

dr n. med. Jolanta Bugajska

AUTOREFERAT
do postępowania habilitacyjnego

Zakład Biochemii Klinicznej
Instytut Pediatrii
Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum w Krakowie
Kraków, marzec 2024

Autoreferat

1. Imię i nazwisko.

Jolanta Bugajska

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

- 1999 – Tytuł zawodowy magistra, Wydział Fizyki i Techniki Jądrowej Akademii Górniczo-Hutniczej, Fizyka Techniczna, specjalność: fizyka medyczna

Tytuł rozprawy magisterskiej: Badanie procesu fagocytozy prowadzonej przez makrofagi w hodowli in vitro metodą mikroskopii konfokalnej i EPR.

- 18.10.2012 - Stopień doktora nauk medycznych, Wydział Lekarski Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Tytuł rozprawy doktorskiej: Stężenia indywidualnych kwasów tłuszczowych u chorych leczonych operacyjnie z powodu raka jelita grubego w rocznym okresie obserwacji.

Promotor: prof. dr hab. Krystyna Sztefko

Recenzenci:

- prof dr hab. Małgorzata Kłys
- prof dr hab. Jan Kanty Kulpa

- 15.06.2012 - Specjalizacja w dziedzinie: Laboratoryjna Diagnostyka Medyczna
- 22.11.2016 – Ukończenie studiów podyplomowych: Biostatystyka – praktyczne aspekty statystyki w badaniach medycznych, MCKP, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

Uniwersytet Jagielloński – Collegium Medicum w Krakowie:

- 01.10.2004 – 30.06.2021 Asystent w Zakładzie Biochemii Klinicznej, Instytut Pediatrii

- od 01.07.2021 Adiunkt w Zakładzie Biochemii Klinicznej, Instytut Pediatrii

Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie:

- 01.05.2000 – 30.11.2007 - Młodszy asystent diagnostyki laboratoryjnej Pracowni Biochemii Lipidów Zakładu Biochemii Klinicznej
- 01.12.2007 – 30.06.2012 - Asystent diagnostyki laboratoryjnej, kierownik Pracowni Biochemii Lipidów Zakładu Biochemii Klinicznej
- od 01.07.2012 – Starszy asystent diagnostyki laboratoryjnej, kierownik Pracowni Biochemii Lipidów Zakładu Biochemii Klinicznej
- od 2001 - Inspektor Ochrony Radiologicznej - IOR-3
- od 2001 - Dyżury medyczne w Pracowni Chemii Klinicznej, Hematologii i Analityki

4. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.**

Tytuł osiągnięcia naukowego

„Profil aminokwasów osocza w chorobach cywilizacyjnych.” (“Plasma amino acids profile in lifestyle-related diseases”)

W skład osiągnięcia naukowego wchodzi 3 oryginalne, powiązane tematycznie, publikacje (załącznik 6a,6b,6c) o łącznym IF 12,249; MEiN: 420. Wszystkie te prace zostały opublikowane po uzyskaniu przeze mnie stopnia naukowego doktora nauk medycznych. W każdym przypadku moja rola w przygotowaniu tych publikacji polegała na opracowaniu koncepcji i założeń pracy, współudziale w zebraniu materiału doświadczalnego, opracowaniu i walidacji/weryfikacji metod analitycznych, wykonaniu analiz, opracowaniu statystycznym wyników i ich interpretacji, przeglądzie piśmiennictwa, przygotowaniu manuskryptu, jego zgłoszeniu do druku, sformułowaniu odpowiedzi na recenzje oraz przygotowaniu ostatecznych wersji publikacji. We

wszystkich publikacjach jestem autorem korespondującym. Swój udział szacuję na 80%-85%.

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

- **Bugajska J**, Berska J, Wójcik M, Sztefko K. Amino acid profile in overweight and obese prepubertal children - can simple biochemical tests help in the early prevention of associated comorbidities? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Oct 26. IF: 5,2, kwartyl Q1.
- **Bugajska J**, Berska J, Wójcik M, Starzyk JB, Sztefko K. Metabolic Fingerprint of Turner Syndrome. *J Clin Med*. 2020 Mar 2;9(3):664. IF: 4,242, kwartyl Q1.
- **Bugajska J**, Gotfryd-Bugajska K, Szura M, Berska J, Pasternak A, Sztefko K. Characteristics of amino acid profiles and incretin hormones in patients with gallstone disease: a pilot study. *Pol Arch Intern Med*. 2019 Dec 23;129(12):883-888. IF: 3,007, kwartyl Q2 (górny 40 percentyl).

