciół, S. Sierakowski, D. Waszkiel. Salivary: flow and proteins of the innate and adaptive immunity in the limited and diffused systemic sclerosis. 2014, J Oral Pathol Med; doi.10.1111/jop.1216
A. Zalewska, **M. Knaś**, E. Gińdzieńska-Sieśkiewicz, N. Waszkiewicz, A. Klimiuk, K. Litwin, S. Sierakowski, D. Waszkiel. Salivary antioxidants in patients with systemic sclerosis. 2013, J Oral Pathol Med; 43, 1, s. 61-68
M. Knaś, A. Zalewska, I. Daniszewska, D. Waszkiel. Wybrane enzymy śliny w przebiegu twardziny układowej. 2014, Dent Med Probl; 51, , s. 1-9
M. Knaś, M. Maciejczyk, D. Waszkiel, A. Zalewska. Oxidative stress and salivary antioxidants. 2013, Dent Med Probl ; 50, 4, s. 461-466

M. Knaś, K. Karaszewska, J. G. Karaszewski. Enzymy śliny. 2006, Magazyn Stomatologiczny; 6,173, s. 26-28

- c) Twardzina układowa (TU, systemic sclerosis) jest to przewlekła, wielonarządowa choroba tkanki łącznej. Dotyka ona 0,03-0,24 % populacji. Przeważnie rozpoczyna się około 35 r. ż. do 65 r. ż., trzykrotnie częściej dotyczy kobiet niż mężczyzn. Wyróżnia się dwa podtypy tej choroby: ograniczony i układowy, o różnym przebiegu klinicznym. Chorobę charakteryzuje występowanie dużej liczby autoprzeciwciał, uszkodzenie naczyń krwionośnych, jak również włóknienie skóry i narządów wewnętrznych. Proces włóknienia jest najbardziej widoczny w skórze, płucach, przewodzie pokarmowym, nerkach, sercu i gruczołach wydzielania zewnętrznego m. in. w gruczołach ślinowych. Dysfunkcje gruczołów ślinowych w przebiegu TU opisywane były wyłącznie w aspekcie wtórnego zespołu Sjögrena. Wiadomo jest również, że zwłóknienie gruczołów ślinowych poprzedza zmiany skórne oraz, że towarzyszy mu wzrost ekspresji E-selektyny i TNF α oraz naciek komórek tłuszczowych. Etiologia twardziny układowej nie została do końca ustalona. Badania epidemiologiczne i genetyczne wskazują na złożoną komponentę genetyczną i wpływ czynników środowiskowych (np.: rozpuszczalników i związków krzemu). Udowodniono korelację między występowaniem twardziny układowej i obecnością specyficznych polimorfizmów głównego układu zgodności tkankowej a występowaniem wybranych w organizmie genów kodujących składniki zewnątrzkomórkowej macierzy cząsteczek sygnałowych i cytokiny. Główną rolę przypisuje się procesom immunologiczno-zapalnym, zmianom naczyniowym i włóknieniu. W ostatnich latach podkreśla się również udział stresu oksydacyjnego w patogenezie tej choroby. Mianem stresu oksydacyjnego określa się stan charakteryzujący się zwiększoną ilością reaktywnych formy tlenu (RFT, ang. ROS, reactive oxygen species). Wynika on z zaburzenia równowagi między produkcją a neutralizowaniem RFT. Niektóre z RFT nazywamy wolnymi rodnikami tlenowymi. Z definicji wolny rodnik tlenowy to „atom lub cząsteczka posiadająca niesparowany elektron”. Do wolnych rodników zaliczamy: anionorodnik ponadtlenkowy O $_2^{\cdot-}$, rodnik wodoronadtlenkowy HO $_2^{\cdot}$, rodnik hydroksylowy \cdot OH, tlenek azotu NO \cdot , oraz tlen singletowy 1 O $_2$. W warunkach fizjologicznych wolne rodniki tlenowe powstają z tlenu cząsteczkowego przy udziale mitochondrialnego systemu transportującego elektrony w procesie oddychania komórkowego lub w reakcjach procesów utleniania od niego niezależnych, tj. katalizowanych przez: oksydazę NADPH, oksydazę ksantynową lub

oksydazę L- amionokwasową. RFT w stężeniach fizjologicznych pełnią istotne funkcje w komórkach, m.in. uczestniczą w przekazywaniu sygnałów wewnątrz- i międzykomórkowych, co dokładniej opisaliśmy w pracy poglądowej, będącej częścią cyklu prac stanowiących moje szczególne osiągnięcia naukowe.

Pomimo udowodnionej roli stresu oksydacyjnego w rozwoju powikłań twardziny układowej, tylko Su i wsp. wskazują, na istotny wzrost produktów oksydacji białek w ślinie pacjentów z TU. Autorzy nie dokonują jednak diagnostyki w kierunku zespołu Sjögrena, co tak naprawdę nie pozwala ocenić czy TU zaburza funkcjonowanie gruczołów ślinowych, czy obserwowane zmiany w ślinie to efekt zespołu Sjögrena. Brak jest również badań analizujących enzymatyczne i nieenzymatyczne systemy antyoksydacyjne śliny pacjentów z TU. Taka analiza wydaje się bardzo ważna ze względu na fakt, że równowaga oksydacyjno-antyoksydacyjna śliny odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy w jamie ustnej. Taka analiza (przy zastosowaniu odpowiedniej selekcji pacjentów) pozwoli ocenić funkcjonowanie gruczołów ślinowych w przebiegu tej choroby. W pierwszej fazie badań (zgoda komisji bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku R-I-002/369/2011), po zastosowaniu kryteriów (pacjenci nie korzystający z protez zębowych; w ostatnich 6 miesiącach nieprzyjmujący leków mogących mieć wpływ na wydzielanie śliny; u których nie stwierdzono cukrzycy, HIV, RZS, zakażenia HCV) włączyliśmy 35 pacjentów z TU. Uznany kryterium dysfunkcji gruczołów ślinowych jest redukcja wydzielania śliny niestymulowanej $<0,2$ mL/min, dlatego też pacjentów podzielono na dwie grupy: ze zmniejszonym wydzielaniem śliny niestymulowanej ($<0,2$ mL/min) (13 osób) i z prawidłowym wydzielaniem śliny niestymulowanej ($>0,2$ mL/min) (22 osoby). Grupę referencyjną stanowiło 35 osób ogólnie zdrowych, dobranych pod względem płci i wieku, zgłaszających się na leczenie stomatologiczne. Kliniczne badanie reumatologiczne obejmowało ocenę występowania w surowicy krwi: przeciwciał ACA, przeciwko topoizomerazie 1, przeciwko antygenowi Ro/SSA, La/SSB, ocenę podtypu choroby (ograniczona, rozlana), stopnia zaawansowania i czas trwania choroby. Kliniczne badanie stomatologiczne obejmowało ocenę uzębienia i stanu przyzębia- wskaźniki PUW, PPD (głębokość kieszonek przyzębnych), GI. U pacjentów z TU przeprowadzono diagnostykę w kierunku wtórnego zespołu Sjögrena (pomiar wydzielania śliny niestymulowanej, test Schirmera 1, biopsja gruczołów ślinowych wargowych, ankieta dotycząca suchości w jamie ustnej i gałce ocznej, przeciwciała przeciwko antygenowi Ro/SSA, La/SSB). Materiałem badanym była

śliny niestymulowana i stymulowana, w którym oznaczono: aktywność peroksydazy ślinowej, stężenie dysmutazy ponadtlenkowej 1, stężenie kwasu moczowego i wartość całkowitej zdolności antyoksydacyjnej śliny (TAS) oraz stężenie białka w ślinie. Wyniki przedstawiono w przeliczeniu na białko (tzw. wartość całkowita). Takie przedstawienie wyników jest uznaną formą pozwalającą na ocenę zmian syntezy/sekrecji danego białka przez komórki gruczołów ślinowych. Ocena wyników uzyskanych w ślinie niestymulowanej, pozwala na ocenę funkcji gruczołów podżuchwowych, zaś w ślinie stymulowanej – gruczołów przyusznych. Wyniki uzyskane w badaniu reumatologicznym wykazały istotnie dłuższy czas trwania choroby w grupie pacjentów z hiposaliwacją w porównaniu do grupy pacjentów z normalnym wydzielaniem śliny. Częstotliwość występowania podtypu choroby, jak również obecność przeciwciał ACA i przeciwko topoizomerazie I i występowanie powikłań choroby nie różniły się istotnie pomiędzy grupami pacjentów z TU. Przeprowadzona diagnostyka wykluczyła występowanie zespołu Sjögrena u badanych pacjentów z TU. Zgodnie z zasadami analizy statystycznej przy takiej liczebności grup stosuje się analizę za pomocą testów nieparametrycznych i wyniki przedstawia się w postaci mediany czyli tzw. wartości środkowej. Mediana wskaźnika PUW uzyskana w grupie pacjentów z hiposaliwacją była istotnie wyższa niż w grupie referencyjnej, przy czym nie różniła się istotnie pomiędzy grupami pacjentów z TU. Nie wykazaliśmy różnic wartości wskaźnika dziąsłowego GI i pomiaru głębokości kieszonek periodontalnych pomiędzy grupami pacjentów z TU i grupą referencyjną. Brak było również zależności pomiędzy parametrami uzyskanymi z badania stomatologicznego, a wynikami uzyskanymi z oznaczeń biochemicznych. Ten brak zależności wyklucza wpływ tkanek przyzębia na zachowanie się systemów antyoksydacyjnych w ślinie pacjentów z TU i pozwala na wykorzystanie uzyskanych wyników do oceny funkcjonowania gruczołów ślinowych. Mediany wydzielania śliny niestymulowanej i stymulowanej uzyskane w grupie pacjentów z hiposaliwacją były istotnie niższe w porównaniu do grupy pacjentów z TU z normalnym wydzielaniem i do grupy referencyjnej, przy czym w grupie pacjentów z TU i normalnym wydzielaniem i w grupie referencyjnej nie różniły się istotnie. Badanie histologiczne małych gruczołów ślinowych wykluczyło istnienie zespołu Sjögrena. Wykazało natomiast, że w biopsjach gruczołów ślinowych pobranych od pacjentów z TU z hiposaliwacją istotnie częściej obserwowano rozmycie przewodów, zanik pęcherzyków i proces włóknienia w porównaniu do pacjentów z TU z normalnym wydzielaniem śliny. Uzyskane wyniki

wykazały istotnie niższą aktywność specyficzną peroksydazy w ślinie niestymulowanej i stymulowanej pacjentów z grupy z hiposaliwacją w porównaniu do grupy referencyjnej i grupy pacjentów z normalnym wydzielaniem śliny. W grupie pacjentów z TU z normalnym wydzielaniem śliny aktywność specyficzna peroksydazy, zarówno w ślinie niestymulowanej i stymulowanej, była istotnie wyższa w porównaniu do grupy referencyjnej. Całkowita zawartość kwasu moczowego w ślinie niestymulowanej obu grup pacjentów z TU była podobna, przy czym była istotnie niższa niż w grupie referencyjnej. Całkowita zawartość kwasu moczowego w ślinie stymulowanej pacjentów z TU z normalnym wydzielaniem była istotnie wyższa w porównaniu do pacjentów z hiposaliwacją i grupy referencyjnej, przy czym w grupie pacjentów z hiposaliwacją była istotnie niższa niż w grupie referencyjnej. Aktywność specyficzna SOD-1 była istotnie wyższa w ślinie stymulowanej pacjentów z normalną saliwacją w porównaniu do grupy pacjentów z hiposaliwacją i grupy referencyjnej. Całkowita zawartość TAS w ślinie niestymulowanej pacjentów z TU obu grup nie różniła się istotnie, ale była istotnie niższa niż w grupie referencyjnej. Całkowita zawartość TAS w ślinie stymulowanej pacjentów z normalnym wydzielaniem była istotnie wyższa w porównaniu do pacjentów z hiposaliwacją i grupy referencyjnej, podczas gdy w grupie pacjentek z hiposaliwacją była istotnie niższa niż w grupie kontrolnej. Wykazaliśmy również istotną zależność pomiędzy czasem trwania choroby a wydzielaniem śliny niestymulowanej i stymulowanej w całej badanej populacji pacjentek z TU. Pomimo pewnych ograniczeń tego opracowania, takich jak tylko 12 pacjentów włączonych do badania do grupy z hiposaliwacją, uzyskane wyniki mogą sugerować, że dysfunkcja gruczołów ślinowych może być związana ze stresem oksydacyjnym. Po drugie dysfunkcja gruczołów ślinowych, wyrażona redukcją wydzielanej śliny niestymulowanej zależy od czasu trwania choroby. Na podstawie uzyskanych wyników mogę stwierdzić, że w początkowych stadiach twardziny układowej enzymy antyoksydacyjne gruczołów ślinowych radzą sobie ze zwalczaniem wolnych rodników, co z pewnością ułatwia prawidłowe funkcjonowanie gruczołów ślinowych, obserwowane jako prawidłowe wydzielanie śliny stymulowanej i niestymulowanej. Z czasem trwania choroby wydolność systemów antyoksydacyjnych gruczołów ślinowych staje się niewystarczająca, co skutkuje istotnym zmniejszeniem wydzielania śliny stymulowanej i niestymulowanej.

