

# **Autoreferat dr n.med. Marioli Świderek-Matysiak**

---

**Katedra i Klinika Neurologii Uniwersytet Medyczny w Łodzi**

**2014-12-18**

## I. Autoreferat

### 1. Imię i Nazwisko.

**Dr n.med. Mariola Świderek-Matysiak**

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

**1991-1997** Akademia Medyczna w Łodzi, Wydział Lekarski ukończony z wyróżnieniem – ocena bardzo dobra – **lekarz medycyny**

**1994-1997** Indywidualny Tok Studiów w Klinice Neurologii AM w Łodzi

- w roku akademickim 1996/97 Stypendium Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej za wyniki w nauce

**1998-2002** Studia Doktoranckie w Klinice Neurologii UM w Łodzi pod kierunkiem Prof. dr hab.n.med. Krzysztofa Selmaja ukończone uzyskaniem tytułu

**doktora nauk medycznych** (3.12.2002) –

wyróżniona rozprawa doktorska pt.: ”Wpływ *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) na ludzkie komórki glejowe”. **Rozprawa doktorska wyróżniona Nagrodą Prezesa Rady Ministrów.**

**2004** specjalizacja I stopnia w zakresie neurologii

**2010** specjalizacja II stopnia w zakresie neurologii

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

1998-2002 Studia Doktoranckie w Katedrze i Klinice Neurologii UM w Łodzi pod kierunkiem Prof. dr hab.n.med. Krzysztofa Selmaja

2002-2010 asystent w Klinice Neurologii USK nr.1 im. N. Barlickiego w Łodzi

2010-obecnie starszy asystent w Klinice Neurologii USK nr.1 im. N. Barlickiego w Łodzi

2006-2011 asystent w Katedrze i Klinice Neurologii UM w Łodzi

2011-obecnie adiunkt w Katedrze i Klinice Neurologii UM w Łodzi

**4. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym**

**a. tytuł osiągnięcia naukowego**

Jednotematyczny cykl trzech publikacji pod tytułem:

**Immunoregulacyjna rola komórek macierzystych szpiku kostnego w terapii autoimmunologicznego zapalenia mózgu i rdzenia myszy, modelu zwierzęcego stwardnienia rozsianego.**

opublikowany w czasopismach indeksowanych, **łącznie IF osiągnięcia 11,638; KBN/MNiSW 85 liczba cytowań 51**

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

- 1. Matysiak M, Stasiołek M, Orłowski W, Jurewicz A, Janczar Sz, Raine CS, Selmaj K.**

Stem cells ameliorate EAE via an indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) mechanism.

*J Neuroimmunology*, 2008, Jan;193(1-2):12-23

**IF 3,159 KBN/MNiSW 20 liczba cytowań 24**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu metody hodowli komórek macierzystych szpiku kostnego dorosłych myszy, zaprojektowaniu doświadczeń oraz sprawowaniu nadzoru nad ich wykonaniem, udział w wykonaniu doświadczeń polegających na: przeszczepie komórek macierzystych do myszy i ich ocenie klinicznej (ryc.1A;3;6D), hodowli komórkowej, ocenie proliferacji komórek układu immunologicznego (ryc.2), ocenie obecności komórek macierzystych w układzie nerwowym myszy metodą immunofluorescencji (ryc.4), ocena ekspresji IDO metodą Western blot (ryc. 3), interpretacja wyników badań, napisanie części manuskryptu oraz przeprowadzenie procedury publikacji artykułu.*

- 2. Matysiak M, Orłowski W, Fortak-Michalska M, Jurewicz A, Selmaj K.**

Immunoregulatory function of bone marrow mesenchymal stem cells in EAE depends on their differentiation state and secretion of PGE2.

*J Neuroimmunology*, 2011 233:106-111

**IF 2,959 KBN/MNiSW 25 liczba cytowań 20**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu metody neuronalnego różnicowania i hodowli komórek macierzystych szpiku kostnego dorosłych myszy, zaplanowaniu doświadczeń oraz sprawowaniu nadzoru nad ich wykonaniem, udziale w wykonaniu doświadczeń polegających na: przeszczepie komórek macierzystych do myszy i ich ocenie klinicznej (ryc.1A;5B), ocena ekspresji 04, NeuN, GFAP metodą Western blot i immunohistochemii (ryc.1B,C), praca przy ocenie proliferacji komórek układu immunologicznego, również metodą trans wells (ryc.2;3), praca przy ocenie produkcji PGE2 i innych cytokin metodą ELISA (ryc. 4,5A), ocena ekspresji IDO metodą Western blot (ryc.6), interpretacji wyników badań, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin oraz przeprowadzeniu procedury publikacji artykułu.*

3. **Matysiak M**, Fortak-Michalska M, Szymanska B, Orlowski W, Jurewicz A, Selmaj K. MicroRNA-146a negatively regulates the immunoregulatory activity of bone marrow stem cells by targeting prostaglandin E2 synthase-2.