Omówienie osiągnięcia:

Na wzrost częstości występowania chorób cywilizacyjnych wpływa zmiana modelu życia w krajach wysoko rozwiniętych, niska aktywność fizyczna, wysoko przetworzona żywność, nieodpowiednia dieta. Do najczęściej spotykanych chorób cywilizacyjnych zalicza się otyłość, stanowiącą istotny problem zdrowotny na całym świecie. U osób otyłych często dochodzi do rozwoju zespołu metabolicznego oraz wczesnego rozwoju chorób układu krążenia i stłuszczeniowej choroby wątroby związanej z dysfunkcją metaboliczną (MAFLD). Dodatkowo, znacznie wzrasta ryzyko wystąpienia kamicy żółciowej, jak również zaburzeń w procesie trawienia i wchłaniania. Zaburzenia biochemiczne towarzyszące otyłości, cukrzycy typu 2, chorobom układu krążenia, kamicy żółciowej mogą być wspólne i odzwierciedlać się między innymi zmienionym metabolizmem aminokwasów.

Wykrywanie zmian metabolicznych u dzieci w okresie przedpokwitaniowym, powinno być priorytetem w profilaktyce potencjalnych zaburzeń rozwojowych. Wczesna modyfikacja nawyków żywieniowych, stylu życia i/lub interwencja farmakologiczna u dzieci z nadwagą i otyłością powinna uchronić je przed poważniejszymi powikłaniami metabolicznymi. Równie ważne jest poszukiwanie prostych markerów biochemicznych, które już we wczesnym etapie rozwoju choroby mogłyby być cenną wskazówką dla pediatrii w podejmowaniu decyzji terapeutycznych.

Pierwszą pozycją wchodzącą w skład osiągnięcia jest praca zatytułowana „Amino acid profile in overweight and obese prepubertal children - can simple biochemical tests help in the early prevention of associated comorbidities?” W pracy tej określono profil aminokwasów w osoczu u dzieci z otyłością w okresie przedpokwitaniowym i podjęto próbę powiązania potencjalnych zmian w profilu aminokwasowym z innymi markerami choroby i jej powikłaniami. Pod uwagę wzięto następujące markery: chemeryna, markery prozapalne (białko C-reaktywne (hs-CRP), interleukina-6 (IL-6)) i podstawowe parametry biochemiczne (glukoza, kreatynina, kwas moczowy (UA), aminotransferaza alaninowa (ALT), aminotransferaza asparaginianowa (AST), cholesterol całkowity, cholesterol frakcji HDL, cholesterol frakcji LDL, triglicerydy). Stwierdzono, że średnie stężenia chemeryny, hs-CRP, IL-6, UA, ALT i glukozy były istotnie wyższe u dzieci z nadwagą i otyłością w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,03$ – $p < 0,00002$), natomiast stężenia AST, kreatyniny i profil lipidowy nie różniły się pomiędzy grupami. Z kolei średnie stężenia w osoczu aminokwasów rozgałęzionych (BCAA: leucyny, izoleucyny, waliny), aminokwasów aromatycznych (AAA: fenyloalaniny, tyrozyny), kwasu glutaminowego i alaniny były istotnie wyższe u dzieci z nadwagą i otyłością w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,03$ – $p < 0,0004$). Natomiast, średnie wartości stężenia seryny, asparaginy, glutaminy i cytruliny były istotnie niższe u dzieci z nadwagą i otyłością niż w grupie kontrolnej ($p < 0,03$ – $p < 0,0007$). Stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem izoleucyny, leucyny, waliny, tyrozyny i fenyloalaniny a UA, ALT, hs-CRP i chemeryną ($r = 0,80$ – $0,36$; $p < 0,05$ – $p < 0,00001$), ale nie dla IL-6. W oparciu o krzywą ROC wyznaczono AUC (wielkość pola pod krzywą) dla ALT (0,853; przedział ufności 0,727 – 0,979) i dla UA (0,849; przedział ufności 0,719 – 0,979). Wielkość pola pod krzywą ROC dla ALT i UA wykazała zdolność dyskryminacyjną pomiędzy dziećmi z nadwagą i otyłością a dziećmi zdrowymi. Punkt odcięcia dla ALT wynosił 24 U/l, a dla UA 270,5 $\mu\text{mol/l}$.

Znaczenie uzyskanych wyników:

Rozwojowi tkanki tłuszczowej u pacjentów z otyłością towarzyszą zmiany zapalne w obrębie tej tkanki. Zmiany te przyczyniają się do przewlekłego ogólnoustrojowego zapalenia o niskim stopniu nasilenia, które charakteryzuje się nieznacznie podwyższonym stężeniem krążących w surowicy cytokin, chemokin, adipokin wykazujących aktywność cytokin, zwanych adipocytokinami. Chemeryna stanowi ważny łącznik między masą tkanki tłuszczowej, metabolizmem organizmu a

reakcjami układu odpornościowego i stanem zapalnym, a tym samym odgrywa ważną rolę w patofizjologii. Dodatkowo sugeruje się, że chemeryna może być biomarkerem do wczesnej diagnostyki i prognozowania chorób układu krążenia. W badanej grupie dzieci z nadwagą i otyłością w okresie przedpokwitaniowym wykazano już podwyższone stężenia chemeryny, hs-CRP i IL-6.