Ważnym wskaźnikiem dysfunkcji gruczołów ślinowych w wielu chorobach ustrojowych są zmiany metabolizmu glikokoniugatów macierzy zewnątrzkomórkowej gruczołów ślinowych. Dużą grupą enzymów ślinowych uczestniczących w rozkładzie tych struktur są egzoglikozydazy lizosomalne (m. in. N-acetylo-beta-D-heksozoaminidaza, jej izoenzymy A i B oraz beta-glukuronidaza). Enzymy te hydrolizują łańcuchy oligocukrowe i glikozoaminoglikanowe, dlatego są nieodłącznie związane z procesami degradacji i odnowy elementów, zarówno komórkowych i pozakomórkowych. Ich aktywność w stanie zdrowia organizmu jest niska, natomiast wzrost aktywności świadczy o ich zwiększonej syntezie/uwalnianiu, związanych z uszkodzeniem błon lizosomalnych komórek gruczołów ślinowych, w wyniku toczących się procesów zapalnych, zmian degeneracyjnych, czy transformacji tkanki gruczołowej w tkankę łączną, co szczegółowo opisaliśmy w pracy poglądowej będącej częścią cyklu prac stanowiących moje szczególne osiągnięcia naukowe. Postanowiliśmy ocenić wybrane enzymy lizosomalne w ślinie pacjentów z TU. Do badania zakwalifikowano 40 pacjentek z TU. Grupę kontrolną stanowiło dobranych pod względem płci i wieku 40 kobiet ogólnie zdrowych zgłaszających się na leczenie stomatologiczne. Przeprowadzono diagnostykę w kierunku zespołu Sjögrena, jak również opisane wcześniej badanie reumatologiczne i stomatologiczne. Materiałem badanym była ślina niestymulowana i stymulowana, w której oznaczono aktywności specyficzne N-acetylo- β -D-heksozoaminidazy (HEX), jej izoenzymów A i B (HEX-A, HEX-B) oraz β -glukuronidazy (GLU) i wydzielanie minutowe białka całkowitego, jak również oznaczono jej pH i pojemność buforową. Przeprowadzona analiza wykazała, że intensywność próchnicy wyrażona średnią liczbą PUW w całej populacji pacjentek z TU była istotnie wyższa niż w grupie referencyjnej. Wydzielanie śliny niestymulowanej było istotnie niższe w grupie pacjentek z TU w porównaniu do grupy osób zdrowych, zaś wydzielanie śliny stymulowanej nie różniło się istotnie między badanymi grupami. Pojemność buforowa śliny niestymulowanej i stymulowanej w grupie pacjentek z TU była istotnie niższa w porównaniu do grupy referencyjnej. Wyniki badań wykazały również, że aktywności specyficzne HEX, HEX-A, HEX-B i GLU były istotnie wyższe w ślinie niestymulowanej pacjentek z TU w porównaniu do grupy referencyjnej. Aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek z TU była istotnie wyższa w porównaniu do grupy referencyjnej, zaś aktywności HEX, HEX-A, HEX-B w ślinie stymulowanej pacjentek z TU nie różniły się istotnie w porównaniu do grupy referencyjnej. Wydzielanie minutowe białka w ślinie

spoczynkowej pacjentek z TU było istotnie niższe w porównaniu do grupy referencyjnej, nie było różnic w wydzielaniu minutowym białka w ślinie stymulowanej obu badanych grup. Wykazano również ujemną korelację między aktywnością HEX-B a wydzielaniem śliny niestymulowanej przez pacjentki z TU, jak również pomiędzy wydzielaniem białka w ślinie niestymulowanej a aktywnością specyficzną GLU w ślinie niestymulowanej pacjentek z TU. Podsumowując można stwierdzić, że istotnie zwiększona aktywność specyficzna wszystkich omawianych egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na TU może przyczyniać się do zmniejszenia objętości wydzielanej śliny i wydzielania minutowego białka całkowitego. Istotnie zwiększona aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek z TU, w porównaniu do grupy referencyjnej, może być wskaźnikiem klinicznie bezobjawowego uszkodzenia gruczołów przyusznych w przebiegu TU.

Tak jak wspomniałam, twardzina układowa może przebiegać w postaci ograniczonej i układowej. Obu typom choroby towarzyszą zaburzenia autoimmunologiczne. Dlatego też w kolejnej pracy postanowiłam ocenić funkcję gruczołów ślinowych w zależności od podtypu choroby. Jest to pierwsze w świecie takie opracowanie tego zagadnienia. Drugim, również pionierskim, celem pracy była ocena wydolności systemów obronnych śliny (białka odporności wrodzonej i nabytej) w zależności od podtypu choroby.

Badaniami objęto 55 pacjentów Kliniki Reumatologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, których podzielono ze względu na typ TU. Do pierwszej grupy zaliczono 20 pacjentów z postacią ograniczoną, grupę drugą tworzyło 35 pacjentek z postacią uogólnioną. Grupę kontrolną stanowiło 55 osób ogólnie zdrowych zgłaszających się w celu przeprowadzenia leczenia stomatologicznego. Kryteria zaliczające do badań zostały omówione wcześniej. Dodatkowym kryterium były: głębokość kieszonek do 3 mm, wskaźnik dziąsłowy do 1, brak widocznych makroskopowo stanów zapalnych błony śluzowej i kandydozy. Przeprowadzono diagnostykę w kierunku zespołu Sjögrena, jak również opisane powyżej badanie reumatologiczne i stomatologiczne. Materiałem badanym była ślina niestymulowana i stymulowana, w której oznaczono stężenie lizozymu, laktoferyny i sIgA, aktywność peroksydazy i stężenie białka całkowitego. Przeprowadzona analiza wykazała istotnie dłuższy czas trwania choroby i istotnie częstsze występowanie przeciwciał ACA w grupie pacjentów z postacią ograniczoną, w porównaniu z

pacjentami z postacią układową. U żadnego pacjenta nie stwierdzono wtórnego zespołu Sjögrena. Mediana wskaźnika PUW w obu grupach pacjentów z TU była istotnie wyższa niż w grupie referencyjnej. Mediana wydzielania śliny niestymulowanej w obu grupach pacjentów z TU (ograniczoną i układową) nie różniła się istotnie, natomiast była istotnie niższa niż w grupie referencyjnej. Wydzielanie śliny stymulowanej przez pacjentów z twardziną układową było istotnie niższe niż przez pacjentów z postacią ograniczoną i grupą referencyjną. Wydzielanie minutowe białka w ślinie niestymulowanej pacjentów obu grup z TU było istotnie niższe w porównaniu do grupy referencyjnej, wydzielanie minutowe białka w ślinie stymulowanej pacjentów obu grup i w grupie referencyjnej nie różniło się istotnie. Całkowita zawartość laktoferyny w ślinie niestymulowanej obu grup z TU nie różniło się istotnie, podczas gdy w obu grupach pacjentów: z TU ograniczoną i układową było istotnie wyższe w porównaniu do grupy referencyjnej. Całkowita zawartość laktoferyny w ślinie stymulowanej pacjentów obu grup i w grupie referencyjnej nie różniła się istotnie. Wykazaliśmy również, że całkowita zawartość lizozymu w ślinie niestymulowanej pacjentów obu grup i w grupie referencyjnej nie różniła się istotnie, różnice obserwowane były w ślinie stymulowanej. Mediana całkowitej zawartości lizozymu w ślinie stymulowanej pacjentów z twardziną ograniczoną była istotnie wyższa niż w ślinie stymulowanej pacjentów z twardziną układową i osób z grupy referencyjnej, przy czym nie różniła się istotnie pomiędzy tymi dwiema grupami. Mediana aktywności specyficznej peroksydazy w ślinie niestymulowanej pacjentów z TU obu grup nie różniła się istotnie, podczas gdy w obu grupach pacjentów była istotnie niższa w porównaniu do grupy referencyjnej. Aktywność specyficzna peroksydazy w ślinie niestymulowanej pacjentów obu grup z TU była istotnie wyższa w porównaniu do grupy referencyjnej, będąc istotnie wyższą w grupie z twardziną układową w porównaniu do grupy pacjentów z twardziną ograniczoną. Mediana całkowitej zawartości sIgA w ślinie spoczynkowej pacjentów obu grup z TU nie różniła się istotnie, jednak w obu grupach pacjentów była istotnie wyższa w porównaniu do grupy referencyjnej. Mediana całkowitej zawartości sIgA w ślinie stymulowanej pacjentów z postacią układową TU była istotnie wyższa w porównaniu do grupy referencyjnej i pacjentów z postacią ograniczoną.

Przeprowadzona analiza wykazała również dodatnią korelację pomiędzy aktywnością specyficzną peroksydazy i wydzielaniem minutowym białka w ślinie niestymulowanej pacjentów z twardziną ograniczoną i układową. Całkowita zawartość laktoferyny

ujemnie korelowała z wydzielaniem śliny niestymulowanej całej populacji pacjentów z TU, podczas gdy całkowita zawartość sIgA pozostawała w ujemnej korelacji z wydzielaniem śliny stymulowanej przez pacjentów z postacią układową choroby. Uzyskane wyniki pozwoliły na sformułowanie kilku wniosków. Po pierwsze twardzina układowa, bez względu na podtyp upośledza funkcjonowanie systemów odpornościowych w jamie ustnej. Pomiar wydzielania śliny stymulowanej wykazał upośledzenie funkcji sekrecyjnej gruczołów przyusznych pacjentów z postacią układową twardziny. Gruczoły przyuszne pacjentów z postacią ograniczoną zachowały pełną zdolność sekrecyjną. W obu grupach pacjentów zaobserwowano upośledzenie funkcji sekrecyjnej, jak również funkcji związanej z produkcją białka, gruczołów podżuchwowych. W obu grupach pacjentów zaobserwowano również osłabienie obrony antyoksydacyjnej gruczołów podżuchwowych, co biorąc pod uwagę, że wydzielina gruczołów podżuchwowych odgrywa dominującą rolę w zwalczaniu wolnych rodników w jamie ustnej, ma ogromne implikacje kliniczne. Pacjenci obu badanych grup wymagają bowiem suplementacji preparatami sztucznej śliny i preparatami wspomagającymi systemy antyoksydacyjne.

5. Praca naukowa

Mój dorobek naukowy obejmuje 70 prac oryginalnych, 23 prace poglądowe, 1 pracę kazuistyczną, 1 skrypt (łącznie IF- 36,333, punktacja MNiSzW – 863,00, h-index=6, liczba cytowań=69). Jestem pierwszym autorem w 18 pracach oryginalnych (łącznie IF- 7,246, punktacja MNiSzW- 376,00). Ponadto jestem autorem lub współautorem 112 komunikatów zjazdowych krajowych i zagranicznych.

Od 2003 roku współpracowałam z Zakładem Stomatologii Dziecięcej i Zakładem Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej, a od 2013 z Zakładem Stomatologii Zachowawczej UMB oraz z lekarzami stomatologami spoza uczelni, co zaowocowało powstaniem szeregu prac dotyczących biochemii śliny, jak również postępowania z pacjentem z różnymi jednostkami chorobowymi w gabinecie stomatologicznym.

Również od 2003 roku współpracuję z Profesorem Vyacheslav'em Buko z Instytutu Biochemii Narodowej Akademii Nauk w Grodnie w ramach umowy bilateralnej pomiędzy Zakładem Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Białymstoku a Instytutem Biochemii Narodowej Akademii Nauk w Grodnie, Białoruś. Współpraca ta dotyczy zmian aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w różnych stanach chorobowych wątroby.

Podsumowując z racji wieloletniej współpracy ze stomatologami, endokrynologami, gastroenterologami czy laryngologami mój dorobek naukowy można podzielić na kilka działów tematycznych.