*J Immunology*, 2013 15;190(10):5102-9

**IF 5,52 KBN/MNiSW 40 liczba cytowań 7**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu doświadczeń oraz sprawowaniu nadzoru nad ich wykonaniem, wykonaniu doświadczeń polegających na: izolacji microRNA z komórek macierzystych myszy i interpretacja wyników z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych (ryc.1, 4A), opracowanie metody zastosowania konstruktów antagomir, wykonanie doświadczeń z ich użyciem (ryc. 2A,3, 4B) przeszczepie komórek macierzystych do myszy i ich ocenie klinicznej (ryc.2C), ocena wpływu manipulacji mir-146a na ekspresję PGE2 i funkcje układu immunologicznego (ryc.5;6;7), interpretacji wyników badań, napisaniu manuskryptu, przygotowaniu rycin oraz przeprowadzeniu procedury publikacji artykułu.*

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

## **1. Wstęp.**

Mezenchymalne komórki macierzyste (*mesenchymal stem cells* - MSC) zostały odkryte w 1968 r przez Friedensteina jako populacja podobnych do fibroblastów, przylegających do plastiku komórek szpiku kostnego, posiadających zdolność różnicowania się do osteocytów, chondrocytów, a także komórek układu nerwowego. Zdolność do ekspansji w hodowlach *in vitro* czyni je atrakcyjnym źródłem komórek o potencjale regeneracyjnym. Jednak MSC, poza zdolnością różnicowania się w inne komórki i tkanki, mają również właściwości immunoregulacyjne.

Stwardnienie rozsiane (*multiple sclerosis* – MS) jest chorobą ośrodkowego układu nerwowego (OUN) o charakterze autoimmunologicznej zapalnej demielinizacji z coraz szerzej podkreślaną komponentą neurodegeneracyjną, związaną z utratą aksonów. Choroba dotyczy ludzi młodych i jest częstą przyczyną niepełnosprawności. Dotychczas dostępne i zaaprobowane terapie SM, przede wszystkim celują w proces zapalnej autoagresji. Neurodegeneracja w SM jest ciągle niezagospodarowaną niszą terapeutyczną. Mezenchymalne komórki macierzyste wydają się być idealnym kandydatem, który może zaoferować zarówno potencjał immunomodulujący, jak i regeneracyjny/troficzny.

Jednak zastosowanie MSC w terapii SM wymagało wielu badań przeprowadzonych na modelu zwierzęcym, które potwierdziłyby ich skuteczność, bezpieczeństwo i spróbowały opisać mechanizmy ich działania. Prace składające się na w/w osiągnięcie są „naukowymi cegiełkami”, które przyczyniły się do poszerzenia wiedzy o komórkach macierzystych.

## **2. Model eksperymentalny.**

Pracę nad możliwością zastosowania terapeutycznego mezenchymalnych komórek macierzystych w autoimmunologicznej demielinizacji rozpoczęłam w 2004r jako wykonawca projektu pt.: „*Stem cells role in tissue repair in multiple sclerosis*” w ramach platformy *Polish Stem Cells Excellence Network* (STEC). W trakcie realizacji tego projektu wraz z zespołem Pracowni Neuroimmunologii Katedry Neurologii UM w Łodzi opracowałam metodę uzyskania populacji komórek macierzystych o charakterystyce mezenchymalnych ze szpiku kostnego dorosłej myszy (*Bone Marrow Stem Cells – BMSC*). Komórki macierzyste były frakcjonowane z zastosowaniem metody dwuetapowego sortowania magnetycznego przy użyciu koktajlu monoklonalnych przeciwciał, specyficznych dla antygenów z grupy „*lineage*” (Lin), prezentowanych wyłącznie przez linię hematopoetycznych komórek i ich progenitorów. W kolejnym etapie populacja pozbawiona markerów *lineage* (Lin<sup>-</sup>) była wzbogacana w komórki pluripotencjalne charakteryzujące się obecnością markera komórek macierzystych Sca-1 (*stem cell antygen 1*). Taka populacja komórek macierzystych (Lin<sup>-</sup> Sca1<sup>+</sup>) izolowanych ze szpiku dorosłych myszy była wykorzystywana w moich eksperymentach w doświadczalnym zapaleniu mózgu i rdzenia u myszy (*Experimental Autoimmune Encephalomyelitis – EAE*), modelu zwierzęcym stwardnienia rozsianego. Zgodnie z charakterystyką mezenchymalnych komórek macierzystych populacja ta była pozbawiona markerów hematopoetycznych CD34, CD11b, and CD45. Metodą mikromacierzy (Affymetrix GeneChip) populacja została scharakteryzowana, zanotowano ekspresję genów będących markerami MSC: *cd44, alcam, casp3, eng, itgav, pdgfrb, prom1, vcam1, thyl, anxa5, bglap, ctnnb1, gtf3a, hgf, icam1, itgb1, nudt6, pigs, ptprc, tnf, vegfa, vim, vwf* (GSE 43621).