Profil aminokwasowy u dzieci z nadwagą i otyłością różni się od profilu obserwowanego u dzieci bez nadwagi i otyłości. Wiadomo, że aminokwasy, oprócz tego, że są niezbędne do syntezy białek, odgrywają ważną rolę w chorobach związanych z otyłością, takich jak choroby układu krążenia i choroby wątroby. Już w okresie przedpokwitaniowym u dzieci z nadwagą i otyłością wykazano podwyższone stężenie aminokwasów rozgałęzionych (BCAA). Wiadomo, że przewlekłe podwyższenie stężenie leucyny i izoleucyny może przyczyniać się do hiperinsulinizmu, a w konsekwencji może prowadzić do niewydolności komórek beta trzustki. Dodatkowo podwyższony poziom BCAA w osoczu jest powiązany z ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych.

Podwyższone stężenie kwasu moczowego (UA) w surowicy może wskazywać na zwiększone ryzyko wystąpienia MAFLD. Chociaż w przedstawionej pracy profil aminokwasów u dzieci z nadwagą i otyłością przed okresem dojrzewania nie różnił się od opisywanego w literaturze u dorosłych pacjentów otyłych z MAFLD, wykazanie dodatkowej korelacji pomiędzy stężeniami BCAA i AAA a stężeniem ALT i kwasu moczowego można by było uznać za niewielkie osiągnięcie. Jednakże należy sobie zdawać sprawę, że codziennie u większości pacjentów wykonywane są podstawowe oznaczenia biochemiczne, zatem wyniki aktywności ALT i stężenia kwasu moczowego są łatwo dostępne. Jeżeli oba parametry są nawet tylko nieznacznie podwyższone, to może to być wskazaniem do przeprowadzenia oceny nawyków żywieniowych u dzieci. Wyniki uzyskane w pierwszej pracy należącej do mojego osiągnięcia potwierdzają potrzebę zmiany obowiązujących wartości referencyjnych dla ALT i UA u dzieci. Uzyskane u badanych dzieci średnie wartości aktywności ALT i stężenia UA w surowicy mieściły się w zakresie referencyjnym (odpowiednio 10 – 35 U/l i 120 – 320 $\mu\text{mol/l}$) zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej. W oparciu o uzyskane wyniki zaproponowano wartość 24 U/l a dla UA 270,5 $\mu\text{mol/a}$ jako górną granicę zakresu referencyjnego dla dzieci w okresie przedpokwitaniowym. Zastosowanie niższej górnej granicy zakresu wartości referencyjnych może pomóc w typowaniu dzieci dla których

wczesna interwencja kliniczna może ochronić przed skutkami otyłości, a z pewnością je opóźnić, przy zerowym koszcie ekonomicznym.

W drugiej publikacji stanowiącej moje osiągnięcie pt. "Metabolic Fingerprint of Turner Syndrome" porównano profil aminokwasów osocza u dziewczynek z Zespołem Turnera i dziewczynek z otyłością. Zespół Turnera (ZT) to choroba genetyczna spowodowana brakiem lub nieprawidłowościami strukturalnymi chromosomów płciowych, skutkująca niskim wzrostem i dysgenezą gonad. Skład ciała u kobiet z ZT jest zmieniony. Dorosłe kobiety z zespołem Turnera mają zmniejszoną masę mięśniową i zwiększoną całkowitą masę tkanki tłuszczowej, w tym masę tłuszczu trzewnego. Wiąże się to ze zwiększonym ryzykiem rozwoju insulinooporności i choroby wieńcowej. Leczenie hormonem wzrostu (GH) u dziewczynek z ZT ma korzystny wpływ na skład ciała i profil lipidowy, ale może wpływać na metabolizm glukozy i zwiększać insulinooporność.

Badanie przeprowadziłam u dziewcząt z ZT leczonych i nieleczonych hormonem wzrostu (GH) i dziewcząt otyłych, u których mierzono stężenie glukozy, insuliny, wolnych kwasów tłuszczonych (FFA), profil aminokwasowy i obliczano wskaźnik HOMA-IR. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich wartościach stężeń glukozy, insuliny, FFA i HOMA-IR pomiędzy pacjentami z ZT leczonymi i nieleczonymi GH. Nie stwierdzono także istotnej różnicy w średnich wartościach stężenia glukozy na czczo pomiędzy pacjentami z ZT a pacjentami z otyłością, natomiast średnie wartości stężenia insuliny i wskaźnika HOMA-IR były istotnie niższe u pacjentów z ZT ($p = 0,0008$; $p = 0,005$). Średnia wartość stężenia FFA była istotnie statystycznie wyższa u pacjentów z ZT niż u pacjentów z otyłością ($p < 0,05$). Analizując profil aminokwasów w osoczu stwierdzono, że średnie wartości stężenia waliny, izoleucyny, leucyny (BCAA), metioniny, fenyloalaniny, lizyny, tryptofanu, histydyny, tyrozyny, alaniny i ornityny były istotnie statystycznie niższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej ($p < 0,0025$ - $< 0,000001$), a średnia wartość stężenia kwasu asparaginowego była istotnie wyższa u pacjentów z ZT niż u pacjentów z otyłością ($p < 0,005$). Po przeanalizowaniu korelacji pomiędzy BMI SDS a stężeniem indywidualnych aminokwasów stwierdzono takie same zależności pomiędzy aminokwasami a BMI SDS u dziewcząt niezależnie czy stosowano terapię GH czy też nie. Wykazano silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem waliny, izoleucyny, leucyny, fenyloalaniny, argininy, tyrozyny, kwasu glutaminowego, cytruliny i alaniny