1. Zmiany ilościowe i jakościowe w ślinie w przebiegu różnych jednostek chorobowych.

1.1. Cukrzyca

Cukrzyca jest to grupa chorób, których wspólną cechą jest hiperglikemia. Leczenie dużej liczby chorych na cukrzycę, pochodzących ze średniozamożnej części społeczeństwa, wymaga dużego budżetu. Dlatego najwcześniejsze diagnozowanie cukrzycy, jak i towarzyszących jej powikłań, jest bardzo ważne z ekonomicznego punktu widzenia. Wyróżniamy trzy podstawowe typy cukrzycy. Pierwszy to cukrzyca typu 1, która obejmuje około 10-15% wszystkich chorych na cukrzycę. Jedną z przyczyn powstawania cukrzycy typu 1 jest proces autoimmunologiczny, który niszczy ponad 90% komórek β wysp trzustkowych, co skutkuje prawie całkowitym zatrzymaniem produkcji insuliny. Opisywane są również przypadki cukrzycy insulinozależnej o charakterze idiopatycznym, gdy przyczyna ich powstawania jest nieznaną. Cukrzyca typu 1 zwykle rozpoczyna się w dzieciństwie lub młodym wieku i dotyczy często osób niedożywionych. Jest głównym typem cukrzycy rozpoznawanym w wieku poniżej 35 lat. Drugi typ to cukrzyca typu 2, obejmująca co najmniej 85-90% przypadków. Związana jest z insulinoopornością, czyli zmniejszeniem wrażliwości tkanek na działanie insuliny oraz także upośledzoną sekrecją insuliny. Najczęściej rozpoczyna się powyżej 35 roku życia i dotyczy zwykle osób z otyłością. Charakteryzuje się rzadko występującą kwasicą ketonową, prawidłowym lub wysokim stężeniem insuliny we krwi oraz dobrą odpowiedzią na doustne leki przeciwcukrzycowe. Trzecim typem jest cukrzyca ciążowa, czyli choroba pojawiająca się w drugim trymestrze ciąży i ustępująca po rozwiązaniu, zależy od wielu zmian hormonalnych (laktogen łożyskowy, gestogeny, estrogeny, hormony tarczycy) i metabolicznych. Za występowanie cukrzycy ciążowej odpowiedzialne może być również obniżenie wrażliwości tkanek na insulinę podczas ciąży. Jednak dokładne mechanizmy powstawania cukrzycy ciążowej nie są w pełni wyjaśnione. Cukrzyca ciążowa wiąże się ze zwiększonym ryzykiem powikłań samej ciąży i porodu oraz powstaniem cukrzycy typu 2 u matki w 5-10 lat po porodzie.

Aktywacja procesów autoimmunologicznych organizmu jest powiązana zarówno z cukrzycą typu 1, jak i 2. W stanie zdrowia organizm wytwarza przeciwciała przeciw antygenom (patogenom) wnikającym ze środowiska zewnętrznego. Proces autoagresji to zjawisko polegające na zaistnieniu odpowiedzi układu immunologicznego skierowanej przeciwko własnym komórkom organizmu (tzw. reakcja autoimmunologiczna). Organizm wytwarza przeciwciała skierowane przeciwko „własnym patogenom”, którymi są własne komórki czy tkanki i niszczy je. Niszczenie „autopatogenów” w fagolizosomach odbywa się przy udziale mechanizmów tlenowych i beztlenowych. Mechanizmy tlenowe opierają się na działaniu reaktywnych form tlenu o właściwościach toksycznych. Najważniejsze reaktywne formy tlenu to: anionorodnik nadadtlenkowy (O_2^-), rodnik wodoronadtlenkowy (HOO^\cdot), nadtlenek wodoru (H_2O_2) i rodnik hydroksylovyy (OH^\cdot). Mechanizm tego procesu przedstawiliśmy w pracy poglądowej pt.: „Stres oksydacyjny w cukrzycy i jego parametry w ślinie”. W mechanizmie beztlenowym rolę czynnika niszczącego „autopatogen” spełniają białka i peptydy. Zaliczamy do nich: azurocydynę, defenzyny, katepsyny, lizozym, elastazę, sjalidazę, mieloperoksydazę, α -mannozydazę, β -glukuronidazę, N-acetylo- β -glukozaaminidazę, czy laktoferynę. Ten aspekt omówiliśmy w cyklu prac dotyczących aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie pacjentów z cukrzycą typu 1, 2 i cukrzycą ciążową. Stwierdziliśmy, że stężenie aktywności N-acetylo- β -glukozaaminidazy, α -mannozydazy, β -glukuronidazy i α -fukozydazy, pojemność buforowa śliny, stężenie białka całkowitego oraz stężenia heksozoamin i fukozy są istotnie wyższe w grupie osób chorych na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast pH śliny jest istotnie niższe w grupie pacjentów z cukrzycą w porównaniu z osobami zdrowymi. Podwyższenie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych może być dowodem zaburzeń równowagi katabolizmu i anabolizmu glikokoniugatów gruczołów ślinowych i dowodzić, że gruczoły ślinowe są uszkodzane w przebiegu cukrzycy. Znamienne podwyższenie aktywności specyficznej egzoglikozydaz lizosomalnych może skutkować przyspieszoną degradacją glikoprotein śliny i być przyczyną chorób jamy ustnej.

Badaniu poddaliśmy również ślinę dzieci chorujących na cukrzycę typu 1 z różnym rodzajem uzębienia. Wyniki wykazały, że aktywność peroksydazy w ślinie dzieci z cukrzycą z uzębieniem mieszanym i stałym była znacząco niższa w porównaniu do odpowiednich grup referencyjnych. Zaobserwowaliśmy również znaczący wzrost aktywności peroksydazy w ślinie dzieci z cukrzycą i uzębieniem mieszanym niż w ślinie dzieci z cukrzycą z uzębieniem stałym. Stężenia lizozymu w ślinie dzieci z uzębieniem stałym chorujących na cukrzycę były znacząco wyższe w porównaniu do odpowiedniej grupy referencyjnej. Średnie stężenie sIgA

u dzieci z cukrzycą i uzębieniem stałym było znamienne wyższe w porównaniu do grupy dzieci zdrowych. Opisaliliśmy znacząco wyższe stężenie IgG w ślinie dzieci z cukrzycą i uzębieniem stałym w porównaniu do grupy dzieci zdrowych. Średnia wartość wydzielania minutowego sIgA w ślinie dzieci z cukrzycą i uzębieniem, zarówno mieszanym, jak i stałym była statystycznie niższa w porównaniu z odpowiedniymi grupami referencyjnymi.

Badania dotyczące wpływu palenia papierosów na zmiany aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie chorych na cukrzycę typu 1 opublikowaliśmy w 2004 i 2006 roku. Stwierdziliśmy, że palenie papierosów istotnie modyfikowało skład i właściwości śliny u osób zdrowych, a bardzo znacząco u osób z cukrzycą typu 1. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziliśmy, że zmiany aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych u palaczy wyprzedzają objawy kliniczne i mogą mieć wpływ w przyszłości na występowanie i przebieg stanów zapalnych tkanek miękkich jamy ustnej tych pacjentów. Aktywność specyficzna beta-glukuronidazy istotnie wzrosła w grupach chorych niepalących i chorych palących w porównaniu z grupą kontrolną. Odnotowaliśmy istotny spadek aktywności beta-glukuronidazy wśród zdrowych osób palących w porównaniu z niepalącymi. Aktywność specyficzna alfa-fukozydazy istotnie wzrosła w grupie osób palących z cukrzycą w porównaniu ze wszystkimi pozostałymi grupami. Aktywność specyficzna alfa-mannozydazy istotnie wzrosła w grupie palących osób z cukrzycą w porównaniu ze wszystkimi pozostałymi grupami. We wszystkich grupach znacząco zmalało pH śliny w porównaniu ze zdrowymi osobami niepalącymi.

Poddaliśmy również ocenie stan ślinianek ludzkich w przebiegu cukrzycy typu 1 oraz ślinianek zwierzęcych w przebiegu insulinooporności, która jest „wstępem” do cukrzycy typu 2. W badaniach przeprowadzonych na ludziach wykazaliśmy znamienne statystycznie wzrost współczynnika oporu RI u osób z cukrzycą typu 1. Potwierdza to istnienie zaburzeń mikrokrążenia w obrębie tkanki gruczołowej prowadzących do wzrostu oporu naczyniowego. Prawdopodobną przyczyną istotnego wzrostu RI może też być zmniejszenie sprężystości ściany naczyń wywołane degeneracją włókien elastycznych w ścianach tętnic. W śliniankach szczurów z insulinoopornością doszło do istotnego zwiększenia ilości dysmutazy nadtlenkowej 2, kwasu moczowego i katalazy jako efekt podwyższenia obrony przed wzrastającą ilością wolnych rodników w przebiegu insulinooporności. Jednocześnie stwierdziliśmy istotne obniżenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego i ilości peroksydazy ślinowej.

W cyklu prac przeglądowych przedstawiliśmy najnowsze poglądy na temat roli lekarza dentystry w rozpoznawaniu cukrzycy i leczeniu jej powikłań stomatologicznych, procedur stomatologicznych dotyczących uzupełnień protetycznych wykonywanych u pacjentów

chorych na cukrzycę. Opisaliśmy również przydatność wczesnej, pedobarometrycznej oceny biomechaniki stóp u osób z cukrzycą typu 1 do ustalania indywidualnych zaleceń profilaktyki zespołu stopy cukrzycowej

1. D. Bolesta, P. Dominika Hościłowicz, **M. Knaś**, D. Waszkiel, A. Zalewska. Stres oksydacyjny w cukrzycy i jego parametry w ślinie. *Pol Merk Lek* 2013; 35, 209, s. 1-5
2. **M. Knaś**, K. Karaszewska, W. Zarzycki, K. Zwierz. Ocena zmienności aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie pacjentów z cukrzycą typu 1. *Mag Stom* 2008; 5, s. 16-19
3. **M. Knaś**, W. Zarzycki, J.G. Karaszewski, N. Waszkiewicz, J. Szarmach, D. Waszkiel, A. Zalewska. Wydzielanie wybranych składników śliny u chorych z cukrzycą typu 1. *Stom Współ* 2014; 21, 1 s. 10-15
4. **M. Knaś**, K. Karaszewska, B. Prządka-Gumiężna, G. Gumiężny, W. Zarzycki, K. Zwierz. Ocena wpływu wieku na zmienność aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie pacjentów z cukrzycą typu 2. *Mag Stom* 2008; 4, s. 70-73
5. A. Zalewska, **M. Knaś**, M. Niczyporuk, H.H. Razak, N. Waszkiewicz, A.W. Przystupa, D. Waszkiel, W. Zarzycki. Salivary lysosomal exoglycosidases profiles in patients with insulin-dependent and noninsulin-dependent diabetes mellitus *Adv Clin Exp Med* 2013; 22, 5, s. 1-8
6. Gumiężny G., **Knaś M.**, Zalewska A., Przystupa A.W., Waszkiel D., Zarzycki W., Zwierz K., Tatoń J. Zwiększenie lizosomalnych egzoglikozydaz w ślinie kobiet z cukrzycą ciążową jako patogenetyczny czynnik w stomatopatii *Medycyna Metaboliczna* 2012; 2/3, XVI, s. 33-41
7. A. Zalewska, **M. Knaś**, G. Gumiężny, M. Niczyporuk, D. Waszkiel, A.W. Przystupa, W. Zarzycki. Salivary exoglycosidases in gestational diabetes. *Postępy Hig Med Dośw* 2013; 67, s. 315-320
8. Zalewska A., Kuźmiuk A., **Knaś M.**, Waszkiel D. Assessment of sIgA, IgG and IgM immunoglobulin levels in the saliva of children with type 1 diabetes *Journal of Stomatology* 2012; 65, 5; s. 667-675
9. A. Zalewska, **M. Knaś**, A. Kuźmiuk, N. Waszkiewicz, M. Niczyporuk, D. Waszkiel, K. Zwierz. Salivary innate defense system in type 1 diabetes mellitus in children with mixed and permanent dentition. *Acta Odontol Scand* 2013; 71, 6, s. 1493-1500
10. K. Karaszewska, W. Zarzycki, **M. Knaś**, K. Zwierz, D. Dudzik, J. Karaszewski. Zmiany aktywności wybranych egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie chorych na cukrzycę typu I osób palących i niepalących. *Mag Stom* 2004; 14, 9, s. 92-95
11. **M. Knaś**, K. Karaszewska, S. D. Szajda, W. Zarzycki, D. Dudzik, K. Zwierz. Saliva of patients with Type 1 diabetes: effect of smoking on activity of lysosomal exoglycosidases. *Oral Diseases* 2006; 12, s. 278-282.
12. **M. Knaś**, W. Zarzycki, J. Karaszewski, J. Janica, N. Waszkiewicz, J. Szarmach, D. Waszkiel, A. Zalewska. Ocena ultrasonograficzna ślinianek podżuchwowych u chorych z cukrzycą typu 1. *Stom Współ* 2013; 20, 6, s. 24-29
13. A. Zalewska, **M. Knaś**, M. Żendzian-Piotrowska, N. Waszkiewicz, J. Szulimowska, S. Prokopiuk, D. Waszkiel, H. Car. Antioxidant profile of salivary glands in high fat diet-induced insulin resistance rats. *Oral Diseases* 2013, doi: 10.1111/odi.12173
14. B. Prządka-Gumiężna, G. Gumiężny, **M. Knaś**, K. Karaszewska, W. Zarzycki, K. Zwierz. Rola lekarza dentysty w rozpoznawaniu cukrzycy i leczeniu jej powikłań stomatologicznych. *Magazyn Stomatologiczny* 2006; 11, s. 14-18