Procedura terapeutycznego zastosowania BMSC obejmowała podanie myszom chorującym na EAE do żyły ogonowej 1 mln komórek na szczycie choroby. W długoterminowej obserwacji, przeszczep komórek macierzystych o potencjale mezenchymalnym, istotnie statystycznie pozytywnie wpływał na przebieg choroby, w porównaniu do myszy, które otrzymywały placebo (p=0.00095).

### **3. Mechanizm immunoregulacyjny BMSC w zwierzęcym modelu stwardnienia rozsianego.**

### **3.1. Immunoregulacyjna rola BMSC poprzez indukcję ekspresjiIDO w komórkach dendrytycznych myszy**

Podanie dożylnie BMSC znakowanych PKH 26 (czerwony barwnik fluorescencyjny), umożliwiło śledzenie dystrybucji komórek w tkankach. Metodą FACS ocenialiśmy fluorescencję związaną z obecnością komórek BMSC-PKH 26 w półkulach mózgu, mózdzku, rdzeniu kręgowym oraz śledzionie, szpiku i wątrobie myszy po przeszczepie komórek macierzystych. Praca opublikowana w *Journal of Neuroimmunology* w 2008 roku pt.: **“Stem cells ameliorate EAE via an indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) mechanism”** była jedną z pierwszych prac wskazujących na fakt, iż komórki macierzyste po dożylnym przeszczepie do myszy EAE przede wszystkim lokalizują się w wątrobie, śledzionie i szpiku, w śladowych ilościach trafiają do centralnego układu nerwowego (CUN), gdzie przede wszystkim obserwowano je w rdzeniu kręgowym. Pozytywny efekt kliniczny przeszczepu dożylnego MSC oraz ich śladowa obecność w CUN myszy EAE wskazywały na obwodowy efekt terapeutyczny o charakterze immunoregulacji. Po przeprowadzeniu szeregu doświadczeń dowiodłam, że efekt immunosupresyjny przeszczepu MSC związany był ze zwiększoną ekspresją indolamino-2,3-dioxygenazy (IDO) w komórkach dendrytycznych myszy. IDO jest enzymem zaangażowanym w proces metabolizmu tryptofanu do kinureniny, zwiększona obecność katabolitów tryptofanu działa immunosupresyjnie na limfocyty T. Podawanie myszom chorującym na EAE inhibitora IDO – 1-metylo-DL-tryptofanu (1-MT-tryptofan) w znacznym stopniu niwelowało pozytywny wpływ przeszczepu MSC. Przeprowadzone eksperymenty, których konsekwencją była w/w publikacja dowiodły obwodowe, immunosupresyjne działanie MSC na przebieg EAE i stały się inspiracją dla kolejnych poszukiwań mechanizmów regulujących potencjał komórek macierzystych.

### **3.2. Neuronalne różnicowanie BMSC niekorzystnie wpływa na ich potencjał terapeutyczny w EAE**

Próby stosowania MSC w terapii EAE i SM wiązały się z nadzieją na potencjał regeneracyjny i/lub neuroprotektoryjny tych komórek. Kolejnym zagadnieniem podjętym w moich pracach, było stworzenie populacji BMSC o charakterystyce komórek neuronalnych (nBMSC). Po

zaadoptowaniu protokołu różnicowania neuronalnego mezenchymalnych komórek macierzystych, uzyskaliśmy populację komórek scharakteryzowaną ekspresją markerów dla astrocytów, oligodendrocytów i neuronów, odpowiednio GFAP, O4 i NeuN. Zaplanowałam eksperymenty, w których porównywaliśmy wpływ przeszczepu świeżo izolowanych, nieróżnicowanych BMSC (fBMSC) i różnicowanych neuronalnie BMSC na kliniczny przebieg EAE. Stosowałam również jako kontrolę populację komórek hodowanych w warunkach nieróżnicujących, aby wyeliminować wpływ samej hodowli. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazały, że populacja komórek niezróżnicowanych BMSC ma korzystniejszy wpływ na przebieg EAE, a doświadczenia oceniające proliferację komórek układu immunologicznego po przeszczepie pokazały większy immunosupresyjny potencjał fBMSC. Hodując BMSC wspólnie z limfocytami T myszy, zarówno w warunkach umożliwiających bezpośredni kontakt między komórkami (*cell-to-cell contact*), jak i warunkach eliminujących kontakt międzykomórkowy (*transwell system*) zauważyłam, że szczególną rolę pełnią czynniki wydzielane przez BMSC. Szukając różnic pomiędzy populacjami fBMSC i nBMSC odkryłam, że niezróżnicowane komórki wydzielają dużo więcej prostaglandyny E2 (PGE2). Również w surowicy myszy EAE, którym przeszczepiano niezróżnicowane BMSC obserwowaliśmy większe stężenie PGE2, niż u kontrolnych myszy EAE i tych, którym przeszczepiano nBMSC. Rolę PGE2 w immunoregulacji EAE udowodniłam podając myszom inhibitor syntezy PGE2 – meloxicam. Stosowanie inhibitora syntezy prostaglandyn po przeszczepie BMSC zmniejszało korzystny efekt terapeutyczny BMSC na przebieg EAE. Wyniki pracy zostały opublikowane w 2011 roku w *Journal of Neuroimmunology* pt.: **“Immunoregulatory function of bone marrow mesenchymal stem cells in EAE depends on their differentiation state and secretion of PGE2”**.