a BMI SDS u pacjentów z otyłością ($r = 0,59, p < 0,005$; $r = 0,42, p < 0,05$; $r = 0,58, p < 0,005$; $r = 0,43, p < 0,05$; $r = 0,48, p < 0,03$; $r = 0,54, p < 0,01$; $r = 0,69, p < 0,0006$; $r = -0,48, p < 0,03$; $r = 0,51, p < 0,02$). Natomiast nie stwierdzono korelacji między tymi aminokwasami a BMI SDS u dziewcząt z ZT. Wykazano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy glicyną a BMI SDS, zarówno u dziewczynek z otyłością ($r = -0,67, p < 0,0008$), jak i dziewczynek z ZT ($r = -0,31, p < 0,05$). Nie wykazano istotnej różnicy w średnim stężeniu glukozy i insuliny pomiędzy pacjentami z ZT leczonymi GH a pacjentami z ZT bez terapii GH, natomiast średni poziom insuliny był nieistotnie statystycznie wyższy u chorych z ZT leczonych GH w porównaniu z pacjentami z ZT bez terapii GH, co mogłoby wskazywać na rozwój insulinooporności.

Przeprowadzona analiza profilu aminokwasów osocza u pacjentów z otyłością ujawniła zmiany w profilu aminokwasowym. Wyniki uzyskane w tym badaniu wykazały różnice w średnim stężeniu aminokwasów rozgałęzionych (BCAA), aminokwasów aromatycznych (AAA: fenyloalaniny, tyrozyny, tryptofanu) metioniny, lizyny, histydyny, kwasu asparaginowego, alaniny i ornityny na czczo pomiędzy pacjentami z otyłością, a pacjentami z zespołem Turnera. Aminokwasy te są powiązane z otyłością, insulinoopornością i cukrzycą typu 2. Wykazano silną statystycznie istotną korelację pomiędzy waliną, izoleucyną, leucyną, fenyloalaniną, argininą, tyroziną, kwasem glutaminowy, cytruliną, alaniną i BMI SDS u pacjentów z otyłością, natomiast nie stwierdzono korelacji pomiędzy tymi aminokwasami a BMI SDS u dziewcząt z ZT. Dodatkowo stwierdzono ujemną korelację pomiędzy glicyną a BMI SDS, zarówno u dziewcząt z otyłością, jak i u dziewcząt z ZT. Można spekulować, że suplementacja glicyną może być pomocna w ograniczaniu otyłości. Wiadomo, że glicyna zmniejsza akumulację tłuszczu w jamie brzusznej poprzez zwiększone utlenianie kwasów tłuszczowych w tkance tłuszczowej.

Moje zainteresowania dotyczą analizy profilu aminokwasów w zaburzeniach metabolicznych nie tylko u dzieci, ale także u dorosłych. Chociaż informacje na temat stężenia aminokwasów w różnych stanach chorobowych są znane, w niewielu pracach, można znaleźć zestawienie profilu aminokwasów, jak i hormonów regulujących pracę przewodu pokarmowego.

Celem trzeciej pracy zatytułowanej “Characteristics of amino acid profiles and incretin hormones in patients with gallstone disease: a pilot study.” zaliczonej do mojego osiągnięcia była ocena profilu aminokwasów i hormonów inkretynowych u pacjentów z kamicą pęcherzyka żółciowego w porównaniu do grupy kontrolnej. Przy

nadmiernym spożyciu pokarmów syntezowany jest cholesterol, a jego nadmiar jest wydalany z żółcią. W związku z tym ryzyko powstawania kamieni żółciowych znacznie wzrasta. Dodatkowo otyłość, insulinooporność i cukrzyca typu 2 są niezależnymi czynnikami ryzyka kamicy żółciowej. Hiperinsulinemia jest związana ze zwiększonym wychwytem cholesterolu przez wątrobę, wydzielaniem żółci i niedostatecznym wydzielaniem kwasów żółciowych w żółci. Hormony żołądkowo-jelitowe (peptyd glukagonopodobny-1 [GLP-1], polipeptyd insulinotropowy zależny od glukozy [GIP]), zwane hormonami inkretynowymi, stymulują wydzielanie insuliny w stężeniach fizjologicznych. Aktywność inkretyn jest powiązana z trawieniem składników pożywienia w przewodzie pokarmowym. W pracy oznaczono profil aminokwasów osocza (na czczo i po posiłku) u dorosłych pacjentów z kamica żółciową oraz stężenie insuliny, peptydu C, greliny, GIP, GLP-1 i całkowitych kwasów żółciowych.