15. G. Gumieźny, B. Prządka-Gumieźna, **M. Knaś**, K. Karaszewska, A. Zaniewska, W. Zarzycki, K. Zwierz. Postępowanie protetyczne u chorych na cukrzycę. *Magazyn Stomatologiczny* 2007; 11, s. 60-63
16. A.K. Głębocka, W. Zarzycki, **M. Knaś**. Przydatność wczesnej, pedobarometrycznej oceny biomechaniki stóp u osób z cukrzycą typu 1 do ustalania indywidualnych zaleceń profilaktyki zespołu stopy cukrzycowej. *Med Metabol* 2013; 17, 4, s. 23-28

1.2. Zapalenie przyzębia

Stany zapalne dziąseł i przyzębia są schorzeniami aparatu utrzymującego zęby. Etiologicznie głównym czynnikiem tych chorób są bakterie płytki nazębnej i tylko mała grupa gatunków bakterii (ok. 15) jest odpowiedzialna za destrukcję tkanek jamy ustnej. Bakterie patogene dla tkanek przyzębia (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*), znajdujące się w płytce poddziąsłowej, wywołują i podtrzymują proces zapalny. W procesie destrukcji tkanek jamy ustnej znaczną rolę odgrywają egzoglikozydazy lizosomalne (m. in. N-acetylo- β -heksozoaminidaza (HEX) i beta-glukuronidaza (GLU)). Uważa się, że GLU jest markerem napływu neutrofili i uwalniania przez nie pęcherzyków pierwotnych, w których enzym jest produkowany i przechowywany w komórce. W ślinie pobranej od zdrowych pacjentów aktywność egzoglikozydaz ślinowych jest niewielka, wzrasta zaś w stanach zapalnych przyzębia. Egzoglikozydazy lizosomalne uczestniczą m. in. w procesach degradacji glikozoaminoglikanów, będących składnikami substancji pozakomórkowej tkanki łącznej jamy ustnej.

W terapii chorób przyzębia wprowadza się różne metody lecznicze: antybiotykoterapię za pomocą doxycykliny, leczenie miejscowe z użyciem aprotyniny- substancji będącej inhibitorem proteaz serynowych, zastosowanie płukanek czy ozonoterapię. Aktywność N-acetylo- β -heksozoaminidazy i jej izoenzymów oraz beta-glukuronidazy w terapii chorób przyzębia za pomocą doxycykliny nie wykazywała istotnych różnic w porównaniu do grupy kontrolnej. Leczenie z użyciem aprotyniny nie wykazało istotnych zmian pomiędzy badaniami przed i po leczeniu. Zastosowanie płukanki do jamy ustnej Dentosept^R istotnie obniżyło aktywność beta-glukuronidazy w płynie dziąsłowym.

U osób z przewlekłym zapaleniem przyzębia obserwowaliśmy istotnie wyższą aktywność specyficzną N-acetylo-beta-heksozoaminidazy w ślinie w porównaniu do grupy kontrolnej. Zastosowane ozonu w przewlekłym i agresywnym zapaleniu przyzębia powodowało istotny wzrost aktywność specyficznej ślinowej HEX w porównaniu do grupy

kontrolnej oraz wzrost aktywności specyficznej HEX i GluA w stosunku do grupy kontrolnej w obserwacjach dwutygodniowych. Opisaliśmy również, że wzrost aktywności ślinowego izoenzymu A N-acetylo-beta-heksozoaminidazy może być uznany za marker zapalenia przyzębia u osób palących nadużywających alkoholu.

1. M. Pietruska, A. Bernaczyk, **M. Knaś**, J. Pietruski, K. Zwierz. *Assessment of salivary levels of the chosen exoglycosidases in patients with aggressive periodontitis after treatment with doxycycline. Advances in Medical Sciences 2006; 51, suppl. 1, s. 158-161*
2. A. Skurska, M. Pietruska, A. Bernaczyk, **M. Knaś**, J. Pietruski, A. Paniczko, E. Dolińska, K. Zwierz, I. Prokop. *Ocena stężeń egzoglikozydaz w ślinie pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia po leczeniu aprotyniną. Ann. Acad. Med. Stetin. 2007; 53, suppl. 3, s. 137-141*
3. M. Pietruska, S. Sobaniec, A. Skurska, E. Dolińska, **M. Knaś**, P. Kurowski, J. Pietruski, M. Cechowska-Pasko. *Ocena wpływu płukanki Dentosep^R na stan kliniczny przyzębia oraz aktywność egzoglikozydaz w płynie dziąsłowym pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia. Czas Stom 2009; 62, 4, s. 254-261*
4. **Knaś M.**, Zalewska A., Skurska A., Bernaczyk A., Paniczko A., Dolińska A., Chomicz A., Pietruska M. *Assessment of influence of ozonotherapy on saliva activity of chosen exoglycosidases in patients with chronic and aggressive periodontitis. Journal of Stomatology 2012; 65, 6; 825-835*
5. N. Waszkiewicz, B. Zalewska-Szajda, S. Chojnowska, S. D. Szajda, A. Zalewska, B. Konarzewska, A. Szulc, A. Wojtulewska-Supron, A. Kępka, **M. Knaś**, J.R. Ładny, R. Milewski, K. Zwierz. *The salivary beta-HEX A% index as an excellent marker of periodontitis in smoking alcohol-dependent persons. Disease Markers 2013; 35, 5, s. 457-463*

1.3. Pacjenci zainfekowani wirusem HIV

U pacjentów zakażonych wirusem HIV obserwuje się ogólny spadek odporności organizmu. Nie znaleźliśmy publikacji dotyczących wpływu zakażenia HIV na układy enzymatyczne śliny. Celem naszych badań była ocena wpływu zakażenia HIV na metabolizm glikokoniugatów ślinowych, poprzez badanie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych śliny. Nie stwierdziliśmy statystycznie znaczącej zależności pomiędzy aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych śliny a statusem immunologicznym pacjentów zakażonych wirusem HIV. Opisaliśmy natomiast istotną korelację pomiędzy wzrostem aktywności HEX, HEX-A i beta-galaktozydazy (GAL) a zmniejszeniem liczby limfocytów CD4+. U pacjentów z HIV aktywność HEX-B była istotnie niższa, a GAL istotnie wyższa w porównaniu do aktywności tych enzymów w ślinie osób grupy referencyjnej. Zaobserwowaliśmy istotny spadek aktywności HEX-A u pacjentów HIV pozytywnych z niskim statusem immunologicznym w odniesieniu do śliny osób grupy referencyjnej. Niestety analiza porównawcza tych wyników była utrudniona, gdyż brak jest literatury opisującej wyniki

podobnych badań. Przypuszczamy, że egzoglikozydazy mogą modyfikować wiązanie wirusa z receptorem, poprzez hydrolizę cukrów z łańcucha glikoproteinowego receptora dla wirusa HIV i przez to ułatwiać i/ lub utrudniać proces infekcji.

1. D. Waszkiel, A. Zalewska, **M. Knaś**, M. Choromańska, A. Klimiuk. *Activity of lysosomal exoglycosidases in saliva of patients with HIV infection. Advances in Medical Sciences 2006; 51, suppl. 1, s. 230-232*
2. **M. Knaś**, M. Choromańska, K. Karaszewska, D. Dudzik, D. Waszkiel, M. Borzym-Kłuczyk, A. Zaniewska, K. Zwierz. *Activity of lysosomal exoglycosidases in saliva of patients with HIV infection. Advances in Medical Sciences 2007; 52, s. 186-190*

1.4. Reumatoidalne zapalenie stawów

Reumatoidalne zapalenie stawów (RSZ) nie jest chorobą ograniczającą się do stawów, ale cechuje się występowaniem objawów pozastawowych. Może przebiegać jako zapalenia mięśnia sercowego, włóknienia płuc, zapalenia naczyń, zmian w narządzie wzroku i gruczołach ślinowych (wtórny zespół Sjögrena). Upośledzona produkcja śliny może dotyczyć każdego pacjenta z RZS. Wykazaliśmy, że wśród badanych przez nas pacjentów z RZS istniała znaczna grupa pacjentów ze zmniejszonym wydzielaniem śliny. Stężenie lizozymu i peroksydazy było najwyższe a wydzielanie minutowe najniższe w grupie pacjentów z RZS ze zmniejszonym wydzielaniem śliny w porównaniu do stężenia lizozymu i peroksydazy w ślinie osób z prawidłowym wydzielaniem śliny zarówno z grupy referencyjnej jak i pacjentów z RZS. Wyniki kolejnej pracy pozwoliły nam wnioskować, że istnieje możliwość wykorzystania oznaczeń aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w diagnostyce wczesnej dysfunkcji gruczołów ślinowych w przebiegu RZS jeszcze przed pojawieniem się zmniejszonego wydzielania śliny.

1. Zalewska, **M. Knaś**, N. Waszkiewicz, D. Waszkiel, S. Sierakowski, K. Zwierz. *Rheumatoid arthritis patients with xerostomia have reduced production of key salivary constituents. Oral Sur, Oral Med, Oral Pathol, Oral Rad 2013; 115, 4, s. 483-490*
2. Zalewska, J. Szulimowska, N. Waszkiewicz, D. Waszkiel, K. Zwierz, **M. Knaś**. *Salivary exoglycosidases in the detection of early onset of salivary gland involvement in rheumatoid arthritis. Postępy Hig Med Dośw 2013; 67, s. 1-7*

1.5. Inne

Wśród całego dorobku znalazł się również artykuł dotyczący odporności niespecyficzej śliny niestymulowanej dzieci w różnym wieku. Celem tej pracy była ocena parametrów

wrodzonej odporności w ślinie niemowląt, dzieci i młodzieży. Do badania włączono 80 dzieci i młodzieży w wieku od 3 miesięcy do 18 lat, których podzielono na 4 grupy: bezzębną, z uzębieniem mlecznym, mieszanym i stałym. Oznaczyliśmy wydzielanie śliny niestymulowanej, aktywność specyficzną peroksydazy, całkowitą zawartość lizozymu i laktoferyny. Opisaliśmy, że wydzielanie śliny niestymulowanej w grupie dzieci z uzębieniem mlecznym było istotnie mniejsze w porównaniu z grupą dzieci z uzębieniem mieszanym i stałym. Aktywność specyficzną peroksydazy w ślinie niemowląt była istotnie mniejsza w porównaniu z wszystkimi pozostałymi grupami i w grupie dzieci z uzębieniem mlecznym była istotnie mniejsza w porównaniu z grupami dzieci z uzębieniem mieszanym i stałym. Istotnie większą całkowitą zawartość lizozymu obserwowano w grupach dzieci z uzębieniem mieszanym i stałym w stosunku do dzieci bezzębnych i z uzębieniem mlecznym. Całkowita zawartość laktoferyny w ślinie dzieci bezzębnych była istotnie większa w porównaniu z dziećmi z uzębieniem mlecznym. Wywnioskowaliśmy, że jakość odporności wrodzonej w ślinie dzieci zależy od wieku badanych. Obserwowane zmiany całkowitej zawartości laktoferyny i lizozymu oraz aktywności specyficznej peroksydazy w ślinie mogą wpływać na rodzaj kolonizacji bakteryjnej jamy ustnej dzieci i młodzieży.

Ważną częścią mojej działalności naukowej jest propagowanie wiedzy ogólnej, z zakresu badań, ale również z zakresu mojego wykształcenia farmaceutycznego. Efektem są prace poglądowe dotyczące niemucynowych białek śliny o wysokim stopniu homologii łańcucha polipeptydowego, antybiotykoterapii stosowanej w stomatologii, postępowania z dzieckiem, kobietą ciężarną i pacjentem z chorobą z grupy ryzyka podczas wizyty w gabinecie dentystycznym, zastosowaniu przez lekarzy stomatologów w procesie leczenia leków recepturowych czy przeciwbólowych.