### **3.3 MicroRNA 146a reguluje immunoregulacyjną funkcję komórek macierzystych szpiku kostnego.**

W kolejnych zaplanowanych eksperymentach próbowałam scharakteryzować dwie populacje komórek macierzystych szpiku kostnego myszy ( fBMSC i nBMSC ) o odmiennych właściwościach immunoregulacyjnych. Zebrany materiał RNA posłużył do oceny profilu ekspresji niekodujących



fragmentów microRNA metodą *miRCURY LNA* oraz genów kodujących białka przy użyciu *Affymetrix Gene Chip*.

Odkrycie w ostatnich latach microRNA zrewolucjonizowało patrzenie na problem regulacji genów. Ostatnie doniesienia sugerują, że niektóre z opisywanych microRNA (miRNA) mogą specyficznie regulować odnawianie, różnicowanie, proliferację komórek macierzystych. MicroRNA są fragmentami RNA o wielkości 19-23 nukleotydów, są negatywnymi regulatorami ekspresji genów na poziomie posttranslacyjnym, poprzez bezpośrednie uszkodzenie mRNA, represję translacji lub promowanie deadenylacji mRNA, przyspieszające jego degradację. Aktualnie w bazach danych znajduje się zidentyfikowanych ponad 1000 microRNA. Dotychczas opisane microRNA związane z funkcją MSC to m.in.: miRNA-24,134,143,103,107,124,140, let-7, których ekspresja zmieniała się w trakcie różnicowania w kierunku adipocytów, chondrocytów czy w kierunku neuronalnym.

MicroRNA mają swój udział również w regulowaniu funkcji komórek układu immunologicznego. Wśród microRNA, których ekspresje połączono z wpływem na procesy immunologiczne są: mir-155, mir-146, mir-150, mir-181 oraz klaster mir-17-92. MicroRNA są zaangażowane w odpowiedź immunologiczną m.in. poprzez regulowanie sygnału z receptorów Toll i sekrecji cytokin ( np. miR-146). MicroRNA reguluje również procesy prezentacji antygeny (miR-155) i sygnału wewnątrzkomórkowego receptora limfocytów T (miR-181a). Ostatnie doniesienia pokazują zmienioną ekspresję microRNA w przewlekłych chorobach zapalnych (np. miR-203, miR-146) sugerując ich udział w schorzeniach o patogenezie immunologicznej.

Przy użyciu *miRCURY LNA Array* dokonałam analizy porównawczej ekspresji ponad 700 microRNA w populacjach fBMSC i nBMSC. Wśród 757 ocenianych microRNA, ekspresja 30 microRNA różniła się istotnie statystycznie w badanych populacjach komórek macierzystych. Ekspresja 19 microRNA wzrosła, a 11 zmalała w trakcie procesu różnicowania neuronalnego. Tym microRNA, którego ekspresja najbardziej różniła się było microRNA-146a. Ekspresja tego microRNA wzrastała około 500 razy w czasie różnicowania neuronalnego BMSC, zostało to potwierdzone metodą RT-PCR. W kolejnym etapie prac zastosowałam oligonukleotyd anty-microRNA *antagomir*, termin ten oznacza syntetyczny oligonukleotyd komplementarny do określonego mikroRNA, który zmniejsza ekspresję endogennego microRNA. Transfekcja nBMSC *antagomir-146a* powodowała

stabilne obniżenie ekspresji microRNA-146a o 90%, następnie te transfekowane nBMSC były przeszczepiane myszom EAE na szczycie choroby. Obserwacja przebiegu klinicznego EAE pokazała skuteczność w hamowaniu choroby transfekowanych antagomirem nBMSC na poziomie fBMSC, transfekowane nBMSC odzyskały potencjał immunoregulacyjny i immunosupresyjny w teście proliferacji limfocytów stymulowanych PLP. Wyniki te wskazały na istotną rolę microRNA-146a w procesie immunomodulacji indukowanym przez przeszczep komórek macierzystych szpiku kostnego myszy.

Kolejnym zadaniem było odnalezienie potencjalnego genu regulowanego przez microRNA-146a, którego zmiana ekspresji mogłaby korelować z funkcją immunomodulującą BMSC. W tym celu przeszukałam bazy danych docelowych genów dla microRNA m.in. [www.mirbase.org](http://www.mirbase.org), [www.targetscan.org](http://www.targetscan.org), [www.microRNA.org](http://www.microRNA.org). Wśród docelowych potencjalnych genów regulowanych przez microRNA-146a jest gen dla syntazy 2 prostaglandyny E2 – *ptges2*. Potwierdziłam regulację *ptges2* przez microRNA-146a w doświadczeniu z zastosowaniem konstruktów fragmentu genu *ptges2* z genem reporterowym dla lucyferazy.