W pracy wykazano, że stężenia aminokwasów rozgałęzionych i lizyny na czczo i po posiłku były wyższe u pacjentów z kamica żółciową niż w grupie kontrolnej ($p < 0,01$). Stężenia tyrozyny, kwasu glutaminowego, alaniny, proliny i ornityny na czczo były istotnie statystycznie wyższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej ($p = 0,009$, $p = 0,02$, $p = 0,03$, $p = 0,02$ i $p = 0,03$). Poposiłkowe stężenia argininy, tyrozyny, proliny, kwasu α -aminomasłowego i ornityny były wyższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej ($p = 0,01$, $p = 0,006$, $p = 0,02$, $p = 0,04$ i $p = 0,02$). Procentowe wzrosty stężenia aminokwasów po posiłku były takie same w obu grupach badanych. Stężenia peptydu C i GLP-1 na czczo były statystycznie istotnie wyższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej ($p = 0,004$ i $p = 0,03$), a poposiłkowe stężenie peptydu C było wyższe w grupie badanej niż w grupie kontrolnej ($p = 0,03$). Nie stwierdzono różnic w zakresie całkowitych kwasów żółciowych, insuliny, greliny i GIP pomiędzy badanymi grupami.

Wyniki uzyskane w tej pracy mogą sugerować, że wysokie wyjściowe stężenia BCAA mogą być biomarkerami leżącymi u podstaw dysfunkcji metabolicznych. Podwyższone stężenia waliny, izoleucyny i leucyny stwierdza się w surowicy u pacjentów otyłych z zaburzeniami kardiometabolicznymi. Podobnie podwyższone stężenia aminokwasów aromatycznych (fenyloalaniny i tyrozyny) w osoczu stwierdza się u pacjentów z nadwagą i otyłością oraz zaburzeniami kardiometabolicznymi. Wykazano podwyższone stężenia tych aminokwasów u pacjentów z kamica żółciową.

Podsumowanie osiągnięcia naukowego:

- nieprawidłowy profil aminokwasów osocza u dzieci z nadwagą i otyłością w okresie przedpokwitaniowym, powiązany z podwyższonymi wartościami ALT i UA, może sugerować wczesne zaburzenia metaboliczne, które mogą potencjalnie prowadzić do zespołu metabolicznego (MAFLD) i zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego.
- otyłość u pacjentek z Zespołem Turnera nie wiąże się ze zmienionym metabolizmem aminokwasów.
- podwyższone stężenia aminokwasów rozgałęzionych i aminokwasów aromatycznych w osoczu u pacjentów z kamicią żółciową, mogą wskazywać na wspólne pochodzenie metaboliczne kamicy żółciowej i otyłości.

Zmiany profilu aminokwasów osocza są wielokierunkowe i zależą od czynników środowiskowych, żywieniowych i metabolicznych. Nie da się w sposób jednoznaczny określić co powoduje zmianę stężenia jednego czy wielu aminokwasów równocześnie. Chociaż badania prowadzone przeze mnie są niszowe, nie ulega wątpliwości, że każde badanie pokazujące kierunki zmian profilu aminokwasowego może być przyczynkiem do badań metabolicznych.

Prezentacja wyników poza osiągnięciem naukowym.

Moje zainteresowania naukowe są związane z wykorzystaniem nowoczesnych metod analitycznych (wysokosprawnej chromatografii ciekowej - HPLC, chromatografii gazowej - GC, chromatografii ciekowej sprzężonej ze spektrometrią mas – LC-MS/MS) w analizie profili metabolicznych (kwasy tłuszczowe, kwasy żółciowe, aminokwasy)

Współpraca z I Katedrą Chirurgii Ogólnej UJCM, Kliniką Nefrologii UJCM, Kliniką Chirurgii Serca, Naczyń i Transplantologii Instytutu Kardiologii UJCM, Katedrą Gastroenterologii, Hepatologii i Chorób Zakaźnych UJCM zaowocowała badaniami profilu indywidualnych kwasów tłuszczowych frakcji wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji fosfolipidów:

w surowicy krwi oraz w tkance nowotworowej u pacjentów z rakiem jelita grubego („Composition and Concentration of Serum Fatty Acids of Phospholipids Depend on Tumour Location and Disease Progression in Colorectal Patients.”, „Composition of tissue fatty acids of phospholipids depends on tumor localization and disease progression in colorectal patients.”, „Vitamin D, linoleic acid, arachidonic acid and

COX-2 in colorectal cancer patients in relation to disease stage, tumour localisation and disease progression.”),

w surowicy u pacjentów po transplantacji serca oceniając wpływ terapii immunosupresyjnej na poziom kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów („Effect of immunosuppressive therapy on the serum Fatty acids of phospholipids fraction in patients after heart transplantation.”),

w surowicy u pacjentów po przeszczepieniu nerki („Effects of Immunosuppressive Drugs on Serum Fatty Acids of Phospholipids Fraction in Renal Transplant Recipients.”),

w surowicy i wycinkach jelita u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit (“The risk of essential fatty acid insufficiency in patients with inflammatory bowel diseases: fatty acid profile of phospholipids in serum and in colon biopsy specimen”).

Dodatkowo przy współpracy z I Katedrą Chirurgii Ogólnej UJCM brałam udział w oznaczeniach poszczególnych kwasów żółciowych oraz kwasów tłuszczowych w żółci pęcherzykowej u pacjentów z kamicią żółciową („Biliary polyunsaturated fatty acids and telocytes in gallstone disease.”).

Drugi obszar moich zainteresowań stanowią oznaczenia wolnych aminokwasów w osoczu krwi u dzieci. Oprócz prac wykazanych jako osiągnięcie naukowe we współpracy z Zakładem Genetyki Medycznej IP UJCM analizowałam profile aminokwasów w osoczu krwi u chłopców z autyzmem. Opublikowana z tego zakresu praca jest zauważana i cytowana, chociaż opublikowana w czasopiśmie polskim („The amino acid profile in blood plasma of young boys with autism.”).

W pracy rutynowej w Uniwersyteckim Szpitalu Dziecięcym w Krakowie zajmuję się oznaczaniem wydalania katecholamin i ich pochodnych z moczem w diagnostyce i monitorowaniu leczenia dzieci z nerwiakiem zarodkowo współczulnym (neuroblastomą) oraz dorosłych z guzem chromochłonnym (pheochromocytomą). Współpracę z Kliniką Endokrynologii Szpitala Uniwersyteckiego pozwoliła na określenie wpływu powszechnie stosowanych leków na dobowe wydalanie metoksy pochodnych katecholamin u pacjentów ze zdiagnozowaną incydentalomą („24-hours urine metanephrines excretion in patients diagnosed with adrenal incidentaloma : impact of commonly used drugs on clinical decision”).

Dodatkowo przedmiotem moim zainteresowań naukowych jest opracowywanie/modyfikacja/walidacja/weryfikacja metod analitycznych. Brałam udział w walidacji: metody oznaczania kwasów tłuszczowych we frakcji wolnych

kwasów tłuszczowych i we frakcji fosfolipidów surowicy krwi metodą chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym („Walidacja metody oznaczania kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów w surowicy krwi.”); metody oznaczania joheksolu w osoczu krwi metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem absorpcyjnym („Walidacja zmodyfikowanej metody oznaczania stężenia joheksolu w osoczu krwi.”); metody oznaczania meropenemu i linezolidu w osoczu krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas („A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneously determining meropenem and linezolid in blood and cerebrospinal fluid”). Test eliminacji joheksolu z surowicy krwi jest metodą referencyjną wyznaczania GFR (wskaźnika filtracji kłębuszkowej), według niego zmodyfikowano wzór Schwartza dla populacji polskiej („Modification of the Schwartz equations for children increases their accuracy at eGFR \geq 60 mL/min/1.73 m².”).

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

- Odbylałam staż w Biomarker Research Laboratory, Department of Pathology and Laboratory Medicine, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania USA (15 marzec – 30 kwiecień 2017). Laboratorium w którym odbywałam staż uczestniczy w projekcie ADNI (Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative). Projekt ten jest związany z poszukiwaniem biomarkerów użytecznych w diagnozowaniu, monitorowaniu leczenia i progresji choroby Alzheimera- AD. W trakcie pobytu wykonywałam analizy biomarkerów AD w płynie mózgowo-rdzeniowym z użyciem chromatografu cieczowego połączonego z spektrometrem masowym (2D-UPLC-MS/MS – two dimensional Ultra Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometric detection). Praca z wykorzystaniem 2D-UPLC-MS/MS była dla mnie bardzo przydatna w mojej dalszej pracy, gdyż jest to metoda często używana do oznaczania biomarkerów w różnych jednostkach chorobowych. Biomarker Research Laboratory jest także odpowiedzialne za gromadzenie wszystkich próbek związanych z projektem ADNI, co wiąże się z administrowaniem kilkunastoma tysiącami próbek. W ramach swoich obowiązków byłam także włączona w prowadzenie rejestracji próbek w systemie laboratoryjnym,

zabezpieczanie próbek, przygotowanie CSF pools - niezbędnych dla utrzymania jakości w laboratorium. Doświadczenie to jest bardzo użyteczne w prowadzeniu grantów o dużym zasięgu i dużej liczbie próbek materiału.