1. A. Zalewska, **M. Knaś**, J. Szulimowska, N. Waszkiewicz, K. Wołosik, D. Waszkiel. *Nonspecific immune factors in the whole unstimulated saliva of human infants, children and adolescents. Dent Med Probl* 2013; 50, 3, s. 1-7
2. A. Zalewska, M.D. Pietruska, **M. Knaś**, K. Zwierz. *Niemucynowe białka śliny o wysokim stopniu homologii łańcucha polipeptydowego. Postępy Hig Med Dośw* 2001; 55, 5, s. 733-754
3. **M. Knaś**. *Antybiotykoterapia stosowana w stomatologii. Mag Stom* 2008; 7-8, s. 10-14
4. J. Kos, **M. Knaś**, K. Knaś-Karaszewska, B. Rzewuska. *Dziecko, kobieta ciężarna i choroby z grupy ryzyka podczas wizyty w gabinecie dentystycznym. Mag Stom* 2011; 21, 3, s. 44-46
5. **M. Knaś**. *Lek recepturowy wciąż obecny. W: Stomatologia. Wskazówki specjalisty, opis przypadku, ekspert radzi. Pod red. Jerzego Krupińskiego. Warszawa: Medical Tribune Polska, 2013; s. 340-343*

6. *M. Knaś. Leki przeciwbólowe w praktyce stomatologicznej. W: Stomatologia. Wskazówki specjalisty, opis przypadku, ekspert radzi. Pod red. Jerzego Krupińskiego. Warszawa: Medical Tribune Polska, 2013; s. 364-367*

2. Zmiany enzymatyczne, ilościowe i jakościowe, w przebiegu różnych jednostek chorobowych.

Innymi kierunkami moich zainteresowań naukowych jest diagnostyka biochemiczna różnych chorób człowieka. Dlatego wśród opisywanych artykułów są m.in. prace dotyczące badań nad nowymi metodami uwalniania witaminy E z glikozydowych pochodnych w przebiegu raka jelita grubego, zmian enzymatycznych w chorobach wątroby, stawu kolanowego, tarczycy, krtani czy zmian nowotworowych.

2.1. Witamina E i rak jelita grubego

Nazwą witamina E określa się grupę ośmiu rozpuszczalnych w lipidach fenoli zwanych tokoferolami i tokotrienolami. Spośród wszystkich tokoferoli najaktywniejszym jest alfa-tokoferol. Jednakże terapeutyczne stosowanie witaminy E jest ograniczone niewielką wchłanianiałością z przewodu pokarmowego. Wchłonięciu ulega około 30% całkowitej ilości tokoferolu dostarczanego w diecie. Ponadto, stosowanie zwiększonych dawek witaminy E nie powoduje proporcjonalnego wzrostu jej stężenia w tkankach. A zatem, celowym wydało się przekształcenie hydrofobowej cząsteczki tokoferolu w formę amfifilowego proleku, który można by łatwo wprowadzić do organizmu, także pozajelitowo. Połączenie cząsteczki hydrofobowego leku (witaminy E) z resztą cukrową za pomocą wiązania glikozydowego (stworzone przez naszych współpracowników z Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku), daje lek lepiej rozpuszczalny w wodzie, który możliwe, że będzie lepiej transportowany w organizmie oraz będzie dobrze przenikać przez błony komórkowe i barierę krew-mózg.

W piśmiennictwie krajowym i światowym opisano metody oznaczania ilościowego tokoferolu, ale w warunkach, które powodują niszczenie enzymów lizosomalnych. Dlatego w 2002 roku określiliśmy zawartość endogennego tokoferolu w tkankach szczura, i ustaliliśmy czas inkubacji homogenatu tkankowego z pochodnymi glikozydowymi tokoferolu, który pozwalał zmierzyć ilość uwolnionego tokoferolu nie dezaktywując enzymów lizosomalnych. W 2004 roku opisaliśmy, że galaktozydowa pochodna tokoferolu ulega rozpadowi pod

wpływem egzoglikozydaz lizosomalnych zawartych w tkankach szczura. Opisaliśmy również, że badane glikozydy tokoferolu najefektywniej ulegają hydrolizie enzymatycznej w homogenatach z tkanki jelita szczura. Według danych literaturowych szybkość nie enzymatycznej hydrolizy *O*-glikozydów rośnie ze wzrostem ilości hydroksylowych grup aksjalnych w reszcie cukrowej. Zgodnie z tym, z pośród badanych *O*-glikozydów rozkładowi najłatwiej pod wpływem enzymów jak i środowiska ulegał galaktozyd. Nieoczekiwanie 2-acetamidoglikozydy α -tokoferolu okazały się najbardziej trwałymi z pośród badanych glikozydów. Natomiast przy wydłużonym czasie hydrolizy glikozyd ten, jak i inne badane glikozydy tokoferolu, ulegał powolnej hydrolizie. Przedstawione wyniki wskazują, że badane pochodne glikozydowe tokoferolu szczególnie w tkance jelit mogą ulegać przedłużonemu w czasie rozkładowi z wydzieleniem aktywnej biologicznie cząsteczki α -tokoferolu. Opóźnione uwalnianie tokoferolu z połączeń glikozydowych może być szczególnie korzystne z uwagi na to, że glikozydowe pochodne szeregu leków są lepiej transportowane do mózgu niż pochodne nie glikozydowane. Zbadaliśmy też aktywności enzymów uwalniających tokoferol z glukozydu, acetyloglukozydu, acetyloglukozoaminidu i mannozydu α -tokoferolu w tkankach przewodu pokarmowego człowieka z rakiem jelita grubego. Stwierdziliśmy, że ilość wolnego alfa-tokoferolu i p-nitrofenolu uwalnianych z *O*-glikozydowych odpowiednich substratów jest znamienne wyższa w homogenatach tkanek raka jelita grubego w porównaniu do tkanki referencyjnej. *O*-glikozydy alfa-tokoferolu mogłyby być rozważane jako proleki w profilaktyce raka jelita grubego.

1. S. Witkowski, **M. Knaś**, P. Walejko, K. Zwierz, D. Dudzik. Badanie szybkości rozpadu glikozydów alfa-tokoferolu w homogenatach tkanek szczura. *Farmacja Polska* 2002; 58, 20, s. 977-978
2. S. Witkowski, P. Walejko, **M. Knaś**, J. Maj, D. Dudzik, J. Marciniak, A. Z. Wilczewska, K. Zwierz. The cleavage of vitamin E galactoside in the rat tissue homogenates. *Farmaco* 2004; 59, 8, s. 669-671
3. **M. Knaś**, S. D. Szajda, J. Snarska, B. Zalewska-Szajda, P. Walejko, M. Borzym-Kluczyk, K. Knaś-Karaszewska, A. Kępką, S. Chojnowska, N. Waszkiewicz, M. Zimnoch, J. Maj, A. Hryniewicka, D. Dudzik, S. Witkowski, Z. Puchalski, K. Zwierz. Colon cancer releases alpha-tocopherol from its *o*-glycosides better than normal colon tissue. *Hepato-Gastroenterology* 2009; 56, s. 339-342
4. A. Zaniwska, M. Borzym-Kluczyk, S. D. Szajda, J. Romatowski, A. Gil, **M. Knaś**, J. Dobryniewski, K. Zwierz. The activity of lysosomal exoglycosidases in serum of alcohol-dependent men supplemented with borage oil enriched with vitamin E. *Journal of Medicinal Food* 2009; 12, 4, s. 914-918
5. **M. Knaś**, P. Walejko, J. Maj, A. Hryniewicka, S. Witkowski, S. Szajda, D. Dudzik, K. Zwierz. Alpha-tocopheryl glycosides decomposition in the rat liver tissue supernatant. *Experimental & Clinical Hepatology* 2006; 2, 3, s. 51-53

6. **M. Knaś, P. Walejko, J. Maj, A. Hryniewicka, S. Witkowski, M. Borzym-Kluczyk, D. Dudzik, K. Zwierz.** *Decomposition of alpha-tocopheryl glycosides in rat tissues. Toxicol Mech Method* 2008; 18, s. 491-496

2.2 Choroby wątroby

Wynikiem współpracy z prof. Buko był cykl prac dotyczących wpływu kwasu ursodeoksycholowego (UDCA) na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w doświadczalnym modelu alkoholowego i niealkoholowego stłuszczenia wątroby oraz stresu audiowizualnego. Udowodniliśmy, że UDCA podawany w alkoholowym stłuszczeniu wątroby zmniejsza zmiany morfologiczne wątroby, zawartość trójacylogliceroli wątrobowych, obniża aktywność enzymów markerowych w surowicy krwi i normalizuje wszystkie parametry świadczące o stresie oksydacyjnym. UDCA obniża lepkość błon mikrosomalnych oraz normuje aktywność mikrosomalnego cytochromu P-450. Opublikowaliśmy również wyniki przedstawiające znamienne wzrost aktywności N-acetylo-beta-D-heksozoaminidazy i jej izoenzymów A i B oraz beta-galaktozydazy w homogenatach wątroby szczurów narażonych na stres audiowizualny. Oceniliśmy także wpływ podawanego ochronnie UDCA w dawce 25 i 100 mg UDCA/kg m.c./dobę, 60 minut przed stresem. Natomiast żadnych istotnych zmian w aktywności N-acetylo-beat-D-heksozoaminidazy i jej izoenzymów A i B oraz beta-galaktozydazy nie zaobserwowaliśmy w homogenatach nerek i surowicy krwi. Wyniki te sugerują, że wątroba jest specyficznym miejscem działania UDCA, w której poprzez stabilizację błon komórkowych chroni komórki przed lizą wywołaną stresem. W 2007 roku przedstawiliśmy wyniki pracy dotyczącej wpływu UDCA na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w doświadczalnym modelu niealkoholowego stłuszczenia wątroby (NASH). Wykazaliśmy, że leczenie eksperymentalnego NASH u szczurów za pomocą UDCA w ilości 10, 40 i 80 mg/kg m.c./dzień powoduje znamienne wzrost aktywności beta-galaktozydazy, alfa-mannozydazy i alfa-fukozydazy w homogenacie wątroby. Sugeruje to, że UDCA podnosi katabolizm łańcuchów oligosacharydowych wszystkich glikokoniugatów (glikoprotein, proteoglikanów i glikolipidów) w wątrobie w przebiegu eksperymentalnego NASH. W surowicy krwi zaobserwowaliśmy spadek aktywności wszystkich badanych egzoglikozydaz, co sugeruje spadek uwalniania egzoglikozydaz z tkanki do surowicy. Najprawdopodobniej jest to pozytywny wpływ leczenia za pomocą UDCA na metabolizm glikoprotein i glikolipidów wchodzących w skład błon wewnętrznych i zewnętrznych komórek wątroby, gdzie są zaangażowane beta-galaktozydaza,

alfa-mannozydaza i alfa-fukozydaza, na metabolizm proteoglikanów (beta-galaktozydaza) w macierzy zewnątrz komórkowej.

Natomiast badanie aktywności egzoglikozydaz w przebiegu eksperymentalnego włóknienia wątroby pozwoliło stwierdzić, że aktywności wątrobowych egzoglikozydaz lizosomalnych, głównie beta-galaktozydazy, które odpowiadają zaawansowaniu włóknienia wątroby, mogą służyć jako markery zaawansowania włóknienia wątroby i prognozowania postępu cofania się zmian w włóknieniu wątroby. Natomiast w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby i pierwotnej marskości wątroby stwierdziliśmy istotny wzrost aktywności N-acetylo-beta-D-heksozoaminidazy (HEX) i jej izoenzymów w surowicy krwi. Ten wzrost może wskazywać na wzrost przebudowy komórek wątrobowych w obu tych procesach. Dlatego oznaczanie HEX i jej izoenzymów w surowicy krwi może być przydatne w diagnostyce niektórych chorób wątroby.

Współczesne poglądy dotyczące biosyntezy i transportu kwasów żółciowych, hepatoprotekcyjnego działania kwasu ursodeoksycholowego (UDCA), zastosowania sylimaryny w chorobach wątroby, patogenezы oraz leczenia pierwotnej marskości wątroby, encefalopatii wątrobowej, niealkoholowego stłuszczenia wątroby, niedotlenienie wątroby czy zastosowania beta-heksozoaminidazy w diagnostyce chorób wątroby przedstawiliśmy w cyku prac poglądowych.