W komórkach nBMSC ekspresja syntazy 2 PGE2 (PGES-2) była zredukowana, w porównaniu do fBMSC. Zastosowanie antagomir-146a powodowało wzrost ekspresji PGES-2 w populacji komórek zróżnicowanych nBMSC i równocześnie zwiększało produkcję PGE2. W teście proliferacji w hodowli z limfocytami PLP reaktywnymi komórki te odzyskiwały funkcję immunosupresyjną, korelowało to i tłumaczyło wcześniejszą obserwację *in vivo* w trakcie przeszczepu transfekowanych antagomir nBMSC do myszy EAE. Wyniki *in vitro* i *in vivo* eksperymentów z zastosowaniem świeżo izolowanych i różnicowanych komórek macierzystych w modelu zwierzęcym stwardnienia rozsianego przyczyniły się do lepszego poznania funkcji immunologicznej komórek macierzystych.

Wyniki wykonanych eksperymentów zostały opublikowane w **2013 roku w *Journal of Immunology* w pracy pt.: "MicroRNA-146a negatively regulates the immunoregulatory activity of bone marrow stem cells by targeting prostaglandin E2 synthase-2."**

### 3.4 Podsumowanie

Podjęte przeze mnie wyzwania naukowe w zakresie biologii komórek macierzystych realizowane na eksperymentalnym modelu zwierzęcym stwardnienia rozsianego zaowocowały publikacjami w indeksowanych pismach z zakresu neuroimmunologii, były przedstawiane i dyskutowane na wielu krajowych i międzynarodowych zjazdach, są również wielokrotnie cytowane. Wyniki moich naukowych poszukiwań przyczyniły się do poszerzenia wiedzy na temat komórek macierzystych, regulacji ich funkcji i przede wszystkim potencjału immunoregulacyjnego. Dla mnie jako praktykującego neurologa najważniejsza jest możliwość przełożenia zdobytej wiedzy i doświadczeń na pomoc pacjentom. Od roku jestem zaangażowana i koordynuję badanie naukowo-kliniczne w zakresie terapii autologicznymi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, projekt realizowany we współpracy Katedry i Kliniki Neurologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi i Kliniki Neurochirurgii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego.

## **II. Wykaz innych (nie wchodzących w skład osiągnięcia wymienionego w pkt I) opublikowanych prac naukowych oraz wskaźniki dokonań naukowych**

### **II.1. Zaburzenia płynności błony komórkowej płytek krwi w chorobie Alzheimerera (CHA) i udarze niedokrwiennym mózgu (UNM).**

W trakcie Indywidualnego Toku Studiów realizowanych w Katedrze i Klinice Neurologii w Łodzi pod kierunkiem Prof. dr hab.n.med. Wojciecha Kozubskiego brałam udział w projektach mających na celu zbadanie roli zaburzeń dotyczących struktury błony komórkowej płytek krwi w patogenezie CHA i UNM. Badałam parametry: płynność błony komórkowej płytek oraz ekspresję receptorów błonowych i ich korelacje z CHA i UNM. Zainteresowanie tym tematem zaowocowało publikacjami poglądowymi oraz pracą oryginalną.

1.Świderek M, Kozubski W, Watala C.

Abnormalities in membrane structure and function in Alzheimer's disease and ischaemic stroke. **Platelets**, 1997, 8, 125-133

2.Kozubski W, **Swiderek M**, Watala C. Otępienie a właściwości błon biologicznych. *Terapia* 1998; 7-9

3.Kozubski W, **Swiderek M**, Kloszewska I, Watala C, Gwozdziński K.

[Platelet membrane fluidity and receptor exposition in patients with Alzheimer's disease] **Neurol Neurochir Pol.** 1999 Nov-Dec;33(6):1275-84.

4.Kozubski W, **Swiderek M**, Kloszewska I, Gwozdziński K, Watala C.

Blood platelet membrane fluidity and the exposition of membrane protein receptors in Alzheimer disease (AD) patients--preliminary Study.

**Alzheimer Dis Assoc Disord.** 2002 Jan-Mar;16(1):52-4.

## **II.2 Mechanizm uszkodzenia ludzkich oligodendrocytów - czynniki pro i antyapoptotyczne .**

Od 1998r naukowo pracowałam pod kierunkiem Prof. dr n.med. Krzysztofa Selmaja w Pracowni Neuroimmunologii Kliniki Neurologii. Badałam wpływ cytokin z grupy TNF (*tumor necrosis factor*) na ludzkie komórki glejowe: oligodendrocyty i mikroglej. Pracowałam na hodowlach ludzkich komórek glejowych izolowanych z fragmentów mózgu usuwanych podczas zabiegów neurochirurgicznych. W moich projektach próbowałam określić mechanizmy w jakich uszkodzane są ludzkie oligodendrocyty i jak można zapobiegać ich śmierci, gdyż uszkodzenie oligodendrocytów jest jednym z kluczowych elementów patogenezы stwardnienia rozsianego. Badałam wpływ TNF i TRAIL (*TNF-related apoptosis inducing ligand*) oraz wiele molekuł zaangażowanych w proces wewnątrzkomórkowego przekazywania. W pracach, których jestem współautorem wykazaliśmy różnice w oddziaływaniu TNF i TRAIL na ludzkie oligodendrocyty i oligodendrocytarne linie komórek nowotworowych, wskazaliśmy szlaki wewnątrzkomórkowe w tym kinazy c-jun i AIF (*apoptosis inducing factor*) zaangażowane w apoptozę oligodendrocytów. W opublikowanych pracach jestem pierwszym lub drugim autorem, prace te zostały opublikowane w prestiżowych czasopiśmiech (łączy IF 27,6) i cytowane 150 razy.