- Współpracowałam z zespołem z Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Zakład Psychoterapii i Chorób Psychosomatycznych, Katedra I Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby I Nabytych Niedoborów Odpornościowych, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii) i Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (Zakład Farmakodynamiki) rezultatem tego była publikacja: Pawlowski T, Pawlak D, Inglot M, Zalewska M, Marciniak D, Bugajska J, Janocha-Litwin J, Malyszczak K. The role of anthranilic acid in the increase of depressive symptoms and major depressive disorder during treatment for hepatitis C with pegylated interferon- α 2a and oral ribavirin. *J Psychiatry Neurosci*. 2021 Jan 18;46(1):E166-E175. (IF: 5.699, Kwartyl: Q1).

Wykazaliśmy związek pomiędzy stężeniem kwasu antranilowego, zmniejszoną dostępnością tryptofanu dla mózgu a zaburzeniami depresyjnymi wywołanymi stanem zapalnym podczas leczenia wirusowego zapalenia wątroby typu C pegylovanym interferonem α - 2a i rybawiryną.

- Efektem współpracy z Europejskim Towarzystwem ds. Leczenie Neuroblastoma (SIOPEN), jako członek Subkomitetu ds. oceny katecholamin (SIOPEN Catecholamine Working Group) jest udział w publikacji dotyczącej wykorzystania katecholamin w diagnostyce neuroblastoma (nerwiaka zarodkowego współczulnego) jako członek subkomitetu: Yvette A. H. Matser, Iedan R. N. Verly, Maria van der Ham, Monique G. M. de Sain-van der Velden, Nanda M. Verhoeven-Duif, Shifra Ash, Giuliana Cangemi, Sebastiano Barco, Maja Beck Popovic, André B. P. van Kuilenburg, Godelieve A. M. Tytgat, SIOPEN Catecholamine Working Group; Optimising urinary catecholamine metabolite diagnostics for neuroblastoma; *Pediatr Blood Cancer*. 2023 Jun;70(6). Planowane są dalsze opracowania w celu porównywalności wyników otrzymywanych w różnych laboratoriach w Europie w diagnostyce i monitorowaniu leczenia dzieci z neuroblastoma.

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

Praca dydaktyczna

- Od rozpoczęcia pracy zawodowej w 2004 roku prowadzę zajęcia dla studentów Wydziału Farmaceutycznego UJCM (wykłady, seminaria, ćwiczenia, praktyczną naukę zawodu) na kierunku analityka medyczna z przedmiotów chemia kliniczna, diagnostyka izotopowa i laboratoryjna diagnostyka pediatryczna.
- Od 2023 roku jestem koordynatorem przedmiotu diagnostyka izotopowa na kierunku analityka medyczna Wydziału Farmaceutycznego UJCM.
- Przygotowuję pytania testowe z zakresu chemii klinicznej, diagnostyki izotopowej do egzaminu oraz prezentacje multimedialne, filmy szkoleniowe dla studentów w ramach prowadzonych zajęć dydaktycznych.

Opieka naukowa nad licencjatami, magistrantami, osobami w trakcie specjalizacji w charakterze opiekuna naukowego

- Byłam opiekunem 3 prac licencjackich oraz 3 prac magisterskich (jedna w trakcie) studentów Oddziału Analityki Medycznej Wydziału Farmaceutycznego UJCM.
Tematy prac licencjackich: 1) Laboratoryjne metody diagnozowania zatrucia tlenkiem węgla; 2) Badania biochemiczne soków trawiennych w diagnostyce chorób układu pokarmowego; 3) Wartość diagnostyczna badań biochemicznych płynu mózgowo-rdzeniowego.
Tematy prac magisterskich: 1) Profil aminokwasów w osoczu krwi u dzieci z autyzmem. (magistrant był współautorem pracy); 2) Ocena wydalania aminokwasów u wcześniaków; 3) Ocena stężenia wolnych aminokwasów w surowicy krwi u dzieci z otyłością.
- Pełnię funkcję kierownika specjalizacji z Laboratoryjnej Diagnostyki Medycznej (2 osoby ukończyły specjalizację, jedna jest w trakcie).

Wykłady/warsztaty na konferencjach

- Wykład: Szacowana wartość przesączania kłębuszkowego (eGFR) u dzieci - XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, Kraków, 3-6 września 2017 roku

- Warsztaty: Wanted: Catecholamines – Tumor diagnostics workshop - International Medical Students' Conference Cracow (22-24 kwiecień 2021).

Autorstwo rozdziałów w podręcznikach

- K. Sztefko, J. Berska, J. Bugajska, Perspektywy identyfikacji nowych biomarkerów: rola spektrometrii masowej w proteomice str 123-150 w Wykłady monograficzne z diagnostyki laboratoryjnej, K. Sztefko, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego 2007
- K. Sztefko J. Bugajska Cholesterol LDL-C w: Medyczne laboratorium diagnostyczne w praktyce Warszawa PZWL Wydawnictwo Lekarskie, 2021, 181-188.
- K. Sztefko J. Bugajska. Porównywanie metod ilościowych i jakościowych, w: Medyczne laboratorium diagnostyczne w praktyce, Warszawa PZWL Wydawnictwo Lekarskie, 2021, s. 69-87.

Recenzje publikacji w czasopismach:

Renal Failure (IF 3.0)

Journal of Cancer Research and Clinical Oncology (IF 3.6)

Gastroenterology Research and Practice (IF 2.0)

Diagnosis (IF 3.5)

Polish Archives of Internal Medicine (IF 4.8)

Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology (IF 0.2)

Therapeutic Advances in Chronic Disease (IF 3.5)

Journal of Medical Biochemistry (IF 2.5)

Endokrynologia Polska (IF 2.1)

Molecular Neurobiology (IF 5.1)

Członkostwo w towarzystwach naukowych:

- Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej (PTDL),
- Polskie Towarzystwo Wrodzonych Wad Metabolizmu (PTWWM),
- Międzynarodowe Europejskie Towarzystwo Onkologii Pediatricznej ds. Neuroblastoma (SIOPEN), subkomitet ds. oceny katecholamin (SIOPEN Catecholamine Working Group).

Jestem przedstawicielem nauczycieli akademickich do Rady Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum od września 2016 roku.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

Analiza bibliometryczna poza osiągnięciem naukowym, stan na dzień 15.02.2024

Liczba publikacji: 35 (29 opublikowane po uzyskaniu tytułu doktora), w tym 31 oryginalnych prac pełnotekstowych opublikowanych w czasopismach z wykazów MEiN.

Sumaryczny wskaźnik Impact Factor (zgodnie z rokiem opublikowania pracy): 42,553

Liczba cytowań : 99, liczba cytowań bez autocytowań : 95

Współczynnik Hirscha: 6

Jestem autorem i współautorem 53 doniesień zjazdowych i konferencyjnych na 27 konferencjach międzynarodowych i 26 krajowych (lista streszczeń w załączniku 4).

Kierowanie grantem/udział w projektach badawczych

Kierowałam grantem **Miniatura 5 (K/MNT/000226)** „*Profil wolnych aminokwasów w żółci u chorych z kamicą żółciową*”. Celem pracy było uzyskanie profilu metabolicznego żółci u pacjentów z kamicą żółciową. Cel osiągnięto oceniając stężenia wolnych aminokwasów, poszczególnych kwasów żółciowych oraz indywidualnych kwasów tłuszczowych w żółci. Ocenę profilu metabolicznego przeprowadzono nie tylko w oparciu o profile aminokwasów, kwasów żółciowych, ale także w odniesieniu do indeksu litogenności żółci (CSI) i liczby komórek śródmiąższowych typu Cajala (telocytów). Niniejsze badanie wskazało na potencjalny związek między zmienionym składem aminokwasów i kwasów żółciowych w żółci a zmniejszoną liczbą telocytów w kamicy żółciowej. Otrzymane wyniki zostały opublikowane: Bugajska J, Berska J, Pasternak A, Sztefko K. Biliary Amino Acids and Telocytes in Gallstone Disease. *Metabolites*. 2023 Jun 14;13(6):753.

Byłam wykonawcą w projektach KBN:

- Parametry biochemiczne w płynie kieszonki dziąsłowej przed i po przyłożeniu sił mechanicznych (KBN 2 PO5C 014 26)
- Skład kwasów tłuszczowych frakcji fosfolipidów w osoczu i tkance guza chorych z rakiem jelita grubego przed i po zabiegu operacyjnym (KBN N403 039 31/2296).

Obecnie jestem jednym z wykonawców w projekcie NCN (OPUS 19, 2020/37/B/NZ5/01099) „Badania metabolomiczne i proteomiczne w połączeniu z nowoczesnymi technikami obrazowania rezonansem magnetycznym w poszukiwaniu mechanizmów uszkodzenia mózgu u noworodków urodzonych przedwcześnie i w fizjologicznym terminie porodu”, kierownik prof. dr hab. n. med. Przemko Kwinta.

Była kierownikiem w 3 badaniach oraz członkiem zespołu w 4 badaniach finansowanych ze środków pochodzących z subwencji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego UJCM.

Posiadam certyfikat dobrej praktyki klinicznej (ICH GCP For Investigators) – od 2018 roku.

Brałam udział w badaniu klinicznym: „An Open-label study to evaluate the single-dose pharmacokinetics and safety of cetobiprole in neonate and infant subjects aged up to 3 months undergoing treatment with systemic antibiotics”.

Obecnie biorę udział w badaniu klinicznym: Badanie kliniczne dla dzieci i młodych dorosłych chorujących na pierwotny złośliwy nowotwór wątroby (raka wątroby lub wątrobiaka zarodkowego – hepatoblastoma) „Paediatric Hepatic International Tumour Trial (PHITT)”.

.....
(podpis wnioskodawcy)