1. O. Lukivskaya, L. Zawodnik, **M. Knaś**, V. Buko. Antioxidant mechanism of hepatoprotection by ursodeoxycholic acid in experimental alcoholic steatohepatitis. *Advances in Medical Sciences* 2006; 51, s. 54-59
2. **M. Knaś**, O. Lukivskaya, K. Karaszewska, M. Borzym-Kluczyk, D. Dudzik, L. Zawodnik, Y. Tarasow, I. K. Wróblewska, K. Zwierz, V. Buko. UDCA and activity of exoglycosidases in liver, kidney and serum of stressed rats. *Experimental & Clinical Hepatology* 2007; 3, 4, s. 21-24
3. **M. Knaś**, O. Lukivskaya, K. Karaszewska, M. Borzym-Kluczyk, D. Dudzik, L. Zawodnik, Y. Tarasow, I. K. Wróblewska, K. Zwierz, V. Buko. UDCA and activity of exoglycosidases in rat liver, kidney and serum in experimental non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Experimental & Clinical Hepatology* 2007; 3, 4, s. 17-20
4. O. Lukivskaya, **M. Knaś**, D. Dudzik, M. Borzym-Kluczyk, R. Lis, V. Buko, K. Zwierz. Effects of statins on liver fibrosis reversibility and activities of lysosomal exoglycosidases. *Experimental & Clinical Hepatology* 2007; 3, 1, s. 14-17
5. E. Dutkiewicz, **M. Knaś**, A. Stypulkowska, M. Ferens-Steczowska, M. Borzym-Kluczyk, S. Szajda, K. Zwierz. Activity of N-acetyl-beta-hexosaminidase and its isoenzymes in sera of patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis. *Experimental & Clinical Hepatology* 2006; 2, 4, s. 13-17

6. **M. Knaś**, E. Dutkiewicz, M. Borzym-Kluczyk, A. Stypulkowska, K. Zwierz. *N-acetyl-beta-hexosaminidase with biochemical and morphological parameters in autoimmune liver diseases. Experimental & Clinical Hepatology* 2007; 3, 1, s. 7-13
7. **M. Knaś**, A. Stypulkowska, O. Lukivskaya, M. Borzym-Kluczyk, D. Dudzik, K. Zwierz, V. Buko. *Combined treatment and activity of exoglycosidases in rat liver in experimental nonalcoholic steatohepatitis (NASH). Exp Clin Hepatol* 2009; 5, 1, s. 27-30
8. O. Lukivskaya, **M. Knaś**, D. Dudzik, M. Borzym-Kluczyk, R. Lis, V. Buko, K. Zwierz. *Effects of statins on liver fibrosis reversibility and activities of lysosomal exoglycosidases. Exp Clin Hepatol* 2007; 3, 1, s. 14-17
9. D. Dudzik, R. Wiśniewska, **M. Knaś**, M. Borzym-Kluczyk, K. Raczkowski, S. Prokopiuk, K. Zwierz. *N-acetyl-beta-D-hexosaminidase in experimental hypoxic liver injury. Exp Clin Hepatol* 2009; 5, 1, s. 19-22
10. J. Konończuk, M. Borzym-Kluczyk, **M. Knaś**, K. Zwierz, O. Lukivskaya, V. Buko. *Wpływ terapii skojarzonej UDCA z cysteiną, kurkumina lub betainą na aktywność alfa-mannozydazy w niealkoholowym stłuszczeniu wątroby. Farm Przeg Nauk* 2010; 11, s. 34-38
11. K. Zwierz, **M. Knaś**. *Biosynteza i transport kwasów żółciowych. Medical Science Review - Hepatologia* 2002; wyd. 2, s. 5-19
12. **M. Knaś**, E. Dutkiewicz, S. D. Szajda, M. Borzym-Kluczyk, O. Lukivskaya, D. Dudzik, P. Zawadzki, K. Zwierz. *Ursodeoxycholic acid - panacea for liver diseases? Experimental & Clinical Hepatology* 2006; 2, 3, s. 12-19
13. E. Dutkiewicz, **M. Knaś**, A. Stypulkowska, S. D. Szajda, M. Borzym-Kluczyk, K. Zwierz. *Primary Biliary Cirrhosis (PBC). Experimental & Clinical Hepatology* 2006; 2, 3, s. 7-11
14. N. Waszkiewicz, S.D. Szajda, M. Waszkiewicz, **M. Knaś**, M. Borzym-Kluczyk, J. Dobryniewski, E. Dutkiewicz, P. Zwierz, K. Zwierz. *Sylimaryna w chorobach wątroby. Med Sci Rev- Hepatologia* 2006; 6, s. 92-98
15. **M. Knaś**, E. Dutkiewicz, M. Borzym-Kluczyk, K. Zwierz. *Biochemiczne podstawy encefalopatii wątrobowej. Med Sci Hepatol* 2007; 7, s. 99-103
16. E. Dutkiewicz, **M. Knaś**, M. Borzym-Kluczyk, K. Zwierz. *Klinika i leczenie encefalopatii wątrobowej. Med Sci Hepatol* 2007; 7, s. 47-50
17. S.D. Szajda, A. Kepka, N. Waszkiewicz, J. Snarska, B. Zalewska-Szajda, M. Waszkiewicz, M. Borzym-Kluczyk, A. Jankowska, J. Jakimowicz-Rudy, S. Chojnowska, D. Dudzik, J. Dobryniewski, **M. Knaś**, E. Dutkiewicz, A. Stypulkowska, K. Raczkowska, A. Zaniewska, J. Marciniak, M. Bruczko, M. Sadowski, K. Zwierz. *Beta-heksozoaminidaza w diagnostyce chorób wątroby. Med Sci Rev- Hepatol* 2008; 8, s. 36-42
18. D. Dudzik, **M. Knaś**, M. Borzym-Kluczyk, O. Lukivskaya, V. Buko, E. Dutkiewicz, K. Knaś-Karaszewska, S. Szajda, J. Jakimowicz-Rudy, S. Chojnowska, K. Niedziółko-Bagniuk, K. Zwierz. *Niealkoholowe stłuszczenie wątroby (NASH) - patogeneza, diagnostyka, leczenie. Med Sci Rev- Hepatol* 2008; 8, s. 48-58

19. D. Dudzik, **M. Knaś**, R. Wiśniewska, M. Borzym-Kluczyk, K. Raczkowski, M. Niczyporuk, A. Kępka, E. Dutkiewicz, K. Knaś-Karaszewska, S. Szajda, M. Sadowski, J. Jakimowicz-Rudy, K. Zwierz. *Niedotlenienie wątroby. Med Sci Rev- Hepatol 2008; 8, s. 44-47*

2.3. Choroby stawu kolanowego

W 2002 roku wykazaliśmy, że u pacjentów z urazem przedniego więzadła krzyżowego stawu kolanowego aktywności HEX, HEX-A i HEX-B rosną proporcjonalnie do długości czasu, jaki upłynął od urazu. Przedstawiliśmy dowody, że kolorymetryczne oznaczanie egzoglikozydaz lizosomalnych w płynie stawowym stawu kolanowego jest prostą i taną metodą do określenia jakości płynu przy urazowo uszkodzonym więzadle. Opisaliśmy również wysokie stężenie HEX w płynie stawowym u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów i artrozą w porównaniu do stężenia w surowicy, co świadczy o udziale egzoglikozydaz lizosomalnych w procesach degradacyjnych chrząstki stawowej. Przedstawiliśmy również wyniki potwierdzające, że gęstość fukozytacji determinanty antygenowej glikoprotein płynu stawowego znamienne różnicuje, zmiany w chorobach stawowych i może być wykorzystane w rozróżnieniu procesu zapalnego od początkowego stanu degradacji stawu kolanowego. Ponadto określiliśmy aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w hodowlach komórkowych synowocytów pochodzących ze stawów kolanowych pacjentów po urazie mechanicznym więzadła krzyżowego przedniego, pacjentów z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów i reumatoidalnym zapaleniem stawów. Oznaczyliśmy aktywność heksozoaminidazy i jego izoenzymu A, beta-glukuronidaza, beta-galaktozydazy, alfa-mannozydazy i alfa-fukozydazy. W grupie pacjentów z uszkodzonym więzadłem krzyżowym przednim i w grupie pacjentów z idiopatycznym młodzieńczym reumatoidalnym zapaleniem stawów oraz z zapaleniem stawów aktywność badanych egzoglikozydaz była istotnie wyższa niż w środowisku zewnątrzkomórkowym. Heksozoaminidaza była enzymem dominującym.

1. J. Popko, A. Zalewska, R. Brycka, T. Macias, **M. Knaś**, K. Zwierz. *Activity of N-acetyl-beta-hexosaminidase and its isoenzymes in joint fluid from a knee with an injured anterior cruciate ligament. Biology of Sport 2002; 19, 1, s. 43-49*
2. J. Popko, A. Zalewska, S. Sierakowski, T. Macias, **M. Knaś**, K. Zwierz, K. Średzińska. *Aktywność N-acetylo-beta-heksozoaminidazy w płynie stawowym i surowicy krwi chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów i artrozą. Przegląd Lekarski 2005; 62, 7, s. 650-652*
3. M. Ferens-Sieczkowska, B. Kossowska, R. Gancarz, D. Dudzik, **M. Knaś**, J. Popko, K. Zwierz. *Fucosylation in synovial fluid as a novel clinical marker for differentiating joint diseases - a preliminary study. Clinical and Experimental Rheumatology 2007; 25, 1, s. 92-95*

4. J. Popko, J. Marciniak, E. Ilendo, **M. Knaś**, T. Guszczyn, A. Stasiak-Barmuta, T. Moniuszko, K. Zwierz, J. Wysocka. Profile of exoglycosidases in synovial cell cultures derived from human synovial membrane. *Cell Biochem Biophys* 2008; 51, 2-3, s. 89-95
5. S. Pancewicz, J. Popko, R. Rutkowski, **M. Knaś**, S. Grygorczuk, T. Guszczyn, M. Bruczko, S.D. Szajda, J. Zajkowska, M. Kondrusik, S. Sierakowski, K. Zwierz. Activity of lysosomal exoglycosidases in serum and synovial fluid in patients with chronic Lyme and rheumatoid arthritis. *Scan J Inf Dis* 2009; 41, s. 584-589

2.4. Stany nowotworowe

Nowotwór jest to nieprawidłowy i nadmierny rozrost tkanki/tkanek organizmu, nieskoordynowany z pozostałymi tkankami. Proces zachodzi pomimo ustąpienia czynnika, który go wywołał i nie reaguje na naturalne mechanizmy regulacyjne organizmu. W procesie nowotworowym przeważa proces podziałów nad obumieraniem komórek.

U pacjentów z rakiem nerki w homogenacie tkanki, moczu i surowicy oznaczyliśmy aktywność HEX i jej izoenzymów A i B. Powyższe enzymy są wydzielane do surowicy i moczu zarówno osób zdrowych, jak i chorych. Rak nerki powoduje istotny wzrost aktywności enzymów w moczu i surowicy, dlatego najprawdopodobniej może być potencjalnym markerem raka nerki. Oznaczenie kolorymetryczne izoenzymów A i B N-acetylo-beta-D-heksozoaminidazy i poprzez izoelektroogniskowanie dają te same rezultaty, dlatego wydaje się celowe oznaczanie HEX i jej izoenzymów w surowicy i moczu prostszą i dostępniejszą metodą spektrofotometryczną. W 2007 roku, za pomocą izoelektroogniskowania, wykazaliśmy daleko idące podobieństwa w rozkładzie izoform izoenzymów A i B HEX w zdrowej i zmienionej nowotworowo tkance nerki. Sugeruje to, że oba izoenzymy wykazują podobny rodzaj glikozylacji w tkance zdrowej i chorej. Celem kolejnej pracy było porównanie aktywności HEX w surowicy i moczu palaczy oraz osób niepalących z rakiem nerki i zdrowych. Aktywność enzymu była istotnie wyższa w grupie nowotworowej, przy czym najwyższą aktywność zanotowaliśmy u osób niepalących. Wywnioskowaliśmy, że palenie papierosów może hamować, przez wpływ na aktywność HEX, katabolizm łańcuchów oligosacharydów w tkankach nowotworowych.

W kolejnych badaniach oceniliśmy zagęszczenie komórek tucznych i intensywność angiogenezy w niedrobnokomórkowych rakach płuc. Komórki tuczne wykrywano za pomocą przeciwciał skierowanych przeciwko tryptazie, a naczynia krwionośne za pomocą przeciwciał reagujących z czynnikiem VIII- von Willebranda zawartym w endotelocytach. Oceny dokonaliśmy za pomocą mikroskopu świetlnego sprzężonego z kamerą i komputerem.

Wykazano istotne statystycznie różnice w zagęszczeniu komórek tłuszczowych pomiędzy poszczególnymi typami histologicznymi niedrobnokomórkowego raka płuc, a także pomiędzy nowotworami w różnym stopniu zaawansowania klinicznego. Nie znaleziono statystycznie istotnych różnic w zagęszczeniu obiektów angiogenicznych w obrębie poszczególnych typów histologicznych badanych raków. Wykazaliśmy, że komórki tłuszczowe nie mogą być czynnikiem prognostycznym przy określaniu intensywności angiogenezy, jak i czasu przeżycia chorych z niedrobnokomórkowym rakiem płuc.

U pacjentów z gruczolakiem trzustki istotne statystycznie zmiany aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w surowicy pozwoliły na wysunięcie hipotezy, że mogą one posłużyć do rozpoznawania, różnicowania i monitorowania leczenia nowotworów złośliwych w tym gruczolaka trzustki. Podobne wnioski opublikowaliśmy w odniesieniu do raka krtani.

Celem kolejnej pracy była ocena aktywności HEX, jej izoform HEX-A i HEX-B, GLU, GAL, MAN i FUC w tkankach nowotworowych gruczołów ślinowych, w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołów ślinowych. W tkance guza gruczołu ślinowego aktywność wszystkich badanych enzymów była znacznie wyższa w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołów ślinowych. Zaobserwowaliśmy wzrost aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych (HEX, HEX-A, GLU, GAL, MAN, FUC) w surowicy krwi u pacjentów z nowotworami gruczołów ślinowych w porównaniu do surowicy krwi osób zdrowych. Wyniki te pozwoliły nam na wysunięcie wniosku, że ocena HEX w surowicy krwi i śliny pacjentów z guzem gruczołu śliny mogą być ewentualnie wykorzystywane w diagnostyce i monitorowaniu guzów ślinianek.

W kolejnym artykule postawiliśmy sobie za cel ocenę zastosowania badania aktywności nowotworowego prokoagulantu (CP) oraz stężenia hormonu tyreotropowego (TSH) w różnicowaniu zmian guzowatych tarczycy. Wyniki wykazały, że oznaczenie CP może być wykorzystane w diagnostyce różnicowej zmian guzowatych gruczołu tarczowego. Natomiast stężenia TSH, pomimo wystąpienia istotnych różnic pomiędzy grupami, zawierają się w granicach wartości prawidłowych, co wskazuje na to, że pacjenci zakwalifikowani do zabiegu byli w stanie eutyreozy.

1. M. Borzym-Kluczyk, B. Darewicz, **M. Knaś**, S. D. Szajda, M. Sulik, E. Olszewska, K. Zwierz. The activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase and its isoenzymes in the renal tissue, serum and urine of patients with renal cancer. *Współczesna Onkologia* 2005; 9, 7, s. 287-290
2. M. Borzym-Kluczyk, E. Olszewska, S. D. Szajda, **M. Knaś**, B. Darewicz, K. Zwierz. Aktywność izoenzymów A i B N-acetylo-beta-heksozaminidazy w tkance raka nerki. *Współczesna Onkologia* 2006; 10, 10, 77, s. 502-505

3. M. Borzym-Kluczyk, I. Radziejewska, E. Olszewska, S. Szajda, **M. Knaś**, K. Zwierz. Statistical evaluation of the isoform patterns of N-acetyl-beta-hexosaminidase from human renal cancer tissue separated by isoelectrofocusing. *Clinical Biochemistry* 2007; 40, s. 403-406
4. M. Borzym-Kluczyk, I. Radziejewska, A. Zaniewska, A. Borzym-Lewszuk, S. Dariusz Szajda, **M. Knaś**, K. Zwierz, B. Darewicz. Effect of smoking on activity of N-acetyl-beta-hexosaminidase in serum and urine of renal cancer patients. *Clin Biochem* 2009; 42, s. 1565-1567
5. M. Niczyporuk, A. Hermanowicz, E. a Matuszczak, R. Dziadziuszko, **M. Knaś**, A. Zalewska, L. Chyczewski. A lack of correlation between mast cells, angiogenesis, and outcome in non-small cell lung cancer. *Experimental Lung Research* 2012; 38, 6, s. 281-285
6. S. D. Szajda, J. Snarska, F. Kamiński, K. Siedlecka, N. Waszkiewicz, **M. Knaś**, K. Zwierz. Aktywność N-acetylo-beta-D-heksozoaminidazy w surowicy krwi i moczu chorych na raka trzustki. *Współczesna Onkologia* 2006; 10, 3, 70, s. 92-95
7. E. Olszewska, M. Borzym-Kluczyk, I. Rzewnicki, J. Rutkowska, **M. Knaś**, M. Rogowski, E. Waniewska, R. Wielgosz. Hexosaminidase as a new potential marker for larynx cancer. *Clin Biochem* 2009; 42, s. 1187-1189
8. M. Bierć, L. Minarowski, L. Woźniak, S. Chojnowska, **M. Knaś**, S. Szajda, K. Zwierz. The activity of selected glycosidases in salivary gland tumors. *Folia Histochemt Cytobiol* 2010; 48, 3, s. 471-474
9. J. Snarska, S.D. Szajda, **M. Knaś**, B. Mroczo, M. Borzym-Kluczyk, F. Kamiński, P. Zwierz, K. Zwierz. Zastosowanie badania aktywności nowotworowego prokoagulantu oraz stężenia hormonu tyreotropowego w różnicowaniu zmian guzowatych tarczycy. *Wiadomości Lekarskie* 2006; 59. 5-6, s. 332-335

2.5. Choroby laryngologiczne

Celem kolejnej pracy z zakresu chorób laryngologicznych była ocena procesów katabolicznych glikoprotein, glikolipidów i proteoglikanów w perlaku i surowicy pacjentów z perlakiem, określając stężenie N-acetylo- β -heksozoaminidazy (HEX), β -glukuronidazy (GLUC) i β -galaktozydazy (GAL) w porównaniu do zdrowych ochotników. Średnie stężenie aktywności HEX, GAL i GLUC w tkance perlaka było istotnie wyższe w porównaniu ze stężeniem aktywności enzymu w tkance prawidłowej. W surowicy pacjentów z perlakiem średnie stężenie aktywności enzymów było znacząco wyższe w porównaniu z ich stężeniem w surowicy w grupie kontrolnej. W perlaku w porównaniu z normalną tkanką odnotowaliśmy zwiększenie katabolizmu glikokoniugatów ze względu na znacznie wyższe stężenie HEX, GAL i GLUC. Perlak powoduje reakcję ogólnoustrojową ze względu na wzrost HEX, GAL i aktywności GLUC w surowicy pacjenta.

Bardzo ciekawym tematem wydały nam się badania nad aktywnością enzymatyczną w polipach nosa. Polipy nosa są to gładkie wyrostki o kształcie winogron, pochodzące z błony

śluzowej. Do tej pory operacyjne usunięcie jest najlepszą metodą ich leczenia, ale ani etiologia, ani patogenezę ich powstawania nie są jeszcze w pełni poznane. Za cel naszej pracy obraliśmy ocenę wybranych aktywności egzoglikozydaz lizosomalnym w polipach nosa. Opisałiśmy, iż w tkance polipów nosa nie stwierdziliśmy różnic aktywności GAL, MAN i FUC w porównaniu do śluzówki kontrolnej.

Nasze badania nad aktywnością N-acetylo- β -heksozaminidazy (HEX) w migdałkach podniebiennych z przewlekłym zapaleniem migdałków i z przerostem migdałków wskazują na istotny jej wzrost. Na podstawie uzyskanych wyników sugerowaliśmy, że migdałki z przerostem i przewlekłym zapaleniem należy traktować jako identyczne jednostki bez względu na wiek chorego.

1. E. Olszewska, J. Jakimowicz-Rudy, **M. Knaś**, M. Chilimoniuk, J.K. Pietruski, A. Sieškiewicz. *Cholesteatoma-associated pathogenicity: potential role of lysosomal exoglycosidases. Otolology and Neurotology* 2012; 33, 4, s. 596-603
2. S. Chojnowska, A. Minarowska, **M. Knaś**, A. Niemcunowicz-Janica, P. Kołodziejczyk, B. Zalewska-Szajda, A. Kępka, E. Minarowski, N. Waszkiewicz, K. Zwierz, J.R. Ladny, S.D. Szajda. *Lysosomal exoglycosidases in nasal polyps. Otolaryngologia Polska* 2013; 67, 4, s. 192-197
3. M. Zagór, A. Minarowska, **M. Knaś**, K. Krajewska, A. Niemcunowicz-Janica, J. Marciniak, M. Bierć, A. Zaniewska, E. Minarowski, A. Jackowska, T. Jackowski, K. Zwierz, S.D. Szajda. *N-acetyl-beta-hexosaminidase in chronic tonsillitis and tonsillar hypertrophy. Otolaryngologia Polska* 2013; 67, 4, s. 204-208

2.6. Inne

Wśród całego dorobku znalazły się również pojedyncze artykuły dotyczące innych jednostek chorobowych.

W latach 2005-2006 opublikowaliśmy prace, których celem było sprawdzenie przydatności oznaczania HEX w treści dwunastniczej, surowicy i moczu pacjentów z *Giardia lamblia*. Obecność *Giardia intestinalis* stwierdziliśmy w osadzie z treści dwunastniczej pobranej przez zgłębnik. Oznaczyliśmy aktywność N-acetylo- β -D-glukozoaminidazy i stężenie białka całkowitego. Aktywność HEX w treści dwunastniczej chorych na giardiazę była istotnie większa niż aktywność HEX w treści dwunastniczej ludzi zdrowych. Oznaczanie HEX w treści dwunastniczej i surowicy może być przydatne w nieinwazyjnym monitorowaniu giardiazę. Natomiast aktywność HEX w moczu chorych na giardiazę była istotnie większa niż aktywność HEX w moczu ludzi zdrowych. Można więc stwierdzić, że

oznaczanie HEX w treści dwunastniczej, surowicy i moczu może być przydatne w nieinwazyjnym monitorowaniu giardiozy ze względu na prostotę metody.

Mleko ludzkie zawiera wolne i związane oligo- i heteropolisacharydy, które chronią noworodki przed patogenami i mają wartość odżywczą. N-acetylo-beta-D-heksozaminidazy (HEX), najbardziej aktywna lizosomalna egzoglikozydaza, może modyfikować i degradować oligo- i heteropolisacharydy. Celem naszej pracy w 2008 roku było określenie aktywności izoenzymów HEX i jej izoform A i B w procesie laktacji. Aktywność HEX i jej izoenzymów istotnie koreluje z postępem laktacji. Na początku laktacji dominuje HEX, który uwalnia heksozaminy z kwaśnych oligosacharydów, później HEX-B, który uwalnia heksozaminy od obojętnych oligosacharydów.

Oceniliśmy również aktywność mannozydazy i galaktozydazy w surowicy osób leczonych z powodu nadużywania alkoholu. Wzrost aktywności obydwu enzymów odnotowaliśmy w surowicy już w 5 dobie po epizodzie alkoholowym, co może świadczyć o poalkoholowych dysfunkcjach wątroby.

Fenotyp starzejącej się komórki zawiera informacje o ograniczeniu wzrostu, zwiększeniu wymiarów komórki i wzroście aktywności lizosomów. Jedną z grup enzymów lizosomalnych są egzoglikozydazy lizosomalne. W swojej pracy zbadaliśmy zachowanie się egzoglikozydaz lizosomalnych w hodowli komórkowej starzejącej się fizjologicznie i poddanej stresowi oksydacyjnemu. Badanie nasze wykazało, że aktywność egzoglikozydaz wzrasta wraz ze starzeniem się hodowli komórkowej, jak również że stres oksydacyjny jest czynnikiem wzmacniającym starzenie się komórek. Wzrost aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych może być jedną z możliwych przyczyn zniszczenia komórek, a tym samym dysfunkcji organów w procesie starzenia.

1. A. Gabrylewska, **M. Knaś**, D. Dudzik, K. Zwierz. Aktywność N-acetylo-beta-D-heksozaminidazy i jej izoenzymów w moczu chorych z giardiozą. *Diagnostyka Laboratoryjna* 2005; 41, s. 1-6
2. A. Gabrylewska, **M. Knaś**, D. Dudzik, K. Zwierz. Aktywność N-acetylo-beta-D-heksozaminidazy i jej izoenzymów w treści dwunastniczej i surowicy krwi chorych z giardiozą. *Diagnostyka Laboratoryjna* 2006; 42, s. 85-101
3. D. Dudzik, **M. Knaś**, M. Gocał, M. Borzym-Kluczyk, S.D. Szajda, K. Knaś-Karaszevska, J. Tomaszewski, K. Zwierz. Activity of N-acetyl-beta-D-hexosaminidase (HEX) and its isoenzymes A and B in human milk during the first 3 months of breastfeeding. *Advances in Medical Sciences* 2008; 53, 2, s. 300-304
4. N. Waszkiewicz, B. Zalewska-Szajda, A. Zalewska, M. Waszkiewicz, B. Repka, **M. Knaś**, B. Konarzewska, A. Szulc, K. Zwierz, J.R. Ladny, K. Mierzyńska, S.D. Szajda. Serum and urinary alpha-mannosidase in acute alcohol intoxication. *Experimental & Clinical Hepatology* 2013; 9, s. 5-8

5. N. Waszkiewicz, B. Zalewska-Szajda, A. Zalewska, **M. Knaś**, A. Buras, B. Konarzewska, A. Szulc, K. Zwierz, J.R. Ladny, S.D. Szajda. Binge drinking episode increases activity of a senescence marker beta-galactosidase in serum. *Experimental & Clinical Hepatology* 2013; 9, s. 9-12
6. **Knaś M.**, Zalewska A., Krętowski R., Niczyporuk M., Waszkiewicz N., Cechowska-Pasko M., Waszkiel D., Zwierz K. The profile of lysosomal exoglycosidases in replicative and stress induced- senescence in early passage human fibroblasts. *Folia Histochemica Cytobiologica* 2012, 50, 2, 220-227

3. Kosmetologia

Kosmetologia jest dziedziną nauki bardzo blisko powiązaną z medycyną. Prawdziwym kosmetologiem, w pełnym tego słowa znaczeniu, będzie absolwent studiów kosmetycznych, których zajęcia dydaktyczne będą odbywać się na uczelniach medycznych posiadających możliwość przedstawienia wszystkich aspektów dotyczących zdrowia skóry. Nauczanie kosmetologii to nauczanie podstawowych i klinicznych nauk medycznych. W czasie pełnienia przeze mnie obowiązków kierownika Samodzielnej Pracowni Kosmetologii UMB powstał cykl prac poglądowych i jedna kazuistyczna poruszających tematykę kosmetyczną. Zebraliśmy z dostępnych źródeł informacje co wiadomo o wykorzystaniu w kosmetologii wąkroty azjatyckiej (*Centella asiatica*) i skwalenu pozyskiwanego z szarłatu. Pierwsza publikacja jest przeglądem piśmiennictwa dotyczącym wąkroty azjatyckiej. Przystawiliśmy skład chemiczny surowca oraz jego działanie farmakologiczne. Szczególną uwagę zwróciliśmy na ten surowiec roślinny w kontekście jego zastosowań w kosmetologii (procesy starzenia, procesy gojenia, głębokich uszkodzeń skóry, niektórych chorobach dermatologicznych, zmianach nowotworowych), a także w odniesieniu do narządu ruchu, układu nerwowego, krwionośnego i pokarmowego. Dwa kolejne artykuły dotyczyły skwalenu pozyskiwanego z szarłatu. Skwaleń jest jednym z głównych składników w diecie bardzo ważnym dla zdrowia i urody. Liczne badania potwierdzają jego użyteczność żywieniową i prozdrowotną. Walory żywieniowe szarłatu (*Amaranthus sp.*) znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym i spożywczym. Znane jest jego dobroczynne działanie ogólnoustrojowe będące wynikiem suplementacji diety, ale konieczne są dalsze badania mające na celu weryfikację jego użyteczności w preparatach przeznaczonych do stosowania na skórę. Transport transepidermalny odgrywa istotną rolę w przenoszeniu substancji biologicznie czynnych w głąb poszczególnych warstw skóry. Wyniki badań i doniesień z zakresu aktywności biologicznej skwalenu i wykorzystywania jako źródła np. nasion amarantusa, są obiecujące i być może zapoczątkują dalsze badania kliniczne nad szerszym zastosowaniem skwalenu w kosmetyce.

Ponadto przedstawiliśmy zasady jakimi powinni kierować się lekarze aby odpowiednio zaprezentować swój wizerunek zewnętrzny jako wyraz smaku i rzetelności. Istnieją dwa podstawowe kryteria oceny wyglądu zewnętrznego. Pierwsze dotyczy dostosowania makijażu i ubioru do okoliczności i konkretnej sytuacji, drugie poziomu higieny osobistej. Kwestia stosowności ubioru związana jest ze stopniem znajomości obyczajów panujących w danym kręgu zawodowym.

W 2013 roku opublikowaliśmy również pracę będącą opisem przypadku skuteczność terapii skojarzonej w redukcji blizn potrądzikowych. Udowodniliśmy, że mikrodermabrazja diamentowa, jak i eksfoliacja kwasami AHA i BHA są skutecznymi zabiegami stosowanymi w zwalczaniu blizn potrądzikowych. Dobór odpowiedniej terapii powinien być uzależniony od indywidualnych cech osobniczych pacjenta. Zastosowanie samej mikrodermabrazji diamentowej nie przynosi wymiernych rezultatów, jeżeli blizny są przeroste i wieloletnie. W takiej sytuacji warto jest rozważyć zastosowanie terapii skojarzonej wraz z kwasami owocowymi.

Powstały również dwa artykuły badawcze oparte na autorskich ankietach oceniających wiedzę studentów kosmetologii i farmacji UMB na temat ekspozycji organizmu człowieka na promieniowanie ultrafioletowe. 89% studentów z obydwu kierunków posiada wiedzę, że opalenizna jest naturalną fizjologicznie reakcją skóry w wyniku jej ekspozycji na promienie UV. 96% przyszłych kosmetologów i 100% przyszłych farmaceutów wie, iż synteza witaminy D jest korzystnym działaniem promieni UV. Wykazaliśmy istotną statystycznie różnicę pomiędzy wiedzą studentów kosmetologii (36%) i studentów farmacji (9%) na temat korzystnego wpływu ekspozycji na promienie UV w przebiegu anemii. 98% studentów obu kierunków umiało wyjaśnić pojęcie fototypu skóry. Badanie wykazało istotne różnice w zachowaniach i przekonaniach dotyczących opalania pomiędzy dwoma grupami. Wiedza studentów Kosmetologii i Farmacji na temat wpływu promieniowania UV jest zbliżona, jednakże zauważa się zmiany zachowania i przekonań dotyczących opalania wśród studentów Kosmetologii po wykładach z dermatologii czy kosmetologii. Studenci Kosmetologii i Farmacji mogą być pierwszymi, którzy będą wpływać na zachowania, przekonania i wybór ochrony przed promieniowaniem UV wśród swoich pacjentów, a tym samym zmniejszać ryzyko wystąpienia jego negatywnych skutków. Skłania to do wprowadzania nowych programów edukacyjnych wśród studentów studiów medycznych w tej kwestii.

Kiedy w 2011 roku po raz pierwszy rozpoczęliśmy w Samodzielnej Pracowni Kosmetologii UMB nauczanie z przedmiotu „Fitokosmetologia” okazało się, iż studenci nie mają dobrego źródła zdobywania wiedzy z tego zakresu. W związku z tym, widząc dużą

potrzebę zapełnienia tej luki na rynku wydawniczym, w 2012 roku stworzyliśmy podręcznik zawierający wykłady z fitokosmetologii, fitokosmetyki i kosmetologii naturalnej. Zawiera on informacje dotyczące zastosowania naturalnych wyciągów roślinnych zwiększających skuteczność formuły w produktach pielęgnacyjnych. Wyjątkowy charakter publikacji zapewniony został poprzez połączenie wiedzy o produktach z opisem ich prawidłowego zastosowania. Dzięki temu publikacja jest bardzo pomocna zarówno studentom w nauce, jak i asystentom w nauczaniu. Ponadto tytuł kierowany jest do dermatologów, kosmetologów oraz osób, których praca powiązana jest z branżą kosmetyczną. W pierwszym numerze Biuletynu Informacyjnego Okręgowej Izby Aptekarskiej w Krakowie z 2013 roku nasz podręcznik został wymieniony jako pierwszy w dziale „Nowości wydawnicze”. Uzyskaliśmy również bardzo pozytywną recenzję naszej książki od kierownika Zakładu Farmakognozji UMB. Ponieważ praca łączy się ściśle z tą dziedziną nauki, dlatego bardzo pozytywna wypowiedź dr Michała Tomczyka była dla nas ogromnym wyróżnieniem. W 2013 roku nastąpił dodruk naszej książki i jest ona obecnie dostępna w wielu księgarniach internetowych o zasięgu ogólnopolskim. Otrzymaliśmy za tę pracę Nagrodę dydaktyczną III stopnia Jego Magnificencji Rektora UMB.

Ostatnim artykułem jaki powstał w czasie mojej pracy na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku była praca oryginalna dotycząca remodelingu niezranionej skóry szczurów w zwierzęcym modelu cukrzycy typu 1 i 2. Cukrzyce typu 1 i 2, są chorobami przewlekłymi, które powodują poważne powikłania zdrowotne, w tym stany dermatologiczne. Skórę cukrzycową charakteryzuje występowanie zaburzeń metabolizmu kolagenu. Za przebudowę tkanki odpowiedzialne są metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej, których aktywność jest regulowana np. przez ich tkankowe inhibitory. Równowaga pomiędzy metaloproteinazami macierzy (MMP) i inhibitorami tkankowymi metaloproteinaz macierzy (TIMP) jest niezbędna w celu utrzymania homeostazy w skórze. Celem badania było więc określenie stężenia MMP-2, tkankowego inhibitora metaloproteinaz 3 i stężenia kolagenu typu I w niezranionej skórze szczurów z cukrzycą typu 1 i 2 w porównaniu do zdrowej kontroli. Opisaliśmy, że na przykład leczenie cukrzycy spowodowało znaczący spadek stężenia MMP2, zwiększenie stężenia TIMP3 i Koll1 w skórze w porównaniu z poziomem tych czynników w skórze zwierząt z nieleczoną cukrzycą. Stwierdziliśmy również za pomocą obrazów histopatologicznych, że zaburzenia w składzie macierzy pozakomórkowej skóry są podobne w cukrzycy typu 1 i 2, zaś zastosowanie insuliny w leczeniu cukrzycy korzystnie wpływa na homeostazę skóry.

1. **M. Knaś**, K. Hlebowicz, J. Panek. *Centella asiatica - co o niej wiemy?* *Szkice Humanistyczne* 2010; 10, 4, s.195-202
2. K. Wołosik, **M. Knaś**, A. Zalewska, M. Niczyporuk, A.W. Przystupa. *Skwaleń szarlatu - zalety wykorzystania w zachowaniu zdrowia.* *Szkice Humanistyczne* 2012; 12, 3, s. 49-56
3. K. Wołosik, **M. Knaś**, A. Zalewska, M. Niczyporuk, A.W. Przystupa. *The importance and perspective of plant-based squalene in cosmetology.* *Journal of Cosmetic Science* 2013; 64, 1, s. 59 – 65
4. **M. Knaś**, K. Wołosik, M. Wacewicz. *Wizerunek lekarza jako wyraz smaku i rzetelności - tajniki makijażu i stylizacji postaci.* *Stomatologia Współczesna* 2012; 19, 4, s. 52-55
5. K. Wołosik, **M. Knaś**, M. Wacewicz, P. Dmuchowska. *Skuteczność terapii skojarzonej w redukcji blizn potrądzikowych - opis przypadków.* *The effectiveness of combination therapy in acne scar reduction - case reports.* *Przegląd Dermatologiczny* 2013; 100, 2, s. 102-109
6. K. Wołosik, **M. Knaś**, M. Wacewicz, M.K. Maciejczyk, A. Pietrzykowska. *Evaluation of the Cosmetology and Pharmacy students' knowledge on ultraviolet exposure on human organism.* *Dermatologia Kliniczna* 2012; 14, 3, s. 117-121
7. M. Niczyporuk, **M. Knaś**, D. Pawłowska. *Ocena znanij studentov oddeleniã zdrov'ã naseleniã Medicinskogo Universiteta g, Belostoka, Kasausihsã efektov vozdejstviã ul'trafiolietovogo izlučenia na organizm.* *Ars Medica* 2011; 15, 51, s. 279
8. K. Wołosik, **M. Knaś**, M. Niczyporuk. *Fitokosmetologia. Wykłady z fitokosmetologii, fitokosmetyki i kosmetyki naturalnej.* Wrocław : MedPharm Polska, 2012, 56 s.
9. **M. Knaś**, M. Niczyporuk, A. Zalewska, H. Car. *The unwounded skin remodeling in animal models of diabetes types 1 and 2.* *Physiological Research* 2013; 62, 5, s. 519-526

Knaś Małgorzata