1.**Matysiak M**, Jurewicz A, Jaskolski D, Selmaj K.

TRAIL induces death of human oligodendrocytes isolated from adult brain.

**Brain.** 2002 Nov;125(Pt 11):2469-80.

2. Jurewicz A, **Matysiak M**, Tybor K, Selmaj K.

TNF-induced death of adult human oligodendrocytes is mediated by c-jun NH2-terminal kinase-3.

**Brain.** 2003 Jun;126(Pt 6):1358-70.

3. Jurewicz A, **Matysiak M**, Tybor K, Kilianek L, Raine CS, Selmaj K.

Tumour necrosis factor-induced death of adult human oligodendrocytes is mediated by apoptosis inducing factor. **Brain.** 2005 Nov;128(Pt 11):2675-88.

4. Jurewicz A, **Matysiak M**, Andrzejak S, Selmaj K.

TRAIL-induced death of human adult oligodendrocytes is mediated by JNK pathway.

**Glia.** 2006; 53:158-166

### **II.3 Nogo A – nowy potencjalny biomarker w stwardnieniu rozsianym.**

Kolejny projekt, w który jestem zaangażowana dotyczy badań nad białkiem NogoA. Jest to inhibitor regeneracji aksonów z ekspresją na oligodendrocytach. W naszych doświadczeniach dowiedliśmy, że jego rozpuszczalna forma 20-kDa fragment NogoA jest specyficznie obecny w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) pacjentów ze stwardnieniem rozsianym, niezależnie od czasu trwania i aktywności choroby. W Pracowni Neuroimmunologii Kliniki Neurologii w Łodzi wykonuję badanie fragmentu białka NogoA w PMR, nadal prowadzimy nasze badania naukowe potwierdzające swoistość i specyficzność tego markera. Nasze obserwacje zostały opublikowane w 2007 r w piśmie *Neurology*, były wielokrotnie prezentowane i dyskutowane na międzynarodowych konferencjach, a także są podstawą europejskiego zgłoszenia patentowego.

1. Jurewicz A, **Matysiak M**, Raine C, Selmaj K.

Soluble Nogo-A, an inhibitor of axonal regeneration, as biomarker for multiple sclerosis.

**Neurology** 2007; 68: 283-287

### **II.4 Immunopatologiczne podłoże stwardnienia rozsianego.**

Stwardnienie rozsiane wciąż jest chorobą o nieznanym patogenezie. Jest to schorzenie heterogenne zarówno pod względem przebiegu klinicznego, jak i odpowiedzi na terapię. Powtarzające się rzuty choroby tj. zaostrzenia objawów neurologicznych wpływają na postęp niepełności. W kręgu moich zainteresowań znaleźli się pacjenci chorujący na SM, którzy nie odpowiadali na leczenie rzutów steroidami, tym samym narażeni byli na szybsze narastanie deficytów neurologicznych. W moich doświadczeniach porównałam ekspresję receptorów dla steroidów w komórkach mononuklearnych krwi obwodowej ( PBMC - *peripheral blood mononuclear cells* ) pacjentów opornych i wrażliwych na terapię steroidami. Ekspresja wszystkich izoform receptorów steroidowych (alfa, beta i gamma) była dwukrotnie mniejsza na komórkach pacjentów nie reagujących na steroidy, również u tych pacjentów zaobserwowałam większą obecność białka hsp90 (*heat shock protein*) w kompleksach z receptorami dla steroidów, co mogło mieć związek z hamowaniem translokacji steroidów do jądra komórkowego i zmniejszeniem ich transkrypcji.

Uczestniczyłam również w pracach mających na celu zbadanie roli białka hsp70 w stwardnieniu rozsianym. W naszych doświadczeniach zaobserwowaliśmy kilkukrotny wzrost ekspresji białka hsp70 w PBMC pozyskanych od pacjentów z SM poddanych stresowi cieplnemu, w porównaniu do zdrowej kontroli. Wyniki korelowały ze zwiększoną aktywacją HSF1 (*heat shock factor 1*) w PBMC pacjentów z SM. Uzyskane wyniki wskazują na rolę białek hsp w patologii stwardnienia rozsianego.

W kolejnym projekcie, realizowanym we współpracy z partnerami z Niemiec, uczestniczyłam w badaniach nad rolą plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych ( pDC) w stwardnieniu rozsianym. Badaliśmy odpowiedź pDC izolowanych od pacjentów z SM na stymulację receptora toll 7 ( TLR7), która w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej była obniżona. Korelowało to ze zmniejszoną ekspresją genu *tlr7* w pDC pacjentów z SM i wskazało na funkcjonalny deficyt tej drupy komórek układu immunologicznego u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

1. **Matysiak M**, Makosa B, Walczak A, Selmaj K.

Patients with multiple sclerosis resisted to glucocorticoid therapy: abnormal expression of heat-shock protein 90 in glucocorticoid receptor complex. **Mult Scler.** 2008 14(7):919-26

2.Cwiklinska H, Mycko M, Szymanska B, **Matysiak M**, Selmaj K.

Aberrant Stress-Induced Hsp70 Expression In Immune Cells In MS. **J Neurosci Res.** 2010 Nov 1;88(14):3102-10.

3.Mycko MP, Cwiklinska H, Cichalewska M, **Matysiak M**, Lewkowicz P, Sliwinska B, Selmaj I, Selmaj KW.

Plasmacytoid dendritic cell deficit of early response to toll-like receptor 7 agonist stimulation in multiple sclerosis patients. **Clin Immunol.** 2014 Jul;153(1):211-9

### **II.5 badania kliniczne w stwardnieniu rozsianym**

Jako klinicysta od 2002r jestem zaangażowana w opiekę nad pacjentami ze stwardnieniem rozsianym biorącymi udział w badaniach klinicznych nowych leków. W charakterze współbadacza lub lekarza oceniającego stan neurologiczny pacjentów brałam udział w kilkunastu badaniach klinicznych, dwa z nich były pozytywnie zaudytowane przez FDA.

### **III) Udzielone patenty międzynarodowe i krajowe**

European patent: Jurewicz A, Matysiak M, Selmaj K. „A method and preparations for the diagnosis and therapy of multiple sclerosis and immune demyelinating polyneuropathy” ochrona patentowa w Europie i Polsce. Patent udzielony przez European Patent Office nr EP 2084181

Zgłoszenie patentowe dotyczy wykorzystania badania fragmentu białka Nogo A w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów ze stwardnieniem rozsianym.

*Mój wkład w powstanie tego patentu polegał na zaplanowaniu i wykonaniu części eksperymentów będących podstawą zgłoszenia oraz analizie danych. Mój udział procentowy szacuję na 33 %.*

**IV) Sumaryczny *impact factor* według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: 58,014**

**V) Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS): 261**

**VI) Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): 8**

**VII) Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach**

1. „Mechanizm uszkodzenia ludzkich oligodendrocytów pod wpływem TRAIL-analiza czynników pro i antyapoptotycznych”- **kierownik grantu** (w latach 2003-2006) przyznanego przez Komitet Badań Naukowych

2. „Naprawczy potencjał nieembrionalnych komórek macierzystych w autoimmunologicznych procesach demielinizacyjnych” wchodzący w skład projektu zamawianego, współpraca w ramach „Polish Stem Cells Excellence Network” - **wykonawca grantu** (w latach 2004-2006) przyznanego przez Komitet Badań Naukowych

4. „Znaczenie interakcji pomiędzy plazmocytoidalnymi komórkami dendrytycznymi i komórkami regulatorowymi w patogenezie stwardnienia rozsianego” – projekt międzynarodowy „Polsko-niemiecka współpraca w dziedzinie nauk biologicznych”- **wykonawca grantu** (w latach 2007-2010) przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji

5. „Rola microRNA w regulacji mechanizmów immunomodulacyjnych indukowanych przez mezenchymalne komórki macierzyste” – **kierownik grantu** ( w latach 2009-2012) przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki



6. „Nowe mechanizmy regulacji autoimmunologicznej demielinizacji zależne od niekodujących cząsteczek RNA (ncRNA)”- **wykonawca grantu** ( w latach 2012-2015) przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki

### **VIII) Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową**

**2003r** - nagroda Prezesa Rady Ministrów za wyróżnioną rozprawę doktorską pt. „Wpływ *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) na ludzkie komórki glejowe”

**2003r**- Zespołowa Nagroda Naukowa im. J. Śniadeckiego PAN za cykl prac dotyczących identyfikacji molekularnych mechanizmów patogenezy stwardnienia rozsianego

**2003r**- wyróżnienie „Łódzkie Eureka” za badania nad identyfikacją mechanizmów patogenezy stwardnienia rozsianego”.

**2006r**- III nagroda na międzynarodowym kongresie European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis w Madrycie za prezentowane doniesienie (*Poster Award*) pt. „*A novel TNF family member, TRAIL, induces death of human oligodendrocytes by JNK activation prior mitochondrial pathway*”.

**2006r**- Zespołowa Nagroda im. Jerzego Konorskiego Polskiego Towarzystwa Badań Układu Nerwowego za najlepszą polską pracę badawczą opublikowaną w 2005r.: *Jurewicz A, Matysiak M, Tybor K, Kilianek L, Raine CS, Selmaj K. Tumour necrosis factor-induced death of adult human oligodendrocytes is mediated by apoptosis inducing factor.*

*Brain. 2005 Nov;128(Pt 11):2675-88*

**2007r**- Zespołowa Nagroda Ministra Zdrowia za cykl publikacji pod zbiorczym tytułem: „Molekularne i komórkowe podłoże zaburzeń immunologicznych w stwardnieniu rozsianym”.

**2009r-** Zespołowa Nagroda Ministra Zdrowia za cykl publikacji dotyczących zjawisk leżących u podłoża stwardnienia rozsianego

**2014r-** finalista nagrody *Poster Award* na międzynarodowym kongresie European and American Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis w Bostonie za prezentowane doniesienie pt.: "*MicroRNA and gene expression profiling related to stem cells immune regulatory function in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)*".

#### **IX) Wygłoszenie referatów i udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznych**

Jestem aktywnym uczestnikiem wielu konferencji o tematyce neurologicznej i neuroimmunologicznej. Jestem współautorem 35 doniesień naukowych na konferencjach międzynarodowych i 30 doniesień na zjazdach krajowych. Dwukrotnie zgłoszone przeze mnie doniesienia były wśród finalistów nominowanych do nagrody *Best Poster Award* na kongresie European Cometeet for Treatment and Research in Multiple Sclerosis w 2006 i 2014r.

Poniżej przedstawiam listę wykładów i referatów wybranych do wygłoszenia podczas konferencji:

1. Matysiak M, Jurewicz A, , Selmaj K: Toll expression on oligodendrocytes and microglia. Congress of Neuroimmunology Edinburgh, 2001
2. Matysiak M, Jurewicz A, Andrzejak S, Selmaj K. The JNK activation is involved in TRAIL-induced death of adult human oligodendrocytes. International Congress of Neuroimmunology Venice, Italy, 2004

3. Matysiak M, Stasiołek M, Orłowski W, Jurewicz A, Janczar Sz, Selmaj K. Mechanizm immunotolerancyjnego działania multipotencjalnych komórek macierzystych. XX Zjazd Polskiego Towarzystwa Neurologicznego Wrocław, Polska, 2008
4. Matysiak M, Jurewicz A, Selmaj I, Bartyzel Ł, Kadrowicz P, Selmaj K. Nogo, nowy marker diagnostyczny stwardnienia rozsianego. XXI Zjazd Polskiego Towarzystwa Neurologicznego, Poznań, 2011
5. Matysiak M. Komórki macierzyste-postęp czy regres w terapii SM? Konferencja Stwardnienie Rozsiane, Łódź 2013
6. Matysiak M. Mezenchymalne komórki macierzyste w leczeniu stwardnienia rozsianego. Danube Teaching Course Kazimierz Dolny 2013
7. Matysiak M. Mezenchymalne komórki macierzyste w leczeniu stwardnienia rozsianego-fakty i mity. Konferencja Stwardnienie Rozsiane, Łódź 2014
8. Matysiak M. Mesenchymal stem cells in multiple sclerosis treatment. The international symposium: Stem cells: therapeutic outlook for central nervous system disorders. Olsztyn, 2014

#### **X. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski**

Od początku mojej pracy jeszcze w czasie Studiów Doktoranckich, a teraz na stanowisku nauczyciela akademickiego prowadzę seminaria oraz zajęcia przy łóżku chorego z neurologii dla studentów V roku wydziału lekarskiego. Prowadzę również zajęcia z neurologii dla studentów anglojęzycznych.

W czasie prowadzenia badań naukowych w Pracowni Neuroimmunologii Katedry i Kliniki Neurologii byłam opiekunem naukowym projektów doktoranckich (obecnie lekarz Marii Fortak-

Michalskiej), opiekunem naukowym kilku studenckich projektów prezentowanych na Studenckich Konferencjach Naukowych, byłam również jurorem w trakcie studenckich konferencji organizowanych w Uniwersytecie Medycznym w Łodzi.

Jestem autorem tłumaczenia rozdziału „Ośpienia” w przekładzie IV wydania „Neurologia w praktyce klinicznej” WG. Bradleya pod redakcją Prof. dr hab.n.med. Antoniego Prusińskiego. Jestem również autorem rozdziału „Komórki macierzyste postęp czy regres w terapii stwardnienia rozsianego?” i współautorem rozdziału „Nogo-nowy biomarker stwardnienia rozsianego” w książce „Stwardnienie rozsiane” pod redakcją Prof. dr hab.n.med. Krzysztofa Selmaja, wydawnictwo Termedia, 2013.

Od 2010 roku jestem recenzentem w *Journal of Neuroimmunology* (wykonanych 5 recenzji).

Obecnie jestem opiekunem specjalizacji w zakresie neurologii lekarz Karoliny Salwierak-Głośnej oraz lekarza Igora Selmaja.

#### **XI) Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych**

1. Polskie Towarzystwo Neurologiczne – członek od 1998 roku
2. European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis – Council Member od 2011 roku

18.12.2014 M. Świderek-  
Matysiak