



**Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej
im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk**

Autoreferat

Dr n. biol. Marta Sochocka

Wrodzona odpowiedź immunologiczna obwodowych komórek
odpornościowych u pacjentów z chorobą Alzheimera
oraz rola czynników zakaźnych w patogenezie choroby –
nowe kierunki badań i możliwości terapeutyczne

Wrocław 2023



1. Imię i nazwisko.

MARTA ANNA SOCHOCKA

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

Czerwiec 2002	Licencjat (kierunek: mikrobiologia) Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Wrocławski Tytuł pracy: <i>Kontrola wektorów niektórych pasożytów tropikalnych ze szczególnym uwzględnieniem roli organizmów transgenicznych</i>
Czerwiec 2004	Magister biologii (kierunek: mikrobiologia) Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Wrocławski Tytuł pracy: <i>Udział receptora mannozowego we wrodzonej odporności przeciwwirusowej ludzkich leukocytów</i> Praca wykonana w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu (IITD PAN)
Październik 2009	Doktor Nauk Biologicznych Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu Tytuł pracy: <i>Ocena wpływu donepezylu i ekstraktu z Ginkgo biloba-EGb 761 na wrodzoną odporność przeciwwirusową ludzkich leukocytów</i>
Kwiecień 2013	Menedżer Projektów Badawczych Menedżer dla nauki i biznesu. Studia podyplomowe dla pracowników jednostek naukowych; Wyższa Szkoła Innowacji i Ekonomii w Lublinie Tytuł pracy: <i>Rozbudowa i modernizacja Laboratorium B+R Wirusologii IITD PAN</i>

Dyplomy kursów i szkoleń

- 2010** Monitorowanie Badań Klinicznych zgodnie z zasadami ICH-GCP | GP PHARM Medical, Poznań, Polska
- 2010** Rozwój projektu leków z elementami statystyki | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2010** Molekularne metody genotypowania | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2010** Efektywna eksploatacja aparatury pomiarowej | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2010** Podstawowe metody badań i immunodetekcji białek | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2010** Wykorzystywanie nowoczesnej aparatury w planowaniu badań farmakologicznych i farmakokinetycznych i interpretacji ich wyników | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2011** Cytometria przepływowa, mikroskopia konfokalna oraz fluorescencyjna | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2011** Techniki immunoenzymatyczne ELISA i ELISPOT oraz hodowle komórkowe | Labkonsulting, Wrocław, Polska
- 2010** Przykłady zastosowania statystyki w opracowywaniu wyników badań farmakologicznych | StatSoft Polska, Wrocław, Polska
- 2011** Kontrowersje wokół jakości w laboratorium molekularno-genetycznym | Polskie Towarzystwo Diagnostyki Laboratoryjnej, Poznań, Polska



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

2010 – 2012	Specjalista Laboratorium Chemii Biomedycznej, Zakład Onkologii Doświadczalnej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Wrocław
2012 – 2016	Asystent Laboratorium Wirusologii, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Wrocław
2016 - Obecnie	Adiunkt Laboratorium Wirusologii, Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Wrocław

Przerwy w pracy naukowej:

- ✓ **2013-2015** urlop macierzyński oraz długoterminowe zwolnienie lekarskie
- ✓ **2019-2020** urlop macierzyński

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.

WYKAZ POWIĄZANYCH TEMATYCZNIE PRAC ORAZ INDYWIDUALNY WKŁAD HABILITANTKI


Wrodzona odpowiedź immunologiczna obwodowych komórek odpornościowych u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz rola czynników zakaźnych w patogenezie choroby – nowe kierunki badań i możliwości terapeutyczne

1) Jatczak B, Leszek J, Siemieniec I, **Sochocka M**, Wiśniewska A, Tarkowski R, Bębenek M, Błach-Olszewska Z[✉]. Age- and disease-related innate immunity of human leukocytes ex vivo. *Experimental Gerontology*, 2012; 47:8-13 (Załącznik 1).

IF=3.911 Punkty MNiSW=35 (12 cyt.-Scopus)


Wkład habilitantki: Udział w przygotowaniu materiału do badań immunologicznych, udział w pracach eksperymentalnych w tym: namnażaniu i mianowaniu wirusa testowego, izolacji leukocytów krwi obwodowej (ang. *peripheral blood leukocytes*, PBLs) młodych osób zdrowych (grupa kontrolna) oraz pacjentów z chorobą Alzheimera (AD), wykonanie testów oporności PBLs na zakażenie wirusowe (ocena poziomu wrodzonej odpowiedzi immunologicznej komórek), oznaczanie miana cytokin (ELISA). Udział w tworzeniu bazy danych do analizy statystycznej. Udział w analizie części danych eksperymentalnych oraz w powstawaniu pierwotnej wersji manuskryptu.



- 2) **Sochocka M** , Sobczyński M, Sender-Janeczek A, Zwolińska K, Błachowicz O, Tomczyk T, Ziętek M, Leszek J. Association between periodontal health status and cognitive abilities. The role of cytokine profile and systemic inflammation. *Current Alzheimer Research*, 2017;14(9):978-990 (Załącznik 2).


IF=3.289 Punkty MNiSW=35 (38 cyt.-Scopus)

Wkład habilitantki: Wiodący udział w opracowaniu koncepcji i planu badań. Przygotowanie i złożenie wniosku do komisji bioetycznej (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, UMW). Przygotowywanie protokołów badawczych. Wiodący udział we wszystkich pracach eksperymentalnych w tym: izolacji PBLs, stymulacji komórek LPS-em, oznaczaniu miana cytokin. Udział w przygotowaniu charakterystyki pacjentów na podstawie uzyskanych danych klinicznych. Ponadto wiodący udział w przygotowaniu pierwotnej i ostatecznej wersji manuskryptu. Samodzielna dyskusja wyników. Jako autor korespondencyjny udział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje. Badania, których wyniki zaprezentowano w publikacji zostały w większości sfinansowane w ramach grantu nr 105/2016/KNOW/IITD przyznanego przez Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący, Wrocławskie Centrum Biotechnologii (KNOW) „Znaczenie przewlekłej paradontozy w rozwoju zaburzeń poznawczych i choroby Alzheimera. Rola czynników zakaźnych oraz ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej”, którego habilitantka była kierownikiem (Załącznik 10). Habilitantka nawiązała także współpracę z Katedrą Periodontologii UMW i pozyskała częściowe fundusze na badania w ramach grantu wewnętrznego UMW (nr ST-B050.16.047) „Łagodne zaburzenia poznawcze u pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia”, którego kierownikiem była dr Aleksandra Sender-Janeczek. Ponadto habilitantka uzyskała fundusze na opublikowanie pracy w systemie OA (ang. *Open Access*) w ramach konkursu KNOW: Obszar 1: Aktywność naukowo-dydaktyczna, dofinansowanie kosztów przygotowania i wydania publikacji naukowej pracownika w czasopismach naukowych posiadających Impact Factor (nr 33/2017/KNOW) (Załącznik 11).

- 3) **Sochocka M** , Zwolińska K, Leszek J. The infectious etiology of Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology*, 2017; 15(7):996-1009 (Załącznik 3).

IF=4.068 Punkty MNiSW=35 (217 cyt.-Scopus)


Wkład habilitantki: Wiodący udział w opracowaniu koncepcji i planu publikacji mającej na celu przedstawienie hipotezy o związku stanu zapalnego przyzębia (paradontoza) z chorobą Alzheimera poprzez wpływ na indukowanie ogólnoustrojowego stanu zapalnego. Wiodący udział w przeglądzie literatury i przygotowaniu pierwotnej jak i ostatecznej wersji manuskryptu. Samodzielne wykonanie wszystkich rycin. Jako autor korespondencyjny przygotowywanie odpowiedzi na recenzje. Praca powstała również jako rezultat badań prowadzonych w ramach grantu nr 105/2016/KNOW/IITD „Znaczenie przewlekłej paradontozy w rozwoju zaburzeń poznawczych i choroby Alzheimera. Rola czynników zakaźnych oraz ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej”, którego habilitantka była kierownikiem (Załącznik 10).

- 4) **Sochocka M**, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, Kurpas D, Brzozowska E, Leszek J . The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review. *Molecular Neurobiology*, 2019; 56:1841-1851 (Załącznik 4).

IF= 4.500 Punkty MEiN=100 (308 cyt.-Scopus)




Wkład habilitantki: Wiodący udział w opracowaniu koncepcji i planu publikacji mającej na celu przedstawienie hipotezy o kluczowej roli przewlekłego stanu zapalnego wywołanego infekcjami obwodowymi w procesie dysbiozy mikrobiomu, co w efekcie może prowadzić do stanu zapalnego w mózgu. Wiodący udział w przeglądzie literatury i przygotowaniu pierwotnej jak i ostatecznej wersji manuskryptu. Samodzielne wykonanie wszystkich rycin przedstawiających hipotezę habilitantki. Wspólnie z autorem korespondencyjnym Prof. Jerzym Leszkiem z UMW przygotowywanie odpowiedzi na recenzje. Praca powstała dzięki współpracy z Dr Breno Dinizem z Translational Psychiatry Biomarkers Laboratory at the Center for Addiction and Mental Health (CAMH) na Uniwersytecie w Toronto, w Kanadzie, gdzie habilitantka odbywała staż naukowy w ramach pozyskanego stypendium KNOW (nr 39/2018/KNOW) (Załącznik 12). Publikacja ta została nagrodzona w 2022 roku nagrodą Dyrektora IITD PAN jako praca przeglądowa o najwyższej liczbie cytowań w latach 2019 – 2021.

5) **Sochocka M** , Ochnik M, Sobczyński M, Siemieniec I, Orzechowska B, Naporowski P, Leszek J. New therapeutic targeting of Alzheimer's disease with the potential use of proline-rich polypeptide complex to modulate an innate immune response - preliminary study. *Journal of Neuroinflammation*, 2019; 5;16(1):137 (Załącznik 5).

IF= 5.793 Punkty MEiN=100 (9 cyt.-Scopus)

Wkład habilitantki: Wiodący udział w opracowaniu koncepcji i planu badań. Planowanie eksperymentu medycznego z udziałem pacjentów we współpracy z Prof. Jerzym Leszkiem z Katedry Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Pozyskiwanie materiału biologicznego do badań. Bezpośredni udział w pracach doświadczalnych związanych z izolacją komórek z krwi obwodowej pacjentów oraz oceną poziomu wrodzonej odpowiedzi immunologicznej komórek przed i po terapii preparatem zawierającym kompleks polipeptydów bogatych w prolinę (ang. *proline-rich polypeptide complex*, PRP), oznaczanie miana cytokin (Multiplex), analiza dystrybucji subpopulacji leukocytów. Przygotowanie i złożenie wniosku do komisji bioetycznej UMW Wrocław. Ponadto habilitantka na bieżąco konsultowała protokoły badawcze oraz nadzorowała prace wykonywane przez osoby zaangażowane w niniejszy projekt badawczy. Habilitantka uczestniczyła w przygotowaniu i analizie statystycznej wyników, miała wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu w wersji pierwotnej i ostatecznej, samodzielnie dokonała analizy i dyskusji wyników, jako autor korespondencyjny przygotowywała odpowiedzi na recenzje.

6) **Sochocka M** , Sobczyński M, Ochnik M, Zwolińska K, Leszek J. Hampering Herpesviruses HHV-1 and HHV-2 Infection by Extract of Ginkgo biloba (EGb) and Its Phytochemical Constituents. *Frontiers in Microbiology*, 2019; 15,10:2367 (Załącznik 6).

IF= 4.236 Punkty MEiN=100 (12 cyt.-Scopus)

Wkład habilitantki: Autorska koncepcja i plan badań. Pozyskanie materiałów do badań: ekstrakt, preparaty roślinne. Bezpośredni udział we wszystkich pracach doświadczalnych w tym: namnażania panelu testowanych wirusów ludzkich i zwierzęcych, zastosowania i porównania różnych metod badawczych (mikroskopowa oraz luminescencyjna) do precyzyjnej oceny cytotoksyczności preparatów barwnych, wykonywanie testów aktywności przeciwwirusowej - AVA (ang. *antiviral activity assays*) badanych preparatów. Ponadto udział w przygotowywaniu protokołów badawczych oraz nadzór i konsultacje przebiegu eksperymentów wykonywanych przez zespół. Stworzenie bazy danych, udział w analizie statystycznej wyników, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu w wersji pierwotnej i



ostatecznej. Samodzielna dyskusja wyników. Jako autor korespondencyjny przygotowanie odpowiedzi na recenzje. Przed powstaniem publikacji, na podstawie uzyskanych wyników habilitantka samodzielnie przygotowała zgłoszenie patentowe: P. 423496, procedura zakończona nadaniem patentu polskiego Pat.234670: Sochocka M, Leszek J: „Zastosowanie wyciągu z liści miłorzębu japońskiego *Ginkgo biloba*” (Załącznik 9). Habilitantka nawiązała współpracę z UMW i pozyskała częściowe fundusze na badania w ramach projektu, którego była współautorem – grant wewnętrzny UMW (nr ST-C230.16.087) „Immunomodulujące i przeciwwirusowe właściwości ekstraktu z *Ginkgo biloba* w modelach ludzkich leukocytów, mikrogleju oraz neuronach. Możliwości szerszego zastosowania w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych” (kierownik: Prof. dr hab. Jerzy Leszek).

7) Sochocka M[✉], Ochnik M, Sobczyński M, Orzechowska B, Leszek J. Sex Differences in Innate Immune Response of Peripheral Blood Leukocytes of Alzheimer's Disease Patients. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2022; 16;70(1):16 (Załącznik 7).

IF=3.2 Punkty MEiN=140 (1 cyt.-Scopus)

Wkład habilitantki: Autorska koncepcja badań nad różnicami płciowymi u pacjentów z chorobą Alzheimera dotyczącymi wrodzonej odpowiedzi immunologicznej obwodowych komórek odpornościowych, planowanie eksperymentów i analizy uzyskanych wyników w odniesieniu do danych literaturowych. Udział w pozyskiwaniu materiału biologicznego do badań eksperymentalnych. Bezpośredni udział we wszystkich pracach doświadczalnych, przygotowaniu charakterystyki pacjentów, tworzeniu bazy danych oraz udział w analizie statystycznej danych. Przygotowanie i złożenie wniosku do komisji bioetycznej UMW Wrocław. Ponadto wiodący udział w przygotowaniu pierwotnej i ostatecznej wersji manuskryptu w tym samodzielnie przygotowanej dyskusji wyników. Jako autor korespondencyjny udział w przygotowaniu odpowiedzi na recenzje.

8) Sochocka M[✉], Ochnik M, Sobczyński M, Gębura K, Zambrowicz A, Naporowski P, Leszek J. Ginkgo Biloba Leaf Extract Improves an Innate Immune Response of Peripheral Blood Leukocytes of Alzheimer's Disease Patients. *Nutrients*, 2022; 14(10), 2022 (Załącznik 8).

IF=5.9 Punkty MEiN=140 (6 cyt.-Scopus)

Wkład habilitantki: Samodzielne opracowanie koncepcji badań oraz bezpośredni udział w pracach doświadczalnych w tym: ocenie cytotoksyczności badanego preparatu względem izolowanych leukocytów pacjentów z chorobą Alzheimera, ocenie różnic płciowych we wpływie badanego preparatu na poziom oporności leukocytów na zakażenie wirusowe (poziom wrodzonej odporności komórek), ocenie ekspresji genów zaangażowanych w nieswoistą, przeciwwirusową odpowiedź immunologiczną. Przygotowanie i złożenie wniosku do komisji bioetycznej UMW Wrocław. Udział w przygotowaniu charakterystyki pacjentów na podstawie uzyskanych danych klinicznych. Ponadto, udział w analizie statystycznej wyników, wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu w wersji pierwotnej i ostatecznej, samodzielna analiza i dyskusja wyników. Jako autor korespondencyjny przygotowanie odpowiedzi na recenzje. Badania zostały częściowo sfinansowane z grantu wewnętrznego UMW (nr ST-C230.16.087) „Immunomodulujące i przeciwwirusowe właściwości ekstraktu z *Ginkgo biloba* w modelach ludzkich leukocytów, mikrogleju oraz neuronach. Możliwości szerszego zastosowania w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych”, którego habilitantka była współautorem i koordynatorem w IITD PAN.



Dane naukometryczne

IF cyklu prac (wg Web of Science)	34.897
punkty MNiSW	105
punkty MEiN	686
Liczba cytowań/bez autocytowań (wg Scopus)	603/594

Wprowadzenie

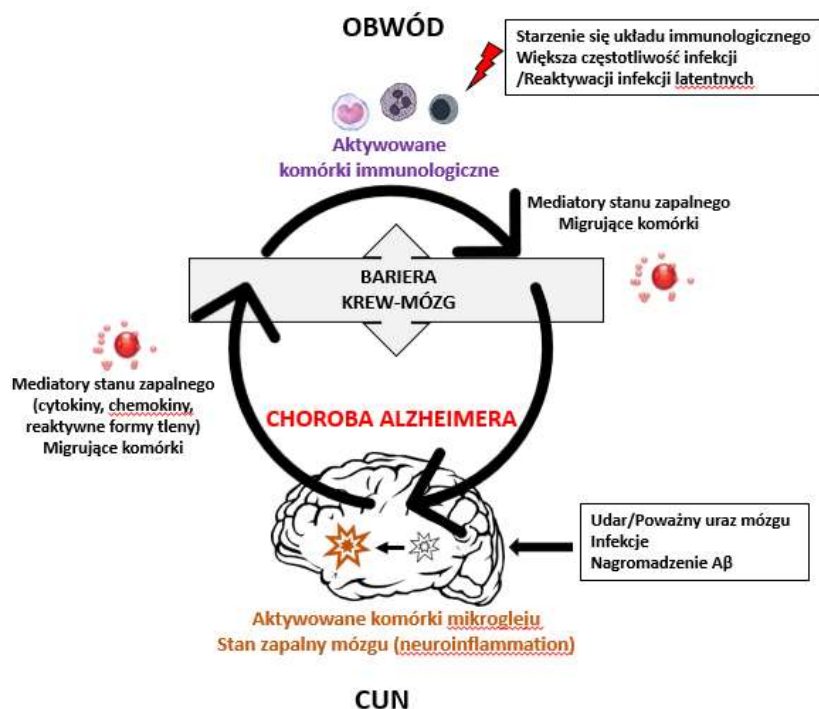
Choroba Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease*; AD) jest najczęstszą postacią demencji na świecie, stanowi 60-80% jej przypadków. AD należy do chorób neurodegeneracyjnych, czyli zaburzeń w których uszkodzeniu ulega mózg. Początkowo objawia się postępującą utratą pamięci i funkcji poznawczych. Następnie pojawiają się deficyty umiejętności językowych i wzrokowo-przestrzennych, którym często towarzyszą zaburzenia zachowania, takie jak apatia, agresywność i depresja¹. Zaawansowany wiek, historia występowania demencji w rodzinie, płeć (kobiety stanowią dwie trzecie przypadków) oraz czynniki genetyczne (głównie obecność wariantu *APOE ε4* - gen apolipoproteiny E) są najważniejszymi, niemodyfikowalnymi czynnikami ryzyka wystąpienia choroby. Należy jednak podkreślić, że zmiany neurodegeneracyjne mogą rozpocząć się nawet 20 lat przed pojawieniem się pierwszych objawów klinicznych i rozpoznaniem choroby. Starzenie się i genetyczne czynniki ryzyka nie wyjaśniają jednak wszystkich przypadków AD. Środowiskowe czynniki ryzyka oraz czynniki związane ze stylem życia (modyfikowalne), w tym: zanieczyszczenie powietrza, dieta, cukrzyca, nieleczone nadciśnienie, depresja, niski poziom wykształcenia, izolacja społeczna, brak aktywności fizycznej i umysłowej oraz infekcje wywołane różnymi patogenami mogą prowadzić do stresu oksydacyjnego i stanów zapalnych oraz zwiększać ryzyko rozwoju AD. Uważa się, że modyfikowalne czynniki ryzyka mogą odpowiadać za 30–50% przypadków AD². Według Amerykańskiego Stowarzyszenia Alzheimerowskiego i Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organisation*, WHO) demencja dotyka obecnie ponad 55 mln ludzi na całym świecie, a prognozuje się, że liczba ta zwiększy się do ponad 138 mln do 2050 roku, ponieważ co roku diagnozuje się prawie 10 milionów nowych jej przypadków³. Według aktualnych danych Institute for Health Metrics and Evaluation oraz Narodowego Funduszu Zdrowia (NFZ) w 2019 roku w Polsce odnotowano 585 tys. przypadków demencji, w tym 379 tys. to osoby dotknięte AD⁴. Obecnie AD jest jednym z najpilniejszych problemów zdrowia publicznego na całym świecie, ponieważ dramatyczny wzrost liczby pacjentów z zaburzeniami poznawczymi oraz pełnoobjawowym otępieniem stanowi duże wyzwanie medyczne, ekonomiczne oraz społeczne. Chorobie nie można zapobiec, nie można jej wyleczyć ani zatrzymać. Co więcej, AD należy do grupy chorób, które powodują największą śmiertelność ludzi na całym świecie a demencja nie jest po prostu naturalną częścią procesu starzenia się^{5,6}. Leki dopuszczone niedawno do leczenia na wczesnych etapach AD – aducanumab i lecanemab - tylko częściowo hamują rozwój choroby i póki co wzbudzają wiele obaw i kontrowersji ze względu na zaobserwowane skutki uboczne w postaci kurczenia się oraz obrzęku mózgu⁷. Należy jednak podkreślić, że brak skutecznego leczenia i profilaktyki AD wynika głównie z niepełnego zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw tej wyniszczającej choroby.

Pierwotne zmiany neurodegeneracyjne w mózgu opisane w przebiegu AD to po pierwsze płytki starcze (ang. *senile plaques*, SP), czyli złogi peptydu amyloidu-beta ($A\beta$), które gromadzą się w przestrzeniach między komórkami nerwowymi. Amyloid odgrywa główną rolę w neurotoksyczności i



funkcjonowaniu neuronów, dlatego gromadzenie się gęstszych płytek w hipokampie, ciele migdałowatym i korze mózgowej może powodować stymulację astrocytów i mikrogleju (rezydujące w mózgu makrofagi), uszkodzenie aksonów, dendrytów i utratę synaps prowadząc do zaburzeń poznawczych. Drugą patologią obserwowaną w AD są sploty neurofibrylarne (ang. *neurofibrillary tangles*, NFT), czyli skręcone włókna hiperfosforylowanego białka tau, które gromadzą się w cytoplazmie, aksonach i dendrytach neuronów, co powoduje utratę mikrotubul cytoszkieletu i białek związanych z tubuliną². Przez dziesięciolecia w nauce i medycynie dominowało przekonanie, że nieprawidłowe odkładanie A β w centralnym układzie nerwowym (CUN) silnie koreluje z demencją, co doprowadziło do koncepcji hipotezy kaskady amyloidu jako zdarzenia inicjującego AD⁸. Obecnie liczne obserwacje i badania eksperymentalne przeczą tej hipotezie. Stwierdzono m.in., że blaszki amyloidowe osadzają się również w normalnych, zdrowych mózgach wraz z wiekiem a historia progresji AD nie koreluje z tworzeniem się amyloidu w mózgu, dlatego nie można powiązać go przyczynowo z AD. Hipotezy kaskady amyloidu jako przyczyny AD nie potwierdzają również niejednoznaczne i dość kontrowersyjne wyniki badań klinicznych zwłaszcza leków z przeciwciałami anty-A β ⁹. Powyższe kontrowersje i niejasności w sprawie przyczyn i mechanizmów rozwoju AD otworzyły nowe kierunki badawcze takie jak: zaburzenia w odpowiedzi immunologicznej, sygnalizację komórkową, a także udział czynników zakaźnych w patogenezie choroby.

Odkrycie podwyższonego poziomu markerów zapalnych u pacjentów z AD oraz identyfikacja genów ryzyka AD związanych z odpowiedzią immunologiczną doprowadziło do koncepcji, że obok patologii A β oraz białka tau, stan zapalny w mózgu (ang. *neuroinflammation*) odgrywa znaczącą rolę w patogenezie AD¹⁰. Ostra odpowiedź zapalna w mózgu jest spowodowana szybką i wczesną aktywacją komórek glejowych, głównie mikrogleju w odpowiedzi na różne szkodliwe czynniki np. nieprawidłowo sfałdowane białka (A β), udar, nadciśnienie oraz infekcje, co prowadzi do naprawy uszkodzonego obszaru mózgu. Jeśli jednak czynniki szkodliwe działają uporczywie, stan zapalny w mózgu staje się przewlekły (ang. *chronic inflammation*) a aktywacja komórek glejowych jest nadmierna (ang. *over-activation*), co prowadzi do degeneracji tkanek. Pogląd, że mózg jest „uprzywilejowany immunologicznie” ze względu na istnienie wyspecjalizowanej, szczelnej bariery krew-mózg (ang. *blood-brain barrier*, BBB) doprowadził do powszechnie akceptowanego przekonania, że mózg jest odizolowany od obwodowego układu odpornościowego. Tymczasem procesy zapalne odgrywają ważną rolę w modulowaniu funkcji poznawczych, a *neuroinflammation* w AD nie ogranicza się tylko do mózgu lecz jest również związany z aktywacją obwodowych komórek immunologicznych i reakcjami zapalnymi na obwodzie, co sprawia, że AD przynajmniej częściowo ma charakter ogólnoustrojowy¹¹. Uważa się, że w AD mediatory zapalne wytwarzane w przebiegu *neuroinflammation* uwalniane są na obwód poprzez osłabioną i mniej szczelną z wiekiem BBB, co powoduje aktywację obwodowych komórek odpornościowych. Komórki odpornościowe mogą następnie przemieszczać się do i z mózgu, wzmacniając w obu miejscach procesy zapalne. To sugeruje, że obwodowe komórki odpornościowe mogą uczestniczyć w patogenezie i progresji choroby^{11,12}. Należy zatem pamiętać, że przewlekła odpowiedź zapalna w organizmie, nasilająca się wraz z wiekiem oraz licznymi infekcjami związanymi z wiekiem, może także przyczyniać się do progresji choroby¹³. Model obrazujący udział obwodowego układu immunologicznego w patogenezie AD przedstawia Rycina 1.



Ryc. 1 Model błędnego koła obrazujący udział procesów zapalnych w mózgu jak i na obwodzie oraz obwodowego układu odpornościowego w patogenezie choroby Alzheimera [na podstawie ¹¹⁻¹³].

Wrodzona (nieswoista) odpowiedź immunologiczna obwodowych komórek odpornościowych u pacjentów z chorobą Alzheimera

Badania dotyczące wrodzonej (nieswoistej) odpowiedzi immunologicznej obwodowych komórek odpornościowych u pacjentów z chorobą Alzheimera (AD) są kontynuacją prac prowadzonych przeze mnie w ramach pracy doktorskiej. Celem moich badań było wtedy określenie wpływu donepezylu oraz ekstraktu z miłorzębu dwuklapowego - EGb 761 na wybrane mechanizmy odporności wrodzonej u młodych, zdrowych ochotników < 40 roku życia. Obydwa leki, które wykorzystałam w doktoracie, stosowane są w terapii AD oraz innych chorób neurodegeneracyjnych, wykazując korzystny wpływ na układ nerwowy. W literaturze naukowej pojawiały się doniesienia o komunikacji układu nerwowego i odpornościowego. Stąd możliwy wpływ preparatów stosowanych w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych na układ immunologiczny, szczególnie na mechanizmy odporności wrodzonej, zachęcił nasz zespół kierowany przez Prof. Zofię Błach-Olszewską do podjęcia badań w tym kierunku. Wyniki ujęte w pracy doktorskiej a następnie opublikowane w 3 pracach oryginalnych wskazywały na korzystne działanie immunomodulujące obu preparatów, choć dużo lepszą aktywność preparatu roślinnego, u młodych, zdrowych dawców¹⁴⁻¹⁶. Kolejnym, naturalnym krokiem były zatem badania z udziałem pacjentów z AD oraz zdrowych osób w odpowiedniej grupie wiekowej. Badania te rozpocząłam już po obronie doktoratu jeszcze w zespole Prof. Zofii Błach-Olszewskiej a kontynuuję do dziś już z własnym zespołem badawczym.

W publikacji: Jatczak B, Leszek J, Siemieniec I, Sochocka M, Wiśniewska A, Tarkowski R, Bębenek M, Błach-Olszewska Z. Age- and disease-related innate immunity of human leukocytes ex vivo. *Experimental Gerontology*, 2012; 47:8-13 przedstawione zostało porównanie wyników badań dotyczących mechanizmów odporności wrodzonej (nieswoistej) u zdrowych ochotników w różnych grupach wiekowych (grupy kontrolne) oraz u pacjentów obciążonych klinicznie chorobą nowotworową (nowotwór przewodu pokarmowego, CA) lub neurodegeneracyjną (choroba Alzheimera, AD). Dwie



reakcje wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, tj. naturalną oporność ludzkich leukocytów krwi obwodowej (ang. *peripheral blood leukocytes*, PBLs) *ex vivo* na infekcję wirusową oraz wytwarzanie cytokin takich jak: TNF- α , IFN- α , IFN- γ porównano w grupach kontrolnych oraz w grupach osób chorych. W celu określenia stopnia oporności leukocytów do badań wykorzystywałam test, opracowany wcześniej w naszym laboratorium przez Prof. Zofię Błach-Olszewską, oparty na replikacji wirusa indykatorowego – wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (*vesicular stomatitis virus*, VSV) - w świeżo wyizolowanych PBLs *ex vivo*¹⁷. VSV jest wirusem ssaków kopytnych, który nie powoduje naturalnych infekcji wśród europejskiej populacji ludzkiej, dlatego w surowicach ludzkich nie występują swoiste przeciwciała anty-VSV, co wyklucza ich udział w utrzymaniu oporności PBLs. Stopień replikacji VSV w PBLs wskazuje na poziom oporności komórek na zakażenie/poziom oporności wrodzonej. Stopień replikacji wirusa (miano wirusa) określany był metodą TCID₅₀ (50% *tissue culture infectious dose*). Wartość TCID₅₀ reprezentuje ilość rozcieńczenia wirusa (w skali logarytmicznej) która powoduje efekty cytotatyczne w 50% komórek w hodowli po określonym czasie. Wysokie miano VSV ≥ 4 log TCID₅₀ oznacza bardzo niską lub brak oporności komórek, niskie miano wirusa ok 2–3 log TCID₅₀ wskazuje na częściową oporność leukocytów, a miano 0–1 log TCID₅₀ oznacza całkowitą oporność leukocytów na zakażenie wirusem/wysoki poziom wrodzonej odporności. Oporność komórek na infekcje wirusowe jest jedną z wrodzonych (nieswoistych) reakcji odpornościowych. Za włączeniem oporności PBLs do odporności wrodzonej przemawia jej niespecyficzny charakter. Drugim atrybutem badanego mechanizmu odporności wrodzonej jest zależność oporności leukocytów od niewielkich ilości cytokin: interferonów (IFN- α , IFN- β , IFN- γ) oraz czynnika martwicy nowotworów (TNF- α). Oporność komórek jest indywidualnie zróżnicowana. Do badań wykorzystywałam pełną pulę izolowanych leukocytów (PBLs) a nie poszczególne frakcje komórkowe, ponieważ wcześniejsze badania zespołu Pani Profesor wykazały, że izolowane subpopulacje leukocytów (makrofagi, limfocyty T, limfocyty B, NK) charakteryzowały się silniejszą opornością na zakażenie VSV niż całe PBLs. Wśród komórek w PBLs istnieje mechanizm regulacji odpowiedzi a stopień oporności pełnej puli komórek najlepiej oddaje poziom wrodzonej odpowiedzi immunologicznej oraz jest najbardziej powtarzalny.

Na podstawie badań kinetyki replikacji VSV w PBLs przez 72 godziny udało się potwierdzić zależną od wieku oporność PBLs. Porównanie oporności PBLs na zakażenie VSV wśród czterech grup badanych wykazało istotne różnice między grupą młodych, zdrowych dawców a grupą osób starszych (grupy kontrolne). PBLs izolowane od młodych ochotników charakteryzowały się bardzo wysoką opornością (średnie miano wirusa wynosiło ≤ 1 log TCID₅₀), podczas gdy u zdrowych osób starszych oraz pacjentów z AD lub CA oporność komórek była bardzo niska (średnie miano wirusa wynosiło ≥ 3 log TCID₅₀). Istotnie statystycznie różnice między grupą młodą i starszymi grupami stwierdzono również w kolejnych dniach po zakażeniu. Badania dotyczące wytwarzania cytokin przez PBLs wykazały różnice w spontanicznie uwalnianych oraz indukowanych wirusem poziomach badanych cytokin. Leukocyty osób starszych oraz pacjentów z AD i CA niestymulowane praktycznie nie uwalniały IFN- α oraz wytwarzały bardzo niewielkie ilości IFN- γ i TNF- α . Warto jednak podkreślić, że PBLs izolowane od osób młodych, które charakteryzowały się wysoką opornością komórek, wytwarzały spontanicznie znaczne ilości tej ostatniej cytokiny - średni poziom TNF- α wynosił 150 pg/ml. Zakażenie komórek VSV spowodowało wzrost wytwarzania wszystkich badanych cytokin. Co ciekawe leukocyty pacjentów z AD oraz CA wytwarzały mniej IFN- α w odpowiedzi na wirusa w porównaniu do zdrowych, starszych dawców w podobnym przedziale wiekowym. Wśród cytokin interferony, a także TNF wykazują aktywność przeciwwirusową i odgrywają istotną rolę w utrzymaniu oporności komórek. Na ich udział w utrzymaniu oporności wskazują wyniki uzyskane po eliminacji cytokin przez swoiste przeciwciała przeciwko TNF- α , IFN- α , IFN- β , IFN- γ dodane w niewielkich ilościach do PBLs przed zakażeniem VSV



(dane opublikowane wcześniej przez zespół Prof. Zofii Błach-Olszewskiej¹⁸). Po dodaniu wszystkich przeciwciał powodowały one całkowitą redukcję oporności komórek, natomiast po dodaniu pojedynczego przeciwciała częściową oporność leukocytów. Wytwarzanie IFN jest kolejną czynnością komórek, a jego ilość zależy od ilości wirusa (VSV). W naszych badaniach we wszystkich grupach osób starszych obserwowany był wyższy poziom interferonu typu I w odpowiedzi na indukcję VSV w porównaniu z grupą osób młodych. Korelacja między mianem VSV a indukowanym IFN- α była istotna. Wszystkie starsze grupy wytwarzały również istotnie więcej IFN- γ w odpowiedzi na VSV, co było skorelowane z większym uzyskanym mianem VSV w tych grupach w porównaniu do młodych.

Uznaliśmy, że wyniki uzyskane w tamtym badaniu tylko częściowo ilustrują jakie zmiany w funkcjonowaniu leukocytów zachodzą podczas starzenia. Dysfunkcję odporności wrodzonej w okresie starzenia się można uznać za jeden z mechanizmów uczestniczących w utrzymaniu i regulacji odporności. Kolejne badania dotyczące mechanizmów odpowiedzi immunologicznej obwodowych komórek odpornościowych w chorobie Alzheimera prowadziłam już z własnym zespołem.

W publikacji: Sochocka M, Ochnik M, Sobczyński M, Siemieniec I, Orzechowska B, Naporowski P, Leszek J. New therapeutic targeting of Alzheimer's disease with the potential use of proline-rich polypeptide complex to modulate an innate immune response - preliminary study. *Journal of Neuroinflammation*, 2019; 5;16(1):137 zostały przedstawione wyniki długiego, trwającego kilkanaście miesięcy badania (eksperyment medyczny), którego celem było zbadanie reakcji odporności wrodzonej, tj. oporności PBLs ex vivo na infekcję wirusową oraz wytwarzanie cytokin przez PBLs od pacjentów z AD przed i po leczeniu preparatem zawierającym kompleks polipeptydów bogatych w prolinę (ang. *proline-rich polipeptide*, PRP) izolowanych z siary bydlęcej (colostrum). Pozytywny wpływ PRP na funkcje poznawcze oraz krążenie mózgowe wykazano już wcześniej w kilku badaniach klinicznych. Nie przeprowadzono jednak żadnego badania in vivo oceniającego wpływ leczenia PRP na reakcje immunologiczne odporności nieswoistej u pacjentów z AD. Uznałam, że działanie preparatu może być niezwykle korzystne, ponieważ PRP jest uważany za obiecujący nutraceutyk mający na celu wzmocnienie układu odpornościowego.

Najważniejszym osiągnięciem było wykazanie, że stopień oporności PBLs izolowanych od pacjentów z AD na zakażenie VSV (poziom odporności wrodzonej) był ściśle związany ze stopniem zaawansowania klinicznego choroby Alzheimera. Diagnoza kliniczna została wykonana m.in. na podstawie wskaźników do oceny otępienia i demencji: MMSE (*Mini Mental State Examination*) oraz MoCA (*Montreal Cognitive Assessment*). Wykazałam, że pacjenci z rozpoznaniem poważnego zaawansowania AD (bardzo niska wartość MMSE oraz MoCA) charakteryzowali się większą wrażliwością PBLs na zakażenie VSV (średnie miano wirusa wynosiło $\geq 4 \log \text{TCID}_{50}$), natomiast pacjenci z umiarkowanym zaawansowaniem AD charakteryzowali się częściową opornością na zakażenie VSV (średnie miano wirusa $\geq 2 \log \text{TCID}_{50}$). Całkowitą oporność PBLs, czyli bardzo wysoki poziom odporności wrodzonej, zauważono wśród pacjentów z łagodną postacią AD. Postawiłam wtedy hipotezę, iż być może oporność PBLs należy uznać za obiecujący marker progresji AD. Dane literaturowe wskazywały bowiem, że stan aktywacji obwodowych komórek odpornościowych powinien być traktowany jako wczesny biomarker patologii mózgu a modulacja tych komórek może być również obiecującym narzędziem do modyfikowania progresji AD.

Dalej, badałam także odpowiedź komórek, czyli wytwarzanie cytokin: IL-1 β , IL-10, IFN- γ , TNF- α w zależności od ich wrażliwości na zakażenie VSV. Okazało się, że leukocyty izolowane od pacjentów z AD, które były całkowicie odporne na zakażenie VSV (średnie miano wirusa $\leq 1 \log \text{TCID}_{50}$), wytwarzały wyższy poziom cytokin pro- i antyzapalnych: TNF- α , IL-1 β i IL-10 w porównaniu z komórkami wrażliwymi, w których wirus namnażał się swobodnie osiągając miana dużo powyżej 2 log



TCID₅₀. Efekt ten zauważono także, gdy komórki te były niezakażone, hodowane przez 24 godziny (spontaniczne wytwarzanie cytokin). Co ciekawe w badaniu nie wykazano różnic w wytwarzaniu IFN- γ przez PBLs w zależności od wrażliwości komórek na zakażenie VSV, co było dość niespodziewanym efektem. Wtedy wiedziałam, że oporność PBLs na infekcję wirusową jest związana z zakażeniem przez wirus określonych subpopulacji leukocytów tj. monocytów oraz komórek dendrytycznych wywodzących się z monocytów, (MDDC), co wykazano chwilę wcześniej w badaniach naszego laboratorium¹⁹, a zatem obserwowany w tym badaniu poziom odpowiedzi immunologicznej PBLs u pacjentów z AD może być związany m.in. ze zmianami w składzie i funkcji leukocytów i/lub upośledzoną odpowiedzią na szkodliwe czynniki w związku ze starzeniem się układu odpornościowego.

Badanie wpływu PRP na mechanizmy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej u pacjentów z AD dostarczyło interesujących wyników, wskazując na możliwe korzystne działanie preparatu w terapii choroby. Preparat z PRP zastosowany w tym badaniu jest suplementem diety powszechnie zalecanym pacjentom z AD w celu poprawy funkcji poznawczych. Zastosowany preparat to kompleks peptydów o masach cząsteczkowych od około 15 do ponad 100 kDa. Większość z nich to białka o masie cząsteczkowej około 19, 28, 35 i 59 kDa. Po 4 tygodniach leczenia PRP (120 μ g PRP/dzień) obserwowany był wzrost oporności PBLs *ex vivo* na zakażenie VSV (wzrost poziomu oporności wrodzonej) u prawie wszystkich pacjentów lub utrzymanie już wysokiej oporności komórek. Ogólnie zaobserwowałam kompensację badanego mechanizmu odporności wrodzonej do równego, wysokiego poziomu (średnie miano wirusa < 2 log TCID₅₀) u wszystkich pacjentów po miesięcznym leczeniu preparatem PRP. Uznałam, że zjawisko to może być związane m.in. z wytwarzaniem cytokin przez PBLs oraz zmianami w składzie i funkcji leukocytów, ze względu na znajomość immunologicznych i ogólnych korzyści zdrowotnych siary ssaków. Okazało się jednak, iż wzrost oporności PBLs po terapii PRP nie koreluje ze zmianami w wytwarzaniu badanych cytokin pro- i antyzapalnych. Zaobserwowano jednak, co bardzo ważne, ogólny, statystycznie istotny spadek wytwarzania TNF- α , IL-1 β , IL-10 i IFN- γ przez PBLs pacjentów z AD po terapii PRP. Najbardziej wyraźny efekt zaobserwowano dla IL-1 β (odpowiednio: spadek spontanicznego wytwarzania o 34,2%, po indukcji VSV o ponad 52,8%) oraz dla IL-10 (odpowiednio: spadek spontanicznego wytwarzania o 71,2%, po indukcji VSV o 75,4%). Została zatem odpowiedź na pytanie: Czy działanie PRP może wynikać z wpływu preparatu na skład subpopulacji leukocytów jako możliwego mechanizmu wygaszania cytokin pro- i antyzapalnych oraz podniesienia poziomu oporności PBLs? Rzeczywiście, PRP wpływał na zmianę składu poszczególnych frakcji PBLs. Wykazałam, iż traktowanie leukocytów preparatem PRP obniżyło liczbę limfocytów i monocytów odpowiednio o około 8 i 6 punktów procentowych. Zwiększyło natomiast liczbę granulocytów średnio o 14 punktów procentowych.

W niniejszej pracy po raz pierwszy przedstawiono bardzo interesujące wyniki, które potwierdzają hipotezę o upośledzonej odpowiedzi immunologicznej wśród pacjentów z AD i wskazują na preparat zawierający kompleks polipeptydów bogatych w prolinę (PRP) jako możliwy, skuteczny środek mogący korzystnie modulować odpowiedź immunologiczną w tej grupie pacjentów. Istotną obserwacją jest również to, że możemy badać aktywację i odpowiedź obwodowych komórek odpornościowych, a następnie wyciągnąć wnioski na temat ich stanu i zdolności do generowania odpowiedzi zapalnej. W przebiegu AD szlaki zapalne generowane na obwodzie są zmienione w stosunku do osób kognitywnie zdrowych. Uważam, że odpowiedź obwodowych komórek odpornościowych tj. wytwarzanie markerów stanu zapalnego spontanicznie i po indukcji, lepiej odzwierciedla mechanizmy zapalne w porównaniu z pomiarem ilości tych czynników tylko w surowicy. Do surowicy bowiem codziennie przenika pewna ilość metabolitów z CUN, co wpływa na ostateczne



wyniki oznaczania markerów zapalnych. Co więcej, jak się uważa podwyższony poziom markerów stanu zapalnego nie utrzymuje się stale w osoczu pacjentów z AD.

Wyniki uzyskane w wyżej opisanym badaniu skłoniły mnie do podjęcia kolejnego kroku badawczego związanego z wyjaśnieniem, czy badane mechanizmy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej różnią się w zależności od płci pacjentów z AD. W literaturze naukowej brakowało pełnego zrozumienia roli komórek oraz obwodowej odpowiedzi immunologicznej w AD w odniesieniu do płci chorego. Tymczasem w przebiegu AD płeć pacjenta ma ogromne znaczenie, ponieważ pogarszanie się funkcji poznawczych i objawy kliniczne pojawiają się częściej u kobiet, które stanowią dwie trzecie wszystkich chorych z AD²⁰. Potwierdzono, że kobiety dotknięte AD mają widocznie większe dysfunkcje poznawcze niż mężczyźni na tym samym etapie choroby. Sugeruje się także, iż progresja choroby może być związana z obecnością i różnym nasileniem stanów zapalnych u mężczyzn i kobiet²¹. Mimo iż nasza wiedza na temat objawów i patologii AD wzrastała w ciągu ostatniej dekady, różnice między płciami dotyczące odpowiedzi immunologicznej obwodowych komórek odpornościowych nie były wcześniej badane. Podjęłam zatem próbę wyjaśnienia, czy istnieją różnice we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej obwodowych komórek odpornościowych między kobietami i mężczyznami dotkniętymi AD.

W publikacji: Sochocka M, Ochnik M, Sobczyński M, Orzechowska B, Leszek J. Sex Differences in Innate Immune Response of Peripheral Blood Leukocytes of Alzheimer's Disease Patients. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2022; 16;70(1):16 przedstawiono wyniki badań, które pozwoliły na wyciągnięcie interesujących wniosków dotyczących charakterystyki immunologicznej pacjentów z AD. Zauważyłam zmieniony wzór odpowiedzi immunologicznej PBLs u mężczyzn i kobiet z AD, w porównaniu do zdrowych, dobranych pod względem wieku kontroli. Po pierwsze zbadałam różnice między kobietami i mężczyznami określając poziom oporności PBLs ex vivo mierzony testem oporności leukocytów na zakażenie VSV. Wykazałam, że poziom ten u wszystkich uczestników badania (pacjenci z AD oraz zdrowi) wskazywał na niską oporność komórek na zakażenie VSV (niedobory oporności) - średnie miano wirusa wynosiło $> 2,4 \log \text{TCID}_{50}$. Zgodnie z moimi wcześniejszymi badaniami wiedziałam, że mechanizm oporności leukocytów na zakażenie wirusowe stopniowo spada wraz z wiekiem z powodu znacznego pogarszania się funkcjonowania zarówno oporności swoistej jak i nieswoistej u osób starszych (praca z cyklu: *Jatczak et al. Exp Gerontol*, 2012). Jednak, chociaż w tym badaniu wszyscy uczestnicy charakteryzowali się niedoborem oporności wrodzonej, różnice między płciami zaobserwowałam tylko w grupie pacjentów z AD. PBLs izolowane od kobiet z AD wykazywały dużo większą wrażliwość na zakażenie VSV – średnie miano wirusa wynosiło $2.99 \log \text{TCID}_{50}$ – w porównaniu do mężczyzn z AD u których komórki wykazywały większą oporność - wirus replikował się na średnim poziomie $1.70 \log \text{TCID}_{50}$. Rozpoczynając badania spodziewałam się, że oporność PBLs kobiet z AD może być obniżona w porównaniu z mężczyznami, ponieważ, jak wspomniałam częstość występowania AD jest wyższa u kobiet niż u mężczyzn i choroba przebiega u nich ciężiej²². Uzyskane rezultaty mogły także wynikać ze zróżnicowanego stanu zaawansowania choroby. W tym badaniu większość mężczyzn miała zdiagnozowaną łagodną postać AD, podczas gdy większość kobiet miała umiarkowaną lub zaawansowaną postać choroby, a jak wykazałam w poprzednim badaniu niska oporność PBLs na zakażenie VSV koreluje z nasileniem objawów klinicznych AD (praca z cyklu: *Sochocka et al. J Neuroinflamm*, 2019). Co ważne, kobiety z pierwotnym rozpoznaniem choroby są zwykle w gorszym stanie klinicznym, co może być również powodem, dla którego w tym badaniu wśród pacjentów z AD kobiety miały zdiagnozowaną bardziej zaawansowaną postać choroby niż mężczyźni.

Następnym krokiem było zbadanie różnic w odniesieniu do płci chorego pod względem wytwarzania markerów stanu zapalnego tj. cytokin: TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-10 oraz IFN- α , przez



niezakażone (niestymulowane) i zakażone VSV (stymulowane) PBLs izolowane od pacjentów z AD i osób z grupy kontrolnej. W przeciwieństwie do grupy kontrolnej, komórki pacjentów z AD charakteryzowały się zwiększonym poziomem spontanicznie wytwarzanych cytokin (PBLs niestymulowane, hodowane 24h). Różnice płciowe odnotowałam jednak tylko w grupie chorych. Leukocyty kobiet z AD uwalniały statystycznie mniej badanych cytokin w porównaniu z mężczyznami. Postawiłam hipotezę, iż obserwowane u chorych z AD nasilenie spontanicznego uwalniania cytokin zapalnych przez PBLs ex vivo może odzwierciedlać kondycję immunologiczną całego organizmu, czyli stale podniesiony poziom cytokin w krążeniu obwodowym. U osób dotkniętych AD prawdopodobnie trwale utrzymuje się nadmierna stymulacja odpowiedzi zapalnej, czyli przewlekły stan zapalny o niskim nasileniu, co jak się uważa może mieć związek z przewlekłymi infekcjami. W AD uporczywa aktywacja układu odpornościowego jest szczególnie szkodliwa, a podatność na utrzymywanie się przewlekłego stanu zapalnego może być różna u mężczyzn i kobiet z AD. Aby ustalić, jak wygląda wzorzec odpowiedzi immunologicznej stymulowanych PBLs, komórki zostały zakażone VSV. Leukocyty zdrowych kontroli reagowały kilkukrotnym wzrostem wytwarzania TNF- α , IFN- γ , IL-10 i IL-1 β w odpowiedzi na zakażenie wirusem, podczas gdy PBLs od pacjentów z AD reagowały niskim wzrostem wytwarzania TNF- α i IL-1 β oraz spadkiem wytwarzania IL-10, w porównaniu z niestymulowanymi PBLs. Różnice płciowe odnotowałam również tylko w grupie chorych z AD. Jednym z najbardziej zaskakujących, ale także interesujących wyników była obserwacja wytwarzania IFN- γ . Nie zauważyłam różnic płciowych w wytwarzaniu tej cytokiny przez PBLs zarówno spontanicznie jak i po zakażeniu VSV, ani w grupie chorych ani w grupie kontrolnej. Zauważyłam natomiast różnice między pacjentami z AD a grupą kontrolną. Niezakażone wirusem PBLs od pacjentów z AD uwalniały trzy razy więcej interferonu w porównaniu z grupą kontrolną. Zakażenie komórek pochodzących od pacjentów z AD nie spowodowało jednak stymulacji wytwarzania większych ilości IFN- γ , podczas gdy leukocyty osób z grupy kontrolnej reagowały wzrostem wytwarzania tej cytokiny (do poziomu obserwowanego u osób z AD). Ta charakterystyczna aktywność PBLs została przeze mnie zaobserwowana w poprzednim badaniu, dlatego tutaj postanowiłam bliżej przyjrzeć się odpowiedzi interferonowej leukocytów pacjentów z AD. Uznałam, iż prawdopodobnie PBLs pacjentów z AD wykazywały stałą nadprodukcję IFN- γ a jednocześnie nie były w stanie zwiększyć poziomu wytwarzania tej cytokiny po zakażeniu wirusem. W przypadku oznaczania poziomu IFN- α wykazałam, że infekcja VSV spowodowała wzrost wytwarzania IFN- α przez PBLs w obu grupach (spontanicznej produkcji nie odnotowałam, poziom niewykrywalny). Jednak PBLs od osób z grupy kontrolnej wytwarzały średnio ponad osiem razy więcej tej cytokiny niż leukocyty chorych. Podobnie jak w przypadku IFN- γ , PBLs od pacjentów z AD nie były w stanie uwolnić większych ilości IFN- α w odpowiedzi na infekcję wirusową. Może to wskazywać na zmieniony wzorzec odpowiedzi immunologicznej tj. stałą hiperstymulację (ang. *hyperinflammatory cells*) a jednocześnie immunologiczne wyczerpanie komórek, które nie są zdolne do wygenerowania silnej odpowiedzi przeciwwirusowej. Najnowsze badania na modelu mysim z AD dotyczące roli komórek odpornościowych w procesie neurodegeneracji pokazały, że wraz ze wzrostem ilości tau w mózgu komórki odpornościowe zaczęły wykazywać oznaki wyczerpania, dysfunkcyjnego stanu, w którym limfocyty T, które były chronicznie aktywowane, tracą swoje normalne zdolności. Mikroglej i chronicznie aktywowane limfocyty T uwalniały czynniki neurotoksyczne, prowadząc do śmierci neuronów i atrofii mózgu²³. Moje obserwacje mogą przynajmniej częściowo wynikać ze zmian hormonalnych obserwowanych u kobiet po menopauzie, u których spadek poziomu hormonów następuje szybciej niż u mężczyzn. Jednocześnie jest to związane w większym stopniu z nieprawidłowym przewlekłym ogólnoustrojowym stanem zapalnym o niskim stopniu nasilenia, o czym dyskutowałam w najnowszej pracy przeglądowej na temat związku między spadkiem funkcji



poznawczych a wczesną i przedwczesną menopauzą²⁴. Praca ta jest wstępem do moich planowanych, dalszych badań związanych z różnicami płciowymi w AD.

Równolegle z badaniami omówionymi powyżej prowadziłam kolejne duże badanie z udziałem pacjentów z AD, którego celem było określenie wpływu preparatu roślinnego – standaryzowanego ekstraktu z miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba*, EGb) na mechanizmy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej leukocytów krwi obwodowej.

W publikacji: **Sochocka M**, Ochnik M, Sobczyński M, Gębura K, Zambrowicz A, Naporowski P, Leszek J. *Ginkgo Biloba Leaf Extract Improves an Innate Immune Response of Peripheral Blood Leukocytes of Alzheimer's Disease Patients*. *Nutrients*, 2022; 14(10), 2022 przedstawiono wyniki badań prowadzone na leukocytach izolowanych od pacjentów z AD oraz osób z grupy kontrolnej odpowiednio dobranej wiekowo, dotyczące wpływu EGb na reakcje wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, tj. oporności PBLs na zakażenie VSV ex vivo oraz wytwarzanie cytokin pro- i antyzapalnych: IL-1 β , IL-10, IL-15, TNF- α oraz IFN- α i IFN- γ . Ponadto określiłam wpływ EGb na ekspresję genów związanych z odpowiedzią zapalną, tj.: *IRF-3*, *IRF-7*, *teteryna*, *SOCS1*, *SOCS3*, *NFKB1*, *p65* oraz *MxA*, które regulują nieswoistą przeciwwirusową odpowiedź immunologiczną oraz wytwarzanie cytokin.

Jedną z najpopularniejszych roślin leczniczych stosowanych w fitomedycynie starzenia jest miłorząb japoński - *Ginkgo biloba*. Preparat który wykorzystywałam w tym badaniu to suchy ekstrakt z liści *G. biloba* (GINKGONIS EXTRACTUM SICCUM RAFFINATUM ET QUANTIFICATUM [Ph. Eur. 8.0]) zgodny z Farmakopeą Europejską, standaryzowany na zawartość 22.0–27.0% flawonoidów w przeliczeniu na glikozydy flawonowe oraz 5.0–7.0% laktonów terpenowych takich jak ginkolidy A, B, C (2.8–3.4%) i bilobalid (2.6–3.2%). Ekstrakt zawierał mniej niż 5 ppm kwasów ginkolowych. Ekstrakt, jak wykazaliśmy, charakteryzował się także niezwykle wysokimi właściwościami przeciwutleniającymi oraz zdolnością wymiatania wolnych rodników (aktywność antyoksydacyjna). Wiadomo, iż potencjał terapeutyczny EGb przejawia się w korzystnym działaniu na układ krążenia (poprawa ukrwienia, zapobieganie powstawaniu zakrzepów, wzmocnienie ścian naczyń włosowatych) oraz układ nerwowy chroniąc komórki nerwowe przed uszkodzeniem. Składniki fitochemiczne z *G. biloba*, takie jak flawonoidy i terpenoidy, wykazują korzystne działanie w leczeniu trudności z koncentracją, zaburzeniami pamięci u zdrowych osób dorosłych, jak i u pacjentów z łagodnymi zaburzeniami poznawczymi (ang. *mild cognitive impairment*, MCI) lub otępieniem. Jednak w literaturze naukowej mniej uwagi i badań koncentrowało się na jego wpływie na funkcjonowanie układu odpornościowego u pacjentów dotkniętych AD.

W przedstawionym badaniu zauważyłam silne, korzystne działanie EGb na mechanizmy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. EGb w stężeniu całkowicie nietoksycznym dla żywych komórek - 150 $\mu\text{g/ml}$ - znacznie wzmacniał oporność PBLs na zakażenie wirusowe poprzez zmniejszenie replikacji VSV zarówno w komórkach pacjentów z AD, jak i osób z grupy kontrolnej. Najbardziej interesujące były jednak obserwacje dotyczące działania preparatu w zależności od płci badanego. Wykazałam, iż EGb najbardziej wzmacnia wrodzoną, przeciwwirusową odpowiedź immunologiczną PBLs izolowanych od kobiet cierpiących na AD. Te różnice płciowe w działaniu EGb nie były natomiast obserwowane w grupie kontrolnej. Uznałam, że EGb może być obiecującym preparatem stosowanym do poprawy odporności u pacjentów z AD, zwłaszcza u kobiet. Jest to istotne ze względu na fakt, że kobiety są częściej dotknięte chorobą oraz chorują ciężiej, o czym wspominałam wcześniej.

Oceniając wpływ EGb na wytwarzanie cytokin pro- i antyzapalnych przez PBLs wykazałam aktywność immunoregulacyjną ekstraktu. EGb istotnie zmniejszał wytwarzanie prozapalnego TNF- α i IFN- γ , jak również przeciwzapalnej IL-10 przez niezakażone jak i zakażone VSV PBLs pacjentów z AD i grupy kontrolnej. Jednocześnie zaobserwowałam, że EGb znacznie zwiększał wytwarzanie IL-15 i



nieznacznie zwiększał poziom IL-1 β w obu grupach badanych. Co ciekawe, efekt ten był bardziej wyraźny (statystycznie istotny) wśród pacjentów z AD. W niniejszym badaniu zbadano również wytwarzanie IFN- α przez PBLs. Niestety IFN- α nie był oceniany dla wszystkich uczestników badania dlatego ta analiza powinna być powtórzona, zwłaszcza na większej grupie badanych. Uzyskałam jednak interesujące obserwacje. Chociaż, jak podejrzewałam, nie było spontanicznego wydzielania IFN- α (poziom niewykrywalny), to po zakażeniu komórek VSV w obu grupach odpowiedziały one wytwarzaniem tej cytokiny. Natomiast po inkubacji z EGb wytwarzanie IFN- α spadło do niewykrywalnego poziomu u wszystkich pacjentów z AD, jak również w grupie kontrolnej. IFN- α był jedyną cytokiną tak silnie hamowaną przez działanie ekstraktu.

Wykazałam także, iż EGb w sposób istotny obniża ekspresję genów, które regulują nieswoistą przeciwwirusową odpowiedź immunologiczną oraz wytwarzanie cytokin, takich jak: geny czynników regulujących interferon (IRF): *IRF-3* i *IRF-7*, które są głównymi czynnikami transkrypcyjnymi regulującymi odpowiedź IFN typu I po zakażeniu wirusami RNA; stymulowane IFN geny przeciwwirusowe *MxA* i *teteryna*, krytyczne dla kontrolowania infekcji VSV; gen dla czynnika transkrypcyjnego *NFkB*, który pośredniczy w indukcji różnych genów prozapalnych we wrodzonych komórkach odpornościowych; i wreszcie *SOCS*, główne regulatory przeciwdrobnoustrojowej nieswoistej odpowiedzi immunologicznej.

Podsumowując, uważam, iż EGb może mieć korzystne właściwości zdrowotne u osób starszych i cierpiących na AD, zwłaszcza u kobiet dotkniętych tą chorobą. Płeć żeńska jest głównym czynnikiem ryzyka rozwoju AD o późnym początku (ang. *late-onset AD*), co sugeruje, że może mieć związek z przejściem menopauzy. Zaobserwowany korzystny wpływ EGb na wrodzoną odpowiedź immunologiczną/zwiększenie oporności PBLs na zakażenie VSV można przynajmniej częściowo wytłumaczyć jego aktywnością antyoksydacyjną i zróżnicowanym wpływem na wytwarzanie cytokin. Jak wspomniałam we wcześniejszym badaniu stan aktywacji obwodowych komórek odpornościowych może być dobrym biomarkerem patologii AD. Zatem poprawa ich aktywności poprzez stosowanie EGb jako preparatu towarzyszącego (leczenie wspomagające) głównej terapii pacjentów może być dobrym długoterminowym sposobem modyfikacji progresji choroby.

Uzyskane rezultaty wyżej zaprezentowanych badań i eksperymentów medycznych otwierają przede mną nowe kierunki badawcze. Po pierwsze, niezmiernie ważne jest, aby rozważyć płeć jako zmienną biologiczną w przebiegu AD, wyjaśnić dokładne mechanizmy, które leżą u podstaw zaobserwowanych przeze mnie zjawisk. Po drugie potwierdzić tezę o możliwej hiperstymulacji/wyczerpaniu komórek oraz określić, które komórki ulegają takiemu procesowi. Wszystko to umożliwi pogłębienie naszej wiedzy na temat mechanizmów immunologicznych patologii AD i może stanowić podstawę przyszłego spersonalizowanego leczenia pacjentów.

W tym roku otrzymałam grant z Narodowego Centrum Nauki (NCN) w ramach konkursu MINATURA 7 pt. *Ocena różnic w ekspresji genów regulujących odpowiedź immunologiczną u mężczyzn i kobiet z chorobą Alzheimera* (Decyzja-załącznik 16). Projekt ten zakłada dalsze badania nad zrozumieniem różnic dotyczących mechanizmów wrodzonej odpowiedzi immunologicznej u kobiet i mężczyzn z AD. W wymiarze badawczym oczekuję, że uzyskane w tym projekcie wyniki oraz wyniki przedstawione powyżej w pracach z cyklu osiągnięć mogły by być solidną podstawą (badania wstępne) do aplikowania o duży projekt badawczy, w którym chciałabym podjąć próbę wyjaśnienia dokładnych mechanizmów leżących u podstaw zaobserwowanej, różnej odpowiedzi immunologicznej obwodowych komórek odpornościowych u kobiet i mężczyzn z AD w tym hiperstymulacji oraz oznaczania markerów wyczerpania komórek. Ponadto, zgłębianie tego tematu chciałabym kontynuować w badaniach z wykorzystaniem modelu zwierzęcego. W tym celu niedawno odbyłam staż



w Katedrze Biologii Molekularnej Uniwersytetu Gdańskiego, w czasie którego szkoliłam się w zakresie testów behawioralnych, biochemicznych oraz immunologicznych wykonywanych na transgenicznych mysich modelach AD (Potwierdzenie-załącznik 18).

Rola czynników zakaźnych w patogenezie choroby Alzheimera

Wśród różnych, modyfikowalnych czynników ryzyka leżących u podstaw AD, infekcje, mogą odgrywać kluczową rolę. W ciągu ostatnich trzech dekad w literaturze naukowej pojawiały się sugestie, że czynniki zakaźne, takie jak bakterie, wirusy, grzyby i pierwotniaki, mogą mieć udział w rozwoju AD. Infekcje wywołują stan zapalny, co ma związek z „hipotezą zapalną AD”. Zapalenie jest złożoną biologiczną odpowiedzią układu odpornościowego na szkodliwe bodźce wywołane czynnikami chemicznymi, fizycznymi i biologicznymi. W przypadku AD stan zapalny w wyniku infekcji charakteryzuje się ostrą lub przewlekłą aktywacją rozregulowanej odpowiedzi immunologicznej gospodarza, a sygnały nie są ograniczone lokalnie, ale także mogą mieć potencjalne skutki ogólnoustrojowe. Kaskada molekularna, która łączy patogeny, ogólnoustrojowy stan zapalny oraz stan zapalny w mózgu nadal pozostaje niewyjaśniona. Nie powiązano także bezpośrednio żadnego, konkretnego patogenu z AD. Jednak w ciągu ostatniej dekady kilka badań udokumentowało możliwy udział infekcji obwodowych i rolę obwodowej aktywacji immunologicznej w progresji patologii AD²⁵.

Realizując badania dotyczące roli obwodowych komórek odpornościowych i wrodzonej odpowiedzi immunologicznej u pacjentów z AD równolegle prowadziłam także prace skupiające się na roli czynników zakaźnych, infekcji oraz związanej z tym aktywacji obwodowych komórek odpornościowych. Czynniki zakaźne oraz przewlekła prozapalna aktywność immunologiczna uznawane są obecnie za kluczowy składnik zaburzeń neurodegeneracyjnych, w tym wszystkich rodzajów demencji. Rezultaty badań, które prowadziłam kilka lat temu a przedstawione poniżej również przyczyniły się do weryfikacji obecnie przyjętych teorii na temat przewlekłych infekcji w patogenezie AD. Moje badania dotyczyły choroby zapalnej przyzębia (paradontozy), wywoływanej przez bakterie patogenne bytujące w kieszonkach zębowych (periopatogeny) oraz wirusów z rodziny *Herpesviridae*.

Ze względu na pojawiające się sugestie o związku między złym stanem zdrowia jamy ustnej a funkcjonowaniem układu nerwowego i mózgu, podjęłam badania mające na celu wykazanie czy obciążenie paradontozą u pacjentów z AD wpływa na funkcje poznawcze oraz odpowiedź immunologiczną obwodowych komórek odpornościowych. Sugestia dotycząca związku paradontozy i AD jest związana z tym, że jama ustna i mózg są anatomicznie blisko położone, co jak się uważa może ułatwiać translokację patogenów oraz rozprzestrzenienie się stanu zapalnego do mózgu.

W publikacji: Sochocka M, Sobczyński M, Sender-Janeczek A, Zwolińska K, Błachowicz O, Tomczyk T, Ziętek M, Leszek J. Association between periodontal health status and cognitive abilities. The role of cytokine profile and systemic inflammation. *Current Alzheimer Research*, 2017;14(9):978-990 przedstawiono wyniki badań, których celem było ustalenie, czy paradontoza (ang. *periodontal disease, periodontitis*, PeD) i zdolności poznawcze są skorelowane ze względnymi zmianami poziomu cytokin pro- i antyzapalnych wytwarzanych przez niestymulowane oraz stymulowane przez LPS (pochodzący z *Escherichia coli*, LPS-EC) leukocyty krwi obwodowej (PBLs) ex vivo pacjentów z AD, jako odzwierciedlenie ogólnoustrojowego stanu zapalnego. Postawiłam hipotezę, że możliwym powiązaniem między tymi stanami może być związane z nimi zwiększone ogólnoustrojowe obciążenie stanem zapalnym.

Stan upośledzenia funkcji poznawczych mierzony był m.in. testem MMSE (*Mini Mental State Examination*) służącym do oceny otępień (demencji), natomiast nasilenie stanu zapalnego przyzębia



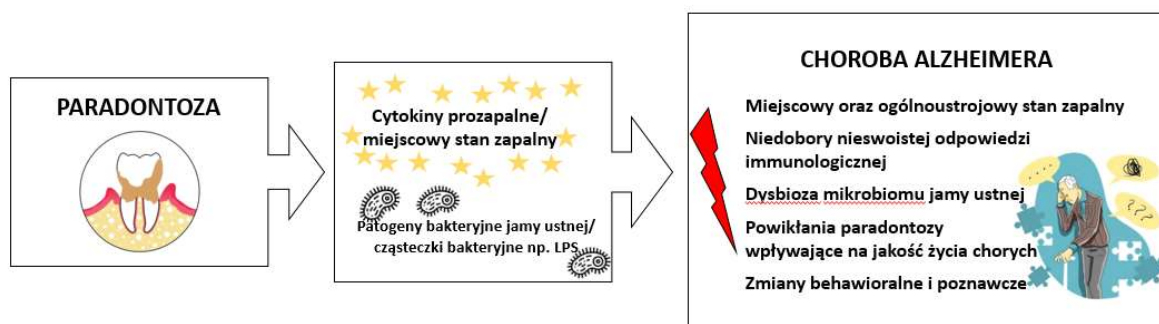
oceniono m.in. przy pomocy wskaźnika BoP (*Bleeding on Probing*), który służy do monitorowania chorób przyzębia. W dużym badaniu obejmującym 128 osób wykazałam, że u pacjentów z AD średni poziom wszystkich badanych cytokin tj.: IL-1 β , IL-6, IL-10 i TNF- α , wytwarzanych przez niestymulowane oraz stymulowane LPS-EC PBLs ex vivo, wzrastał odpowiednio: (*) wraz ze wzrostem wskaźnika BoP, co wiązało się z gorszym stanem zapalnym przyzębia, oraz (***) wraz ze spadkiem wyniku w skali MMSE, co oznaczało pogorszenie funkcji poznawczych i demencję. Uzyskane wyniki były dobrym punktem wyjścia do pogłębionej analizy tego problemu badawczego. W dalszych rozważaniach wzięłam pod uwagę wszystkie cytokiny razem z interakcjami pomiędzy nimi i zbadałam związek między stanem zapalnym a zaburzeniami funkcji poznawczych i stanem zdrowia przyzębia. Aby odpowiedzieć na pytanie - Czy istnieje związek między tak odległymi od siebie parametrami? - zastosowana została kompleksowa analiza statystyczna. Pomiary w testach MMSE i BoP zostały połączone w jedną wartość (U) z określoną funkcją a jej wynik oznaczał nasilenie określonego stanu, który został określony jako „Stan upośledzenia funkcji poznawczych i parametrów przyzębia (*Cognitive and periodontal impairment state*)”. Podobnie, poziomy badanych cytokin połączono w jedną funkcję (V), której wartość określono jako „Poziom stanu zapalnego” (*Inflammatory state*). Wyniki tych badań pokazały, że współwystępowanie AD (spadek punktów w skali MMSE) oraz paradontozy (wysokie wartości BoP) prowadzi do większego ogólnoustrojowego stanu zapalnego - zwiększone wytwarzanie cytokin przez PBLs - w porównaniu z występowaniem tylko jednego z tych schorzeń. W ten sposób potwierdziłam wcześniej postawioną hipotezę, że mediatory zapalne generowane w przebiegu paradontozy mogą przyczyniać się i/lub zaostrzać przebieg AD oraz stanowić czynnik ryzyka związany z wystąpieniem choroby. Wyniki tych badań są istotne z punktu widzenia lepszego zrozumienia mechanizmów zaangażowanych w patogenezę chorób neurozapalnych, takich jak AD. Wciąż stymulowane przewlekłą chorobą zapalną obwodowe komórki immunologiczne mogą przedostawać się do mózgu przez nieszczelną BBB gdzie stanowią dodatkowe źródło mediatorów stanu zapalnego a także mogą stymulować komórki głojowe do syntezy cząsteczek prozapalnych. Zaprezentowane rezultaty badań przyczyniły się do powstania teorii, obecnie intensywnie dyskutowanej w literaturze naukowej, że PeD może przyczyniać się do rozwoju AD (przedstawiona publikacja pojawiła się już w niektórych metaanalizach). Częstość występowania PeD wśród pacjentów z AD jest wyższa niż w ogólnej populacji osób starszych a wieloletnia ekspozycja na PeD wiąże się z bardzo dużym wzrostem ryzyka rozwoju AD^{26,27}. Osoby które doświadczają silnego ogólnoustrojowego stanu zapalnego, są bardziej narażone na pogorszenie funkcji poznawczych w kolejnych latach życia²⁸. W swoich badaniach potwierdziłam, że paradontoza jest ważnym źródłem ogólnoustrojowych cząsteczek zapalnych, które powodują lub sprzyjają przewlekłym ogólnoustrojowym chorobom o komponentie zapalnym takim jak AD. Dlatego uważam, że uzasadnione jest traktowanie higieny jamy ustnej i chorób przyzębia jako modyfikowalnego czynnika ryzyka zaburzeń poznawczych i otępienia, a wczesne leczenie zapalenia przyzębia może ograniczyć nasilenie i progresję deficytów poznawczych. Obecnie brak jest ustalonych schematów terapeutycznych dla PeD u pacjentów z AD, co oznacza, że choroba ta nie jest traktowana jako cel w postępowaniu z pacjentami z AD.

Pojawiające się w literaturze nowe dane eksperymentalne na temat roli PeD w patogenezie AD oraz prowadzone równoległe własne badania skłoniły mnie do przygotowania gruntownego przeglądu wiedzy i zaproponowania własnego poglądu na temat możliwych powiązań obu chorób.

W publikacji: **Sochocka M, Zwolińska K, Leszek J. The infectious etiology of Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology*, 2017; 15(7):996-1009** zebrane zostały dane dotyczące czynników zakaźnych oraz infekcji a także przewlekłego stanu zapalnego jako możliwych czynników ryzyka AD. Omówione zostały strategie profilaktyczne i terapeutyczne AD w kontekście zakaźnej etiologii choroby.

Teoria zakładająca udział mikroorganizmów w AD krążyła od pewnego czasu wokół badań dotyczących przyczyn i rozwoju choroby. W publikacji podkreśliłam, że ze względu na wieloczynnikowy charakter AD utajone infekcje nie powinny być pomijane wśród czynników zewnętrznych, potencjalnie odgrywających rolę w jej patogenezie. Infekcje niektórymi mikroorganizmami, takimi jak wirusy czy bakterie, mogą być związane ze spadkiem funkcji poznawczych. Drobnoustroje mogą przedostawać się do mózgu poprzez osłabioną barierę krew-mózg (BBB) i tam bezpośrednio indukować powstawanie patologii podobnej do AD. Uszkodzenie tkanki mózgowej podczas infekcji powoduje bowiem uwolnienie mediatorów stanu zapalnego i aktywację nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, głównie komórek mikrogleju, a także produkcji cytokin niezbędnych do eliminacji inwazyjnych patogenów. Ostra odpowiedź neurozapalna jest korzystna, prowadzi do naprawy uszkodzonego obszaru i pomaga przywrócić homeostazę mózgu. Jeśli jednak odpowiedź zapalna jest niekontrolowana, przewlekła, prowadząca do długotrwałej aktywacji mikrogleju, który uwalnia mediatory prozapalne i zwiększa stres oksydacyjny, to w konsekwencji utrwała cykl zapalny, który jest podłożem zmian neurodegeneracyjnych. Mikroorganizmy mogą działać także pośrednio, poprzez nadmierne stymulowanie obwodowego układu odpornościowego, prowadząc do przewlekłej odpowiedzi zapalnej, która może napędzać pewne zmiany neurodegeneracyjne w mózgu. Ponadto silna odpowiedź zapalna na obwodzie spowodowana infekcją prowadzi do napływu leukocytów obwodowych (limfocytów T, makrofagów i neutrofilii) do CUN, które stają się kolejnym źródłem czynników zapalnych w mózgu. W przedstawionej publikacji szczególną uwagę poświęciłam: ludzkiemu herpeswirusowi typu 1 (human herpesvirus 1, HHV-1) oraz bakteriom wywołującym paradontozę.

Paradontoza (PeD) to najczęstsza choroba zapalna jamy ustnej o podłożu zakaźnym. PeD to stan, który powoduje zapalenie i zniszczenie dziąseł, kości wyrostka zębodołowego oraz innych struktur podtrzymujących zęby. W PeD dziąsło cofa się z zębów, tworząc kieszonki, przez które patogeny przyzębia mogą łatwo przedostać się do krwioobiegu. Bakteriemia w jamie ustnej wywołuje miejscowe, ale także ogólnoustrojowe reakcje zapalne, powodując uszkodzenie odległych tkanek lub układów narządów, w tym mózgu. Większa przepuszczalność BBB ułatwia transport obwodowych komórek odpornościowych do mózgu i odwrotnie, dzięki czemu stan zapalny na obwodzie może przyczynić się do rozwoju/wzmocnienia stanu zapalnego w mózgu i rozwoju jawnej klinicznej postaci AD. PeD występuje powszechnie u osób starszych ze względu na zaniedbania w higienie jamy ustnej. PeD może być także głównym źródłem trwałej, łagodnej aktywacji zapalnej spowodowanej produktami toksycznymi bakterii (Rycina 2), co nasz zespół również potwierdził w przedstawionej wcześniej publikacji.



Ryc. 2 Mechanistyczny model wyjaśniający możliwe powiązanie między paradontozą a chorobą Alzheimera.



HHV-1 należący do rodziny *Herpesviridae*, to patogen, którego DNA było znajdowane w dużej części mózgow pacjentów z AD. Ponadto opryszczkowe zapalenie mózgu (ang. *herpes simplex encephalitis*, HSE), które może wywołać HHV-1, obejmuje te same rejony mózgu, które dotknięte są zmianami neurodegeneracyjnymi w przebiegu AD. Sugestie literaturowe wskazywały na to, że nawracające reaktywacje HHV-1, nasilające się z wiekiem, gdy dysfunkcje układu odpornościowego są coraz poważniejsze, mogą ułatwiać przemieszczanie się wirusa z pierwotnego miejsca bytowania (nerw trójdzielny) do mózgu i aktywację tam procesu neurozapalnego, co z kolei może prowadzić do AD. Potwierdzenie, że czynniki zakaźne mogą odgrywać ważną rolę w patogenezie AD oraz wskazanie, które z nich dokładnie są związane z patogenezą choroby, stwarza nowe możliwości terapii przeciwzapalnej. Zrozumienie powiązań między AD a infekcjami otwiera bowiem możliwości wczesnej diagnozy, kontrolowania oraz identyfikacji nowych celów leczenia choroby.

Jak wspomniałam wcześniej, wśród patogenów podejrzewanych o udział w AD wymienia się przede wszystkim wirusy z rodziny *Herpesviridae*, zwłaszcza herpeswirusa typu 1 (HHV-1). Obecnie brak jest szczepionki przeciwko HHV-1 a dostępne leki przeciwherpesowe, takie jak acyklowir, walacyklowir, cydofowir lub pencyklowir mają jednak wady np. stosunkowo szybko pojawiającą się oporność u pacjentów z obniżoną odpornością i ryzyko wywołania zakażeń lekoopornych. Ponadto leki te mogą powodować liczne skutki uboczne²⁹. Dlatego od dawna konieczne stało się poszukiwanie nowych preparatów, które mogłyby skutecznie ograniczać rozwój infekcji HHV-1 a tym samym ryzyko transmisji wirusa do CUN. Uznałam, że najbardziej obiecujące mogą być substancje pochodzenia naturalnego jako alternatywa dla dostępnych na rynku preparatów syntetycznych, ponieważ rośliny oferują bogactwo związków o aktywności przeciwwirusowej.

W publikacji: Sochocka M, Sobczyński M, Ochnik M, Zwolińska K, Leszek J. Hampering Herpesviruses HHV-1 and HHV-2 Infection by Extract of Ginkgo biloba (EGb) and Its Phytochemical Constituents. *Frontiers in Microbiology*, 2019; 15,10:2367 przedstawiono wyniki badań aktywności przeciwwirusowej ekstraktu z miłorzębu japońskiego, *Ginkgo biloba* (EGb) przeciwko herpeswirusom HHV-1 (human herpesvirus 1) i HHV-2 (human herpesvirus 2). Ponadto przeanalizowano skuteczność pełnego EGb oraz jego pojedynczych składników w zmniejszaniu zakaźności HHV-1 i HHV-2.

Udowodnione naukowo działanie EGb związane jest z korzystnym wpływem na CUN oraz układ sercowo-naczyniowy, dlatego leki zawierające ten ekstrakt szeroko stosowane są w chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona czy AD. Brakowało jednak jakichkolwiek danych wykazujących na działanie przeciwwirusowe EGb wobec herpeswirusów HHV-1 i HHV-2. Preparat który wykorzystałam do badań to suchy ekstrakt z liści *G. biloba* (GINKGONIS EXTRACTUM SICCUM RAFFINATUM ET QUANTIFICATUM [Ph. Eur. 8.0]) zgodny z Farmakopeą Europejską, standaryzowany na zawartość 22.0–27.0% flawonoidów w przeliczeniu na glikozydy flawonowe oraz 5.0–7.0% laktonów terpenowych takich jak ginkolidy A, B, C (2.8–3.4%) i bilobalid (2.6–3.2%). Ekstrakt zawierał mniej niż 5 ppm kwasów ginkolowych. Dostępność oraz znany, określony skład preparatu to jego duża zaleta. Nadrzędnym celem moich badań było określenie czy EGb ma potencjał środka profilaktycznego lub terapeutycznego przeciwko HHV-1 i HHV-2. Czy będzie go można zastosować w zapobieganiu początkowej infekcji lub rozprzestrzenianiu się wirusa z komórki do komórki bez działania toksycznego względem zakażonej komórki gospodarza? Jak się okazało EGb w stężeniach całkowicie nietoksycznych oddziaływał na wirusy przed adsorpcją na powierzchni komórki, poprzez bezpośrednią inaktywację wolnych wirionów. Aktywność ta była obserwowana w bardzo krótkim czasie od zastosowania (30 min) i rosła wraz z czasem inkubacji (do 120 min). Ponieważ wejście wirusa do komórki docelowej jest ważnym krokiem w wirusowym cyklu replikacyjnym, zablokowanie tego mechanizmu może ograniczyć początkową infekcję i prowadzić do zahamowania zakaźności HHV-1 i HHV-2, co może zapewnić



skuteczną strategię przeciwwirusową. EGb działa poprzez wychwytywanie cząstek wirusowych, ingerencję w otoczkę, białka i/lub strukturę genomu wirusa. Co ciekawe, w badaniach tych wykazałam, że ekstrakt działał specyficznie tylko na wirusy DNA, otoczkowe, tj. HHV-1 i HHV-2, nie wykazywał natomiast aktywności przeciwwirusowej wobec innych testowanych wirusów o odmiennej budowie i należących do różnych grup taksonomicznych. Kolejne pytanie badawcze naturalnie dotyczyło tego, które fitochemiczne składniki EGb – flawonoidy czy terpeny – były odpowiedzialne za przeciwwirusowe działanie EGb. Wykorzystując do badań komercyjnie dostępne mieszanki: flawonoidów z *G. biloba*: kemferolu, kwercetyny i izorhamnetyny oraz laktonów terpenowych z *G. biloba*: bilobalidu, ginkgolidu A, ginkgolidu B, ginkgolidu C, ginkgolidu J wykazałam że za aktywność anty-HHV-1 i anty-HHV-2 odpowiadają flawonoidy, a nie terpeny. Niemniej jednak w analizie porównawczej zaobserwowana aktywność przeciwwirusowa pełnego ekstraktu była zdecydowanie wyższa niż mieszaniny flawonoidów. Aby odpowiedzieć na pytanie, który z flawonoidów odpowiada za aktywność przeciwherpesową wykonałam testy porównawcze głównych składników mieszanki tj. kemferolu, kwercetyny i izorhamnetyny. Co ciekawe, wykazałam, że tylko izorhamnetyna silnie inaktywuje wolne cząstki HHV-1 i HHV-2. Dane literaturowe na temat aktywności przeciwwirusowej tego związku były wcześniej mocno ograniczone wskazując tylko na działanie przeciw wirusowi ludzkiej grypy. Wyniki uzyskane z izoramnetyną i EGb pozwoliły na postawienie pytania: Który z tych preparatów jest bardziej skuteczny w zmniejszaniu zakaźności wirusów opryszczki? To skłoniło mnie do porównania działania przeciwwirusowego obu preparatów w odpowiadających sobie stężeniach. Analiza dała interesujące wyniki wskazujące, że aktywność EGb wobec HHV-1 i HHV-2 była znacznie wyższa w porównaniu z izoramnetyną. Ponadto EGb wykazywał zdecydowanie niższą toksyczność. Te cechy EGb pozwalały uznać go za obiecujący preparat, który może wspomóc obecne terapie opryszczki, zwłaszcza w leczeniu dolegliwości skórnych podczas nawracających infekcji. Kombinacja środków przeciwwirusowych o różnych celach molekularnych, w tym EGb, może potencjalnie ograniczyć replikację HHV-1 i HHV-2 do minimum.

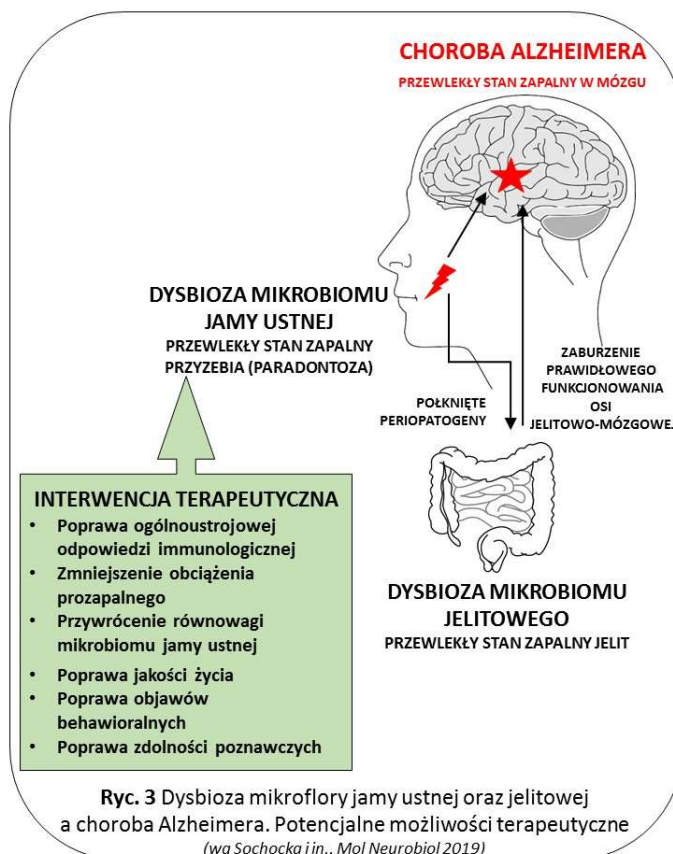
Obecnie prowadzę dalsze badania zgłębiające tematykę dotyczącą ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej towarzyszącej paradontozie, która może z kolei przyczyniać się do postępu AD. Rezultaty badań nie są jeszcze opublikowane a skupiają się m.in. na pogłębionej diagnostyce pacjentów z AD, z oznaczaniem szerokiego panelu ogólnoustrojowych markerów stanu zapalnego, badaniu aktywacji komórek immunologicznych w odpowiedzi na LPS periopatogenu jakim jest *Porphyromonas gingivalis* (LPS-PG) oraz analizie składu mikrobiomu jamy ustnej u pacjentów z AD obciążonych PeD. Z tego względu już w trakcie realizacji badań zdecydowałam się na przygotowanie jeszcze jednej pracy przeglądowej typu „critical review”, w której dyskutowałam na temat tego czy PeD może prowadzić do dysbiozy mikroflory jamy ustnej a w konsekwencji także mikrobiomu jelitowego, co może prowadzić do AD oraz jak ważna jest wczesna diagnostyka i leczenie tej choroby zakaźnej.

W publikacji: Sochocka M, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, Kurpas D, Brzozowska E, Leszek J. The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review. *Molecular Neurobiology*, 2019; 56:1841-1851 przede wszystkim zwróciłam uwagę na związane z wiekiem zmiany odpowiedzi zapalnej w CUN oraz rolę infekcji miejscowych (w mózgu) i obwodowych. W zdrowym mózgu prawidłowe funkcjonowanie nieswoistej odpowiedzi immunologicznej skutkuje stałym klirensiem A β i eliminacją patogenów zarówno w przypadku pierwotnej infekcji jak i reaktywacji infekcji latentnych. Uważa się bowiem, że wytwarzanie A β jest związane z odpowiedzią przeciwdrobnoustrojową - A β działa jako peptyd przeciwdrobnoustrojowy (ang. *antimicrobial peptide*, AMP). Możemy sobie zatem wyobrazić, że A β jest wytwarzany w odpowiedzi na każdą nową infekcję (przejście drobnoustrojów z obwodu do mózgu) lub reaktywację

drobnoustrojów z utajonej infekcji, które okresowo wpływają na mózg. Jednak starzenie się prowadzi do spadku nadzoru immunologicznego i zmniejszenia aktywności fagocytarnej komórek mikrogleju. W konsekwencji nadprodukcja/nadmierne wytwarzanie A β prowadzi do nadmiernego odkładanie się peptydu z utratą i/lub ograniczoną zdolnością przeciwdrobnoustrojową, jak również różnorodne drobnoustroje i ich produkty (np. LPS) infekujące lub naciekające do mózgu z obwodu, inicjują kaskadę przewlekłych reakcji neurozapalnych i zmian neurodegeneracyjnych, które mogą powodować AD.

Zmiany mikroflory jelitowej mogą wynikać z narażenia na czynniki związane ze stylem życia lub środowiskiem, ale także z narażenia na patogeny. Największy potencjał wywoływania dysbiozy mikrobiologicznej mają patogeny jelitowe. Jednak mikrobiom jelitowy jest także powiązany z mikroflorą jamy ustnej, zarówno pod względem różnorodności, jak i składu. Połykana ślina osób z zapaleniem przyzębia zawiera duże ilości bakterii, co może skutkować zmianami w składzie mikroflory jelitowej, a także zmianami zapalnymi w różnych tkankach i narządach, w tym w tkance mózgowej. Zapalenie przyzębia może się rozszerzać, powodując zmiany w mikroflorze jelitowej, a następnie nasilać ogólnoustrojową odpowiedź zapalną gospodarza (Rycina 3).

Dysbioza mikroflory jelitowej prowadzi do zwiększonej przepuszczalności barier jelitowych i bariery mózgowej - BBB, co skutkuje zwiększoną penetracją produktów pochodzących z drobnoustrojów jelitowych, m.in. LPS-ów, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ang. *short-chain fatty acids*, SCFA) czy amyloidów, z krwi do mózgu. Nie ulega jednak wątpliwości, że wpływ mikrobiomu na funkcjonowanie mózgu nie jest prostą sumą całego spektrum wszystkich metabolitów wytwarzanych przez bakterie, ponieważ kluczową rolę odgrywają różne zdolności tych metabolitów do penetracji poprzez BBB. Metabolity wytwarzane przez mikroflorę jelitową mogą bezpośrednio lub pośrednio wpływać na funkcjonowanie mózgu, ponieważ produkty te stanowią dużą klasę bardzo silnych prozapalnych aktywatorów dopełniacza oraz odporności nieswoistej, które mają ogromny potencjał indukowania cytokin prozapalnych, aktywacji dopełniacza i zmienionej immunogenności w mózgu. Takie patogenne działanie wzmacnia agregację A β w mózgu i znacznie nasila reakcje zapalne. Zarówno białka amyloidowe, jak i LPS-y są silnymi aktywatorami receptorów końcowych produktów zaawansowanej glikacji (ang. *receptors for advanced glycation end products*, RAGE) i TLR, a koaktywacja tych receptorów wzmacnia sygnalizację stanu zapalnego, będąc ważną siłą napędową utrzymującego się przewlekłego stanu zapalnego w AD. W naszej opinii nie ulega wątpliwości, że u pacjentów z AD próby przywrócenia mikrobiomu jamy ustnej oraz mikrobiomu jelitowego do składu przypominającego ten występujący u zdrowych dorosłych ludzi mogą znacznie spowolnić postęp neurodegeneracji poprzez obniżenie poziomu reakcji zapalnych i/lub amyloidogenezy. Jedną z interwencji terapeutycznych w AD, która





potencjalnie może poprawić ogólnoustrojowe markery stanu zapalnego, poprawić dysbiozę jamy ustnej i zmienić trajektorię pogorszenia funkcji poznawczych, jest leczenie przewlekłego stanu zapalnego przyzębia - paradontozy (Rycina 3).

Temat ten jest obecnie przedmiotem moich dalszych badań naukowych oraz starań grantowych. Jako promotor pomocniczy w pracy doktorskiej mgr inż. Michała Ochnika nadzoruję badania dotyczące odpowiedzi immunologicznej *ex vivo* leukocytów krwi obwodowej (PBLs) na LPS z *Porphyromonas gingivalis* (LPS-PG) u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz przewlekłym stanem zapalnym przyzębia. Ponadto, projekt planujący duże badanie obserwacyjne (observational study) pt.: „*Oral health: A window to improve systemic immune response in AD patients*” został przeze mnie złożony w konkursie Alzheimer’s Association Research Grant (AARG) w marcu (I etap) i w maju (II etap) 2023 r. (Wniosek-załącznik 15). Planowane badania realizowane byłyby we współpracy z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu oraz Breno Satler Dinizem (MD, PhD) z Uniwersytetu Connecticut (USA) w UConn Center on Aging, Department of Psychiatry, School of Medicine. W ramach pogłębiania wiedzy na temat związku między zdrowiem jamy ustnej a chorobą Alzheimera w dniach 13-14 czerwca 2023 r. wzięłam czynny udział w warsztatach organizowanych przez National Institute on Aging (NIA) – *The NIA Oral Health and Alzheimer’s and Related Dementias Workshop*. Warsztaty miały na celu zwrócenia uwagi na bieżące badania w tej dziedzinie (m.in. epidemiologia, mechanizmy, rola mikrobiomu), wskazanie luk i wyzwań oraz określenie priorytetów dla przyszłych badań w tej dziedzinie (Potwierdzenie uczestnictwa-załącznik 19).

Podsumowanie najważniejszych osiągnięć

1. Wśród mechanizmów wrodzonej (nieswoistej) odpowiedzi immunologicznej oporność ludzkich leukocytów krwi obwodowej (*peripheral blood leukocytes*, PBLs) *ex vivo* na infekcję wirusową (vesicular stomatitis virus, VSV) jest zależna od wieku oraz stanu zdrowia. Zmniejszenie oporności leukocytów, czyli reakcji która jest dobrym wskaźnikiem poziomu wrodzonej odporności organizmu, zaobserwowano u osób starszych jak i obciążonych chorobą Alzheimera (*Alzheimer’s disease*, AD). U tych pacjentów wraz ze zmianą oporności PBLs na zakażenie VSV zmienia się także odpowiedź cytokinowa komórek - spontaniczne oraz indukowane VSV uwalnianie interferonów oraz TNF- α .
2. Po raz pierwszy wykazano, że stopień oporności PBLs na zakażenie VSV jest skorelowany ze stopniem zaawansowania klinicznego AD mierzonego na podstawie wskaźników neuropsychiatrycznych do oceny otępienia i demencji tj. MMSE i MoCA. Wrażliwość PBLs na zakażenie VSV zwiększa się u pacjentów z AD od łagodnej przez umiarkowaną do zaawansowanej postaci choroby. Oznacza to pogłębiające się niedobory wrodzonej odporności i wskazuje, że oporność PBLs można uznać za obiecujący marker progresji AD. Wykazano istotne różnice w wytwarzaniu cytokin przez komórki wrażliwe i odporne na zakażenie VSV, co również wskazuje na upośledzenie wrodzonych mechanizmów odpornościowych u pacjentów z AD.
3. Terapia preparatem zawierającym kompleks polipeptydów bogatych w prolinę (*proline-rich polipeptide*, PRP) wzmacnia wrodzoną odpowiedź immunologiczną PBLs i zmniejsza wytwarzanie cytokin pro- i antyzapalnych a tym samym redukuje prozapalną aktywność leukocytów, zwłaszcza u pacjentów z zaawansowaną postacią AD. Korzystnie dla preparatu udowodniono, że PRP nie wykazuje aktywności pro-proliferacyjnej. Wykazano jednak, że mechanizm działania preparatu może mieć związek z wpływem na skład subpopulacji PBLs. PRP obniża ogólną liczbę limfocytów i monocytów a zwiększa ilość granulocytów. Powyższe odkrycia mogą mieć kluczowe znaczenie w



kontekście potencjalnego zastosowania terapii immunomodulującej u pacjentów z AD i wskazują na PRP jako obiecujący preparat w przyszłych terapiach chorób neurozapalnych, takich jak AD.

4. Udowodniono, że płeć pacjenta ma istotne znaczenie w ocenie aktywności PBLs u pacjentów z AD. Leukocyty kobiet chorujących na AD są bardziej wrażliwe na zakażenie VSV, oporność PBLs jest niska lub jej brak, co oznacza niski poziom wrodzonej odpowiedzi odpornościowej, i wytwarzają mniejsze ilości cytokin (zarówno spontanicznie jak i po indukcji wirusem) w porównaniu z mężczyznami z AD. Płeć nie ma znaczenia w ocenie aktywności PBLs wśród osób zdrowych w tej samej grupie wiekowej. Znaczenie płci w kontekście immunologicznej aktywności komórek nigdy wcześniej nie było badane.
5. Wykazano, że niestymulowane PBLs od pacjentów z AD uwalniają trzy razy więcej IFN- γ w porównaniu z osobami zdrowymi (spontaniczne wytwarzanie). Stymulacja komórek wirusem nie powoduje zwiększonego wytwarzania IFN- γ u osób z AD, podczas gdy leukocyty zdrowych, starszych osób odpowiadają wzrostem poziomu tej cytokiny. Podobnie jak w przypadku IFN- γ , PBLs od pacjentów z AD nie uwalniają większych ilości IFN- α w odpowiedzi na infekcję wirusową w porównaniu do starszych osób zdrowych. Odkrycia te mają bardzo istotne znaczenie, ponieważ mogą wskazywać na zmieniony wzorzec odpowiedzi immunologicznej tj. z jednej strony hiperstymulację komórek, czyli stałe wytwarzanie pewnej ilości cytokin prozapalnych (*hiperinflammatory cells*) a z drugiej immunologiczne wyczerpanie komórek, które nie są zdolne do wygenerowania silnej reakcji w odpowiedzi na patogen.
6. U osób dotkniętych AD prawdopodobnie trwale utrzymuje się nadmierna stymulacja odpowiedzi zapalnej obwodowych komórek odpornościowych, czyli przewlekły stan zapalny o niskim nasileniu, co jak się uważa może mieć związek z przewlekłymi infekcjami w organizmie. Odkrycie różnic płciowych wskazuje na to, że należy rozważyć płeć jako zmienną biologiczną w przebiegu AD, ponieważ może to być w przyszłości podstawą spersonalizowanego leczenia chorych z AD. Badania będą obecnie kontynuowane w ramach otrzymanego grantu NCN MINIATURA 7/2023-2024.
7. Wykazano korzystny wpływ standaryzowanego ekstraktu z miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba*, EGb) na aktywność PBLs u pacjentów z AD jak i osób starszych w tej samej grupie wiekowej. EGb zdecydowanie podnosi poziom wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Co ważne, najsilniejszy efekt działania preparatu zauważono u kobiet dotkniętych AD. Różnic płciowych w aktywności EGb nie wykazano wśród osób starszych, zdrowych. Wykazano aktywność immunoregulacyjną ekstraktu w badaniach wpływu na wytwarzanie cytokin pro- i antyzapalnych. Efekt działania EGb był bardziej istotny w grupie chorych z AD. EGb obniża również ekspresję genów, które regulują nieswoistą przeciwwirusową odpowiedź immunologiczną oraz wytwarzanie cytokin. Odkrycia te pozwalają uznać standaryzowany EGb jako potencjalny preparat wzmacniający wrodzoną odpowiedź odpornościową u osób starszych oraz cierpiących na AD, a w szczególności kobiet dotkniętych tą chorobą, u których stopień zaawansowania choroby na etapie diagnozy jest zwykle cięższy. Zastosowaniu EGb jako leczenia towarzyszącego terapii podstawowej w AD może być w dłuższej perspektywie dobrym sposobem na modyfikację progresji choroby.
8. Wykazano, że współwystępowanie stanu zapalnego przyzębia (paradontoza) oraz AD jest związane z zaostrzeniem ogólnoustrojowego stanu zapalnego. Poziom cytokin pro- i antyzapalnych, wytwarzanych przez PBLs ex vivo niestymulowanych jak i stymulowanych LPS-em wzrasta wraz z: pogorszeniem się stanu zdrowia przyzębia (mierzonego na podstawie parametrów periodontologicznych m.in. BoP) oraz pogorszeniem się funkcji poznawczych (na podstawie wskaźników neuropsychiatrycznych do oceny otępienia i demencji m.in. MMSE). Wykazano, że



obecność dodatkowego źródła mediatorów prozapalnych jakim jest paradontoza może zaostrzać ogólnoustrojowy stan zapalny i tym samym pogłębić (lub inicjować) zmiany neurodegeneracyjne w przebiegu AD. Odkrycie to ma bardzo ważne znaczenie w kontekście progresji AD. Uzasadnione jest bowiem, aby traktować paradontozę jako modyfikowalny czynnik ryzyka zaburzeń poznawczych i otępienia, a wczesne leczenie zapalenia przyzębia może ograniczyć nasilenie i progresję deficytów poznawczych.

9. Na podstawie uzyskanych badań zaproponowano mechanistyczny model wyjaśniający możliwe powiązanie między paradontozą a AD.
10. Opracowanie koncepcji sugerującej, że u pacjentów z AD przywrócenie mikrobiomu jamy ustnej oraz mikrobiomu jelitowego do składu przypominającego ten występujący u zdrowych dorosłych ludzi może znacznie spowolnić postęp neurodegeneracji poprzez obniżenie poziomu reakcji zapalnych i/lub amyloidogenezy. Jedną z interwencji terapeutycznych w AD, która potencjalnie może poprawić ogólnoustrojowe markery stanu zapalnego, zwalczyć dysbiozę jamy ustnej i zmienić trajektorię pogorszenia funkcji poznawczych jest leczenie przewlekłego stanu zapalnego przyzębia czyli paradontozy.
11. Udowodniono, że standaryzowany EGb wykazuje specyficzną, wysoką aktywność przeciwwirusową względem wirusów z rodziny *Herpesviridae* takich jak HHV-1 i HHV-2. EGb w nietoksycznych stężeniach inaktywuje wolne cząstki wirusów i zmniejsza zakaźność obu patogenów utrudniając ich rozprzestrzenianie się z komórki do komórki. Udowodniono, że aktywność preparatu jest zależna głównie od występujących w jego składzie flawonoidów, zwłaszcza izoramnetyny. Jednak pełny ekstrakt EGb wykazuje znacznie większą aktywność przeciwwirusową w porównaniu z izoramnetyną przy jednoczesnym praktycznie braku toksyczności EGb względem komórek gospodarza.
12. EGb jest obiecującym preparatem, który może wspomóc obecne terapie opryszczki, zwłaszcza w leczeniu dolegliwości skórnych podczas nawracających infekcji. Kombinacja środków przeciwwirusowych o różnych celach molekularnych, w tym EGb, może potencjalnie ograniczyć replikację HHV-1 i HHV-2 do minimum, co jest bardzo ważne, ponieważ nawracające infekcje HHV-1 oraz osłabione z wiekiem funkcjonowanie układu odpornościowego mogą spowodować transmisję wirusa do mózgu, co w konsekwencji prowadzi do opryszczkowego zapalenia mózgu (HSE) i stanowi istotny czynnik ryzyka rozwoju AD.

Literatura:

1. Dickerson, B. C. i in. Approach to atypical Alzheimer's disease and case studies of the major subtypes. *CNS Spectr* 22, 439–449 (2017).
2. Breijyeh, Z. & Karaman, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules* 25, 5789 (2020).
3. Khan, S., Barve, K. H. & Kumar, M. S. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol* 18, 1106–1125 (2020).
4. Barcikowska, M. i in. NFZ o zdrowiu. Choroba Alzheimera i choroby pokrewne. (2022).
5. Livingston, G. i in. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *Lancet* 396, 413–446 (2020).
6. Kochanek, K. D., Xu, J. & Arias, E. Mortality in the United States, 2019. *NCHS Data Brief* 1–8 (2020).
7. Couzin-Frankel, J. Promising Alzheimer's therapies shrink brains. *Science* 380, 19 (2023).
8. Hardy, J. & Allsop, D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 12, 383–388 (1991).
9. Kurkinen, M. i in. The Amyloid Cascade Hypothesis in Alzheimer's Disease: Should We Change Our Thinking? *Biomolecules* 13, 453 (2023).
10. Kinney, J. W. i in. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y)* 4, 575–590 (2018).



11. Le Page, A. i in. Role of the peripheral innate immune system in the development of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 1;107:59-66 (2018).
12. Bettcher, B. M. i in. Peripheral and central immune system crosstalk in Alzheimer disease - a research prospectus. *Nat Rev Neurol* 17, 689–701 (2021).
13. Butler, L. & Walker, A. K. The Role of Chronic Infection in Alzheimer's Disease: Instigators, Co-conspirators, or Bystanders? *Curr Clin Microbiol Rep* 8(4):199-212 (2021).
14. Sochocka, M. i in. The influence of donepezil and EGb 761 on the innate immunity of human leukocytes: effect on the NF- κ B system. *Int. Immunopharmacol.* 10, 1505–1513 (2010).
15. Sochocka, M. i in. Effect of donepezil on innate antiviral immunity of human leukocytes. *J. Neurol. Sci.* 273, 75–80 (2008).
16. Sochocka, M. i in. Innate antiviral immunity of human PBLs and immunoregulatory activity of EGb 761. *Cent Eur J Biol.* 9, 359–366 (2014).
17. Orzechowska, B. i in. Individual differentiation of innate antiviral immunity in humans; the role of endogenous interferons and tumor necrosis factor in the immunity of leukocytes. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz.)* 51, 51–60 (2003).
18. Orzechowska, B. i in. Cytokine production by human leukocytes with different expressions of natural antiviral immunity and the effect of antibodies against interferons and TNF-alpha. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 55, 111–117 (2007).
19. Tomczyk, T. i in. Immune Consequences of in vitro Infection of Human Peripheral Blood Leukocytes with Vesicular Stomatitis Virus. *J Innate Immun* 10, 131–144 (2018).
20. Podcasy, J. L. & Epperson, C. N. Considering sex and gender in Alzheimer disease and other dementias. *Dialogues Clin Neurosci* 18, 437–446 (2016).
21. Laws, K. R., Irvine, K. & Gale, T. M. Sex differences in cognitive impairment in Alzheimer's disease. *World J Psychiatry* 6, 54–65 (2016).
22. Zhu, D., Montagne, A. & Zhao, Z. Alzheimer's pathogenic mechanisms and underlying sex difference. *Cell Mol Life Sci* 78, 4907–4920 (2021).
23. Guldner, I. H. & Wyss-Coray, T. Activated immune cells drive neurodegeneration in an Alzheimer's model. *Nature* 615, 588–589 (2023).
24. Sochocka, M. i in. Cognitive Decline in Early and Premature Menopause. *Int J Mol Sci* 24, 6566 (2023).
25. Giridharan, W. i in. Infection-Induced Systemic Inflammation Is a Potential Driver of Alzheimer's Disease Progression. *Front. Aging Neurosci* 11, 122 (2019).
26. Bui, F. Q. i in. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed J* 42, 27–35 (2019).
27. Chen, C.-K., Wu, Y.-T. & Chang, Y.-C. Association between chronic periodontitis and the risk of Alzheimer's disease: a retrospective, population-based, matched-cohort study. *Alzheimers Res Ther* 9, 56 (2017).
28. Itzhaki, R. F., Golde, T. E., Heneka, M. T. & Readhead, B. Do infections have a role in the pathogenesis of Alzheimer disease? *Nat Rev Neurol* 16, 193–197 (2020).
29. James, S. H. & Prichard, M. N. Current and future therapies for herpes simplex virus infections: mechanism of action and drug resistance. *Curr Opin Virol* 8, 54–61 (2014).

Inne osiągnięcia naukowe

Równoległe prowadzę także badania dotyczące oceny właściwości wirusobójczych oraz przeciwwirusowych produktów złożonych i związków chemicznych syntetycznych oraz pochodzenia naturalnego przeciwko wirusom z rodziny *Herpesviridae*. Dotychczas efektem tych badań są: publikacja przedstawiona poniżej oraz zgłoszenie patentowe:

- 1) Wyniki zaprezentowane w publikacji Sochocka i in. *Front Microbiol* 2019 (Załącznik 6), która została włączona do cyklu prac prezentujących moje osiągnięcia naukowe, stały się wcześniej podstawą do przygotowania zgłoszenia patentowego P. 423496 (18-11-2017): Sochocka M, Leszek J „Zastosowanie wyciągu z liści miłorzębu japońskiego *Ginkgo biloba*”. Patent Polski (Pat.234670) został nadany 16 września 2019 (Załącznik 9). Wynalazek dotyczy przeciwwirusowej aktywności pełnego ekstraktu z liści miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba*, EGb) względem wirusów opryszczki, zwłaszcza wirusa opryszczki wargowej HHV-1 oraz wirusa opryszczki narządów płciowych HHV-2. Dzięki właściwościom przeciwwirusowym wynalazek może znaleźć zastosowanie w profilaktyce i/lub leczeniu zmian skórnych, pojawiających się w przebiegu infekcji herpeswirusami opryszczkowymi, gdzie w pęcherzach obecne są cząstki wirusa. Preparat stosowany miejscowo, zewnętrznie na skórę (zainfekowaną lub narażoną na infekcję skórę lub śluzówkę), w krótkim czasie może skutecznie inaktywować wiriony zapobiegając dalszemu rozwojowi infekcji. Istotą wynalazku jest zatem możliwość zastosowania/podania miejscowego ekstraktu EGb w leczeniu objawów



skórnych zakażenia wymienionymi herpeswirusami. Preparat może być stosowany w dowolnej postaci preparatu farmaceutycznego, zwłaszcza w formie maści, kremu lub roztworu/zawiesiny, nadającego się do podawania miejscowego i zawierającego oprócz EGb odpowiedni farmaceutycznie dopuszczalny nośnik lub zaróbkę.

- 2) Długosz O, Sochocka M, Ochnik M, Banach M. Metal and bimetallic nanoparticles: flow synthesis, bioactivity and toxicity. *Journal of Colloid And Interface Science*, 2021; 15;586:807-818 (Załącznik 22). W badaniach dotyczących właściwości przeciwwirusowych względem herpeswirusów wykorzystano zawiesiny nanocząstek metali (nAg, nCu) i bimetali (nAg-nCu i nCu-nAg) o różnej wielkości wytworzonych w reaktorze mikrofalowym o działaniu ciągłym. Okazało się, iż preparaty te wykazują bezpośredni wpływ na wolne cząsteczki wirusa, inaktywując je i neutralizując ich zakaźność blisko lub powyżej 4 log TCID₅₀, co oznacza 99,99% skuteczności. Publikacja ta została w 2022 roku wyróżniona Nagrodą Dyrektora IITD PAN jako praca oryginalna o najwyższym współczynniku wpływu (IF) w kategorii „współpraca między ośrodkowa”.

W dobie pandemii wirusa SARS-CoV-2 rozpoczęłam także intensywne badania ceny właściwości wirusobójczych oraz przeciwwirusowych preparatów syntetycznych oraz pochodzenia naturalnego wobec ludzkiego koronawirusa HCoV-OC43 (human betacoronavirus) z grupy β-koronawirusów do których należy także SARS-CoV-2 oraz wirusa grypy ludzkiej A/H1N1 (human influenza A virus). Badania te prowadzone są do dziś w ramach m.in. projektów grantowych (wymienione w dokumencie *Wykaz osiągnięć naukowych, Współpraca z sektorem gospodarczym*). Efektem dotychczasowych badań są dwie publikacje naukowe:

- 1) Długosz O, Ochnik M, Sochocka M, Franz D, Orzechowska B, Chmielowiec-Korzeniowska A, Drabik A, Banach M. Antimicrobial and antiviral activity of selenium sulphidenanoparticles synthesized in extracts from spices in natural deep eutectic solvents (NDES). *Sustainable Materials and Technologies*, 2022; 32: e00433 (Załącznik 23). W badaniach tych wykorzystałam ekstrakty cynamonu, kurkuminy i pieprzu otrzymane przy użyciu naturalnych rozpuszczalników głęboko eutektycznych (NDES) do otrzymania stabilnych nanocząstek siarczku selenu. Otrzymane układy wykazały wysoką aktywność biobójczą i przeciwwirusową wobec wirusów oddechowych A/H1N1 oraz HCoV-OC43.
- 2) Ochnik M, Franz D, Sobczyński M, Naporowski P, Banach M, Orzechowska B, Sochocka M. Inhibition of Human Respiratory Influenza A Virus and Human Betacoronavirus-1 by the Blend of Double-Standardized Extracts of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot and *Sambucus nigra* L. *Pharmaceuticals*, 2022; 15, 5: 619 (Załącznik 24). W badaniach tych wykorzystano mieszanekę (EAM-ESM) standaryzowanych ekstraktów z aronii (extract of *Aronia melanocarpa*, EAM) oraz czarnego bzu (extract of *Sambucus nigra*, ESM) a także poszczególne jej składniki osobno, w celu określenia właściwości przeciwwirusowych przeciwko wirusom grypy ludzkiej (A/H1N1) oraz ludzkiemu koronawirusowi (HCoV-OC43). Mieszanka EAM-ESN silnie hamowała replikację A/H1N1, jak również HCoV-OC43. Wykazano, że aktywność ta prawdopodobnie zależy głównie od obecności w składzie mieszanki ekstraktu z *S. nigra*. Jednak mieszanka EAM-ESN miała skuteczniejsze działanie hamujące replikację wirusów niż jej poszczególne składniki. Preparat EAM-ESN przez to, że działa na wirusy po zakażeniu przez nie komórek gospodarza, może znaleźć potencjalne zastosowanie jako lek w terapiach wspomagających leczenie sezonowych infekcji wirusowych dróg oddechowych.



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

- ✓ W 2018 roku odbyłam staż naukowy na Uniwersytecie w Toronto (Kanada) w Translational Psychiatry Biomarkers Laboratory at the Center for Addiction and Mental Health (CAMH) pod kierunkiem dr Breno Satler Diniza. Dr Diniz (MD, PhD) jest psychiatrą z dwudziestoletnim doświadczeniem w dziedzinie neurobiologii depresji późnego życia, neurobiologii AD. Opracowuje również innowacyjne działania profilaktyczne i terapie w leczeniu zaburzeń poznawczych w oparciu o analizę biomarkerów obwodowych i genetycznych. Współpracę z dr Dinizem rozpoczęłam już kilka lat przed moim stażem na Uniwersytecie w Toronto. Współpracowaliśmy przy niektórych badaniach związanych ze stanem zapalnym w AD, czego efektem jest publikacja: *Sochocka M, Diniz BS, Leszek J. Inflammatory response in the CNS: Friend or Foe? Molecular Neurobiology, 2017, 54, 8071-8089.* W trakcie pobytu w CAMH wspólnie z dr Dinizem prowadziłam intensywne prace nad projektem wspólnego wniosku grantowego pt.: *Rola mikrobiomu jamy ustnej w patogenezie choroby Alzheimera*, który po moim powrocie grant został złożony w konkursie NCN Sonata Bis 8 w 2018 r. (Wniosek-załącznik 14). Ponadto w trakcie pobytu pracowałam wspólnie z zespołem dr Diniza przy typowaniu oraz oznaczaniu biomarkerów obwodowych oraz genetycznych u pacjentów z AD a następnie analizowałam wyniki w relacji do kliniki pacjenta. Oznaczanie tych markerów było jednym z zadań badawczych przygotowanego wniosku grantowego. W wymiarze naukowym rezultatem współpracy z dr Dinizem oraz wspólnego złożenia wniosku grantowego była również kolejna publikacja, którą przygotowaliśmy wspólnie na krótko przed moim przyjazdem do Kanady. Publikacja: *Sochocka M i in. The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review. Mol Neurobiol, 2019* (Załącznik 4) została wykazana we wniosku grantowym Sonata-Bis wraz z publikacją oryginalną potwierdzającą wykonanie badań wstępnych. Pobyt na Uniwersytecie w Toronto sfinansowany został z uzyskanego przeze mnie stypendium na wsparcie mobilności pracowników i doktorantów w ramach konkursu Konsorcjum Wrocławskie Centrum Biotechnologii (WCB) – Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący (KNOW) (No. 39/2018/KNOW/IITD) (Załącznik 12).
- ✓ W 2022 roku zostałam laureatką programu „Wizyty studyjne: wyjazdy za granicę uczonych PAN” organizowanego przez Biuro Współpracy z Zagranicą PAN (Załącznik 13). Główną intencją tego programu jest wspieranie wymiany naukowej i nawiązywanie bądź poszerzanie kontaktów uczonych z Polski z naukowcami i badaczami z zagranicy. Dzięki zdobytemu stypendium w sierpniu 2022 roku przebywałam na Uniwersytecie Connecticut (USA) w UConn Center on Aging, Department of Psychiatry, School of Medicine, Hartford-Farmington, gdzie własny, nowy zespół badawczy prowadził dr Breno Satler Diniz. Celem tego pobytu była przede wszystkim praca nad przygotowaniem kolejnego, wspólnego wniosku grantowego tym razem dotyczącego potencjalnych strategii terapeutycznych w chorobie Alzheimera tj. leczenia paradontozy. Grant planowany był do złożenia w instytucji amerykańskiej (Alzheimer’s Association), dlatego praca z dr Dinizem była bardzo cenna w kontekście zdobycia przeze mnie umiejętności przygotowywania wniosków w konkursach międzynarodowych oraz budowania międzynarodowego zespołu badawczego. Wspólnie zaplanowaliśmy duże badanie obserwacyjne (observational study) a projekt pt.: *„Oral health: A window to improve systemic immune response in AD patients”* został przeze mnie złożony w konkursie Alzheimer’s Association Research Grant (AARG) w 2023 r. (Wniosek-załącznik nr 15). Ostatecznie przygotowany grant postanowiliśmy również złożyć w konkursie NCN Sonata Bis jeszcze



w 2022 r. Tytuł wniosku: „Zdrowie jamy ustnej - droga do poprawy ogólnoustrojowej odpowiedzi immunologicznej i jakości życia pacjentów z chorobą Alzheimera” (Wniosek-załącznik 17). W wymiarze naukowym rezultatem pobytu w UConn Center on Aging był także wykład dotyczący moich bieżących badań pt.: „Rola obwodowego układu odpornościowego w chorobie Alzheimera”.

- ✓ Od wielu lat prowadzę badania naukowe wspólnie z prof. Jerzym Leszkiem z Katedry Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (UMW) a także dr Aleksandrą Sender-Janeczek i dr Jackiem Zborowskim z Katedry Periodontologii UMW dotyczące roli nieswoistej odpowiedzi immunologicznej oraz czynników infekcyjnych w patogenezie choroby Alzheimera. Część prac badawczych związanych z rekrutacją pacjentów, pozyskiwaniem materiału biologicznego do badań wykonuję na Uniwersytecie Medycznym. Efektem wspólnej pracy naszego zespołu jest pozyskanie kilku projektów grantowych oraz opublikowanie licznych prac oryginalnych i przeglądowych (*Wykaz osiągnięć naukowych, Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych*). Dwie z tych prac w latach 2020-2022 zostały wyróżnione nagrodą Dyrektora IITD PAN:

- * Zespołowa Nagroda Dyrektora za opublikowanie pracy oryginalnej o najwyższym współczynniku wpływu (IF) w kategorii „wiodąca rola IITD PAN”: *Sochocka M i in. New therapeutic targeting of Alzheimer’s disease with the potential use of proline-rich polypeptide complex to modulate an innate immune response - preliminary study. J Neuroinflamm, 2019* (Załącznik 5).

- * Zespołowa Nagroda Dyrektora IITD PAN za opublikowanie w latach 2019 – 2021 pracy przeglądowej o najwyższej liczbie cytowań: *Sochocka M i in. The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer’s Disease-a Critical Review. Mol Neurobiol, 2019* (Załącznik 4).

Wyniki wspólnych badań zaprezentowano również w ramach licznych doniesień zjazdowych (*Wykaz osiągnięć naukowych, Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych*).

W 2017 roku wspólnie z Prof. Jerzym Leszkiem pracowaliśmy nad przygotowaniem zgłoszenia patentowego, a następnie uzyskaliśmy także Patent Polski (Pat.234670) (Załącznik 9):

- * *Sochocka M, Leszek J: Zastosowanie wyciągu z liści miłorzębu japońskiego Ginkgo biloba.*

W lutym 2019 roku w siedzibie Centrum Wspierania Nauki, Sekcja Projektów Międzynarodowych UMW, pracowałam nad przygotowaniem wniosku grantowego: *ALOIS – Alliance for International Study of Periodontal Disease Treatment as Therapeutic Targeting of Alzheimer’s Disease*, który został złożony w konkursie JPND: Multinational research projects on personalised medicine for neurodegenerative diseases (JPND2019-466-125) (Potwierdzenie złożenia wniosku–załącznik 20). W tym samym konkursie JPND w czerwcu 2019 roku pracowaliśmy wspólnie nad przygotowaniem udziału (IITD PAN oraz UMW) jako partnerzy w ramach rozszerzenia zespołu badawczego we wniosku *VITA-Vascular Inflammation as a Target for Dementia*, którego liderem był Johannes Boltze z Uniwersytetu Warwick, Coventry, w Wielkiej Brytanii (Potwierdzenie złożenia wniosku - załącznik 21).

Obecnie kontynuujemy prace nad rolą mikrobiomu jamy ustnej oraz stanu zapalnego przyzębia w patogenezie choroby Alzheimera. Jestem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej poświęconej temu zagadnieniu, która realizowana jest przez mgr inż. Michała Ochnika w naszym Laboratorium oraz w Katedrze Psychiatrii UMW. Termin obrony planowany jest na 2024 rok.



- ✓ W latach 2011-2015 ściśle współpracowałam z dr Iwoną Bill-Lulą (obecnie Dr hab., Prof. Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu) z Katedry Analityki Medycznej. Prowadziłam wtedy badania w obu ośrodkach naukowych a dotyczyły one związku zakażeń adenowirusami ludzkimi z otyłością w ramach grantu wewnętrznego UMW (Pbmn/44): Otyłość o podłożu zakaźnym – wpływ infekcji adenowirusowych na rozwój otyłości w populacji polskiej. Efektem wspólnych badań są dwie prace oryginalne:
 - * *Bil-Lula I i in. Infectobesity in the Polish Population - Evaluation of an Association between Adenoviruses Type 5, 31, 36 and Human Obesity. Int J Vir Mol Biol, 2014 (Załącznik 25).*
 - * *Bil-Lula I i in. Adenovirus type 9 enhances differentiation and decreases cytokine release from preadipocytes. J Med Virol, 2015 (Załącznik 26).*

- ✓ W tym roku w sierpniu (2023) przebywałam na stażu w Katedrze Biologii Molekularnej Uniwersytetu Gdańskiego. Celem mojego pobytu było poznanie i nawiązanie kontaktów oraz współpracy z członkami zespołu naukowego kierowanego przez Profesora Grzegorza Węgrzyna, zajmującego się podłożem molekularnym choroby Alzheimera. Brałam udział w prowadzeniu badań naukowych w ramach projektu dotyczącego testowania efektywności stymulacji autofagii jako potencjalnej metody leczenia choroby Alzheimera, z wykorzystaniem modeli mysich tej choroby. Badania dotyczyły testów behawioralnych, biochemicznych oraz immunologicznych wykonywanych na transgenicznym mysich modelach choroby Alzheimera. Pobyt miał charakter naukowo-szkoleniowy, służył wymianie myśli i doświadczeń w celu realizacji przyszłych, nowych, wspólnych tematów badawczych (Potwierdzenie-załącznik 18).

- ✓ Od kilku lat na stałe współpracuję z dr hab. Marcinem Banachem oraz dr Olgą Długosz z Wydziału Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej w ramach badań nad przeciwwirusową aktywnością nowych, syntetycznych cząsteczek opracowanych na politechnice. Pierwsze prace z wykorzystaniem nanocząstek metali okazały się skuteczne przeciwko ludzkim herpeswirusom typu 1 i 2 (HHV-1 i HHV-2). Prace prowadzone przez nas w okresie pandemii koronawirusa SARS-CoV2 pozwoliły na wykazanie silnej aktywności wirusobójczej nanocząstek selenu w kompleksie z ekstraktami roślinnymi przeciwko ludzkiemu koronawirusowi oraz wirusowi grypy ludzkiej A/H1N1, co może mieć potencjalne zastosowanie w ograniczaniu rozprzestrzeniania się w środowisku wymienionych wirusów. Wyniki wspólnych badań zostały opublikowane w dwóch pracach oryginalnych:
 - * *Długosz O i in. Metal and bimetallic nanoparticles: flow synthesis, bioactivity and toxicity. J Coll Inter Sci, 2021 (Załącznik 22).*
 - * *Długosz O i in. Antimicrobial and antiviral activity of selenium sulphid nanoparticles synthesized in extracts from spices in natural deep eutectic solvents (NDES). Sust Mat Tech, 2022 (Załącznik 23).*

- ✓ Rozpoczęłam także współpracę z prof. Anną Marzec z Politechniki Łódzkiej z Centrum Innowacji i Przedsiębiorczości – Sekcja Transferu Technologii w ramach badań nad przeciwwirusową aktywnością materiałów tekstylnych. Wspólne badania również miały początek w okresie pandemii koronawirusa SARS-CoV2. Wytworzone na Politechnice Łódzkiej tekstylia wykazały bardzo silną aktywność wirusobójczą względem wirusa grypy ludzkiej A/H1N1. Technologia wytwarzania oraz aktywność zostały zgłoszone do Urzędu Patentowego, mają potencjalne zastosowanie w ograniczaniu transmisji wirusów oddechowych i mogą zostać wykorzystane do produkcji jednorazowej odzieży medycznej. Kontynuowane są prace nad kolejnymi preparatami.



- ✓ Współpraca naukowa z dr Mariuszem Banachem z Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (Wydział Chemii) oraz firmą Greenvit Sp. z o.o. w celu realizacji badań dotyczących zaawansowanych technik rozdzielczych antocyjanów jako składników żywności funkcjonalnej oraz oznaczania właściwości przeciwwirusowych wytworzonych ekstraktów i ich mieszanin. Wspólne badania rozpoczęliśmy w okresie pandemii koronawirusa SARS-CoV2. Wyniki badań zostały opublikowane w pracy:

* Ochnik M i in. *Inhibition of Human Respiratory Influenza A Virus and Human Betacoronavirus-1 by the Blend of Double-Standardized Extracts of Aronia melanocarpa (Michx.) Elliot and Sambucus nigra L.* Pharmaceuticals, 2022 (Załącznik 24) oraz zaprezentowane na konferencji naukowej *International Congress on Green Extraction of Natural Products* w Chorwacji w 2022 roku.

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

A. Osiągnięcia dydaktyczne

Promotor pomocniczy pracy doktorskiej:

Mgr inż. Michał Ochnik, tytuł pracy: Odpowiedź immunologiczna ex vivo leukocytów krwi obwodowej (PBLs) na LPS z *Porphyromonas gingivalis* (LPS-PG) u pacjentów z chorobą Alzheimera oraz przewlekłym stanem zapalnym przyzębia. Promotor pracy dr hab. Egbert Piasecki. Termin obrony planowany jest na 2024 r.

Ekspert na obronie rozprawy doktorskiej:

- ✓ Joanna Zyzak, IITD PAN, „Wpływ białka adaptorowego Mal na odpowiedź antywirusową zależną od receptora Toll-podobnego 9” (28-05-2021).
- ✓ Anna Kula, IITD PAN, „Regulatorowa rola ligazy Pellino3 w szlakach sygnałowych RIG-I aktywowanych wirusem grypy typu B” (25-05-2023).

Promotorstwo prac magisterskich:

- ✓ Dominika Pilichowska, Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, praca magisterska: Badanie aktywności przeciwwirusowej ekstraktu z miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba*- EGb) przeciwko wirusom z różnych grup taksonomicznych. Obrona lipiec 2016 r.
- ✓ Kinga Cieśla, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, praca magisterska: Przeciwwirusowe właściwości standaryzowanego kompleksu colostrum bovinum zawierającego polipeptydy bogate w prolinę (PRPs). Obrona lipiec 2018r.
- ✓ Krzysztof Lubocki, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, tytuł pracy: Wpływ standaryzowanego kompleksu colostrum bovinum zawierającego polipeptydy bogate w prolinę (PRPs) na odpowiedź immunologiczną komórek ludzkiego mikrogleju po infekcji wirusem opryszczki typu 1-go (HHV-1). Obrona lipiec 2019 r.
- ✓ Agata Kurzawska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, praca magisterska: Kinytyka wytwarzania cytokin przez leukocyty krwi obwodowej ex vivo w odpowiedzi na antygeny bakteryjne i wirusowe. Obrona lipiec 2020 r



- ✓ Grzegorz Stroka, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, praca magisterska: Wpływ wprowadzenia *lockdownu* na przebieg epidemii koronawirusa SARS-CoV-2 w wybranych krajach świata. W trakcie realizacji.

Opieka nad magistrantami podczas prac eksperymentalnych:

- ✓ (2008-2009) Agnieszka Taboń, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, praca magisterska: Oddziaływanie wyciągu z miłorzębu (*Ginkgo biloba*) EGb 761 na wrodzoną odporność ludzkich leukocytów krwi obwodowej. Praca wyróżniona nagrodą rektora Uniwersytetu Medycznego dla najlepszej pracy magisterskiej.
- ✓ (2011-2012) Tomasz Tomczyk, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, praca magisterska: Opracowanie podłoża do wielkoskalowego otrzymywania bakteriofagów.
- ✓ (2017-2018) Agata Wilczak, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza w Częstochowie, praca magisterska: Efekty cytopatyczne adenowirusów w różnych modelach komórkowych.

Praktyki studenckie (opiekun):

Maja Czernek, Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych. Termin: 08-29.08.2022.

W latach 2005-2017 pracowałam jako wykładowca w Wyższej Szkole Handlowej we Wrocławiu oraz w dwóch szkołach policealnych:

- ✓ 2005-2006 Wyższa Szkoła Handlowa we Wrocławiu, wykłady z przedmiotu Anatomia i fizjologia człowieka dla studentów I-go roku Turystyki i Rekreacji.
- ✓ 2007-2013 Szkoła Policealna – AP Edukacja zajęcia z przedmiotu Anatomia i fizjologia człowieka dla słuchaczy I/II semestru.
- ✓ 2013 – 2017 Szkoła Policealna Kosmetyczna Marzeny Daleckiej, zajęcia z przedmiotów Anatomia i fizjologia człowieka oraz Dermatologia dla słuchaczy I/II semestru.

Od 2012 roku przygotowuję i prowadzę wykłady naukowe oraz szkolenia dla szkół oraz organizacji nauki i zdrowia publicznego:

- ✓ 10.05.2012, wykład: Atrakcyjność fizyczna człowieka jako sygnał biologiczny dla Klubu Seniora Politechniki Wrocławskiej.
- ✓ 27.03.2013, wykład: Zdrowie na talerzu i tajemnice epidemii otyłości dla Gimnazjum im. Jana Pawła II w Ujazd Górny.
- ✓ 26.11.2013, wykład: Mikrowładcy świata-o zarazach, które dziesiątkowały ludzkość oraz Wielka armia w kropli krwi, czyli jak działa układ odpornościowy dla Gimnazjum w Świebodzicach-Cierniach.
- ✓ 3.03.2016, wykład: Czy można oszukać apetyt i nie zajadać stresów? dla Wrocławskiego Centrum Doskonalenia Nauczycieli (WCDN).
- ✓ 13.06.2016, wykład: Jak zmienić własne środowisko żywieniowe i hormonalne? dla Wrocławskiego Centrum Doskonalenia Nauczycieli (WCDN).
- ✓ 7.12.2016, wykład: Prawdy i mity o zdrowym stylu życia dla Wrocławskiego Centrum Doskonalenia Nauczycieli (WCDN).



- ✓ Grudzień 2016, Szkolenie dla rady pedagogicznej 4LO w Legnicy, temat: Prawdy i mity o zdrowym stylu życia-Dieta zdrowa dla mózgu.
- ✓ Styczeń 2017, Szkolenie dla rady pedagogicznej: 2LO w Legnicy, temat: Prawdy i mity o zdrowym stylu życia.
- ✓ 29-06-2018, wykład: Lecznicze właściwości i zastosowania preparatów z konopi dla Stowarzyszenia Chorych na Stwardnienie Rozsiane w Głogowie.
- ✓ 10-10-2018, wykład: Rola witaminy D w leczeniu stwardnienia rozsianego” dla Stowarzyszenia Chorych na Stwardnienie Rozsiane w Głogowie.
- ✓ 17-11-2018, wykład: Wielka armia w kropli krwi, czyli jak nasze ciało walczy z infekcjami?” dla Uniwersytetu Dzieci, kierunek: Odkrywca.
- ✓ 11-12-2018, wkład: Wielka Armia w kropli krwi, czyli jak działa układ odpornościowy dla uczniów Szkoły Podstawowej nr 61 we Wrocławiu.
- ✓ 19-09-2019, wykład: Mikrowładcy świata-najgroźniejsze epidemie w dziejach ludzkości dla Szkoły Podstawowej nr 61 we Wrocławiu.
- ✓ 12-05-2022, wykład : Cały ten cukier! dla Szkoły Podstawowej nr 61 we Wrocławiu.
- ✓ 05-03-2022, wykład Co lubi jadać nasz mózg dla Szkoły Podstawowej nr 108 we Wrocławiu.

Od 2013 roku byłam także organizatorem i głównym prowadzącym warsztatów naukowych:

- ✓ Semestr letni 2013 r. warsztaty: Wielka burza w kropli krwi, czyli jak działa układ odpornościowy? dla Uniwersytetu Dzieci we Wrocławiu.
- ✓ Semestr zimowy 2014/2015 r. warsztaty: Jak działa układ odpornościowy? dla Uniwersytetu Dzieci we Wrocławiu.
- ✓ 10-11. 2016, warsztaty: Jak nasze ciało broni się przed chorobami? dla Uniwersytetu Dzieci we Wrocławiu na kierunku Tematy.
- ✓ 10-06-2021, Warsztaty zdrowego żywienia dla Szkoły Podstawowej nr 61 we Wrocławiu.
- ✓ 8-9. 03-2022 Warsztaty mikrobiologiczne dla Szkoły Podstawowej nr 108 we Wrocławiu.
- ✓ 1-2. 03. 2023 Warsztaty mikrobiologiczne dla Szkoły Podstawowej Montessori we Wrocławiu.

B. Osiągnięcia organizacyjne

- ✓ W latach 2010-2013 pełniłam rolę Sekretarza Międzywydziałowej Komisji Przyrodniczo-Medycznej Polskiej Akademii Umiejętności. W trakcie prac komisji ściśle współpracowałam z Profesorem Czesławem Radzikowskim, który został jej przewodniczącym. Głównym celem komisji było zbliżenie wyników postępu w badaniach przyrodniczych, zwłaszcza w biologii molekularnej, środowisku medycznemu, a także nauczycielom przedmiotów przyrodniczych, studentom oraz uczniom regionu dolnośląskiego. Organizowałam spotkania komisji, gdzie jako wykładowcy zapraszani byli uczeni z regionu dolnośląskiego, reprezentujący wielodyscyplinarne badania zorientowane medycznie lub współpracujący z nimi uczeni krajowi i zagraniczni, którzy swe wykształcenie i/lub swoją działalność naukową zawdzięczali uczelniom, instytucjom naukowym regionu dolnośląskiego, a których wyniki badań zdobyły międzynarodowe uznanie. Przygotowywałam także sprawozdania z prac komisji oraz uczestniczyłam w organizacji i spotkaniach z przedstawicielami Urzędu Miasta Wrocławia oraz nauczycielami przedmiotów przyrodniczych wrocławskich szkół średnich.



- ✓ Od 2014 pracuję w Zespole ds. Jakości Kształcenia Doktorantów IITD PAN a od 2016 jestem jego przewodniczącą. Jestem odpowiedzialna za organizację pracy zespołu. W ramach naszej działalności odbywa się: monitorowanie i doskonalenie procesu kształcenia, monitorowanie kwalifikacji pracowników naukowych prowadzących zajęcia z doktorantami (systematyczna analiza i ocena), ocena jakości zajęć dydaktycznych, monitorowanie warunków kształcenia i jego organizacji, monitorowanie wsparcia doktorantów w procesie uczenia się, ocena mobilności doktorantów oraz stopnia umiędzynarodowienia kształcenia.
- ✓ Od 2016 roku jestem zastępcą Koordynatora Dolnośląskiego Festiwalu Nauki (DFN) dr hab. Egberta Piaseckiego, Prof. PAN w IITD PAN we Wrocławiu. Wspólnie organizujemy i przeprowadzamy DFN w IITD PAN tj. wykłady, konkursy i pokazy naukowe. Przygotowujemy sprawozdania oraz uczestniczymy w spotkaniach organizacyjnych biura DFN.
- ✓ W roku 2017 uczestniczyłam w przygotowaniu a następnie organizacji i realizacji w IITD PAN grantu UMO - Uniwersytet Młodego Odkrywcy „Różne oblicza układu odpornościowego - Immunologia w nauce i praktyce” (grant MNiSzW, nr 0002/UMO/2017/30). Wniosek przygotowywany był wspólnie z Uniwersytetem Dzieci we Wrocławiu. W ramach grantu przez kilka miesięcy organizowałam i prowadziłam w Laboratorium Wirusologii IITD PAN warsztaty i wykłady dla uczestników zajęć (Wymienione powyżej w części *Działalność dydaktyczna*).
- ✓ Od 2020 pełnię funkcję Managing Editor w redakcji *Advances in Hygiene and Experimental Medicine/Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. Bezpośrednio współpracuję z obecnym, nowym wydawcą czasopisma - Sciendo (De Gruyter Poland Sp. z o.o.), czego wynikiem jest unowocześnienie formy publikacji oraz zarządzania procesem redakcyjnym i wydawniczym. Byłam zaangażowana w stworzenie nowego projektu graficznego okładki oraz stron wewnętrznych czasopisma a także nowego logo redakcji. Uczestniczyłam także w rozbudowie składu redakcyjnego. Na co dzień organizuję pracę redakcji poprzez obsługę systemu Editorial Manager, który usprawnia proces edycyjno-redaktorsko-recenzencki oraz obsługę strony domowej czasopisma. W redakcji staramy się ciągle podnosić poziom publikowanych prac i dbać o rozwój czasopisma. W roku 2020 przygotowałam i złożyłam wniosek grantowy do Ministerstwa Edukacji i Nauki w ramach programu „Rozwój czasopism naukowych”. Redakcja PHMD/AHEM otrzymała grant (RCN/SP/0463/2021/1) (wymieniony w *Wykaz osiągnięć naukowych*).
- ✓ W 2019 roku wspólnie z prof. Jerzym Leszkiem z Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu uczestniczyłam w organizacji międzynarodowej konferencji naukowej 13th International Conference on „Psychogeriatry 2019 – State of the Art”, Wrocław (29-30.11.2019) jako członek komitetu naukowego.

C. Osiągnięcia popularyzujące naukę

Publikacje w prasie popularnonaukowej:

- ✓ Sochocka M. Jak magnes. *Porozmawiajmy o zdrowiu*, 2012, 6(15):36-38.
- ✓ Sochocka M. Wzór na miłość. *Porozmawiajmy o zdrowiu*, 2013, 1(16): 40-42.
- ✓ Sochocka M. Zdrowie na talerzu, cz. 1. *Porozmawiajmy o zdrowiu*, 2013; 3(18): 56-59.
- ✓ Sochocka M. Zdrowie na talerzu, cz. 2. *Porozmawiajmy o zdrowiu*, 2013; 4(19): 58-59.



Wywiady prasowe:

- ✓ Sochocka M. Co jada nasz mózg? *Gazeta Wyborcza, Tygodnik Wrocław*, 25.09.2015.
- ✓ Sochocka M. Daj organizmowi zwalczyć chorobę. *Gazeta Wyborcza, Tygodnik Wrocław*: 11.12.2015.
- ✓ Sochocka M. Kiedy głupota szkodzi. Wypowiedź dla *Wysokie Obcasy Extra*, 2016: 104-105.
- ✓ Lekarze nas ostrzegają: Grozi nam zwykła grypa a nie koronawirus z Chin. Wypowiedź dla *Gazeta Wrocławska*, 4-02-2020 (przygotowała Iwona Zielińska)
- ✓ Wszystkie wojny w historii ludzkości nie pochłonęły tylu ofiar, co choroby zakaźne. Wywiad dla *Gazeta Wrocławska*, 8-02-2020 (przygotowała Iwona Zielińska)

Uczestnictwo w Dolnośląskim Festiwalu Nauki:

Od 2005 roku aktywnie uczestniczę w Dolnośląskim Festiwalu Nauki (DFN) jako wykładowca, prowadzący pokazy oraz organizator konkursów. Festiwal odbywa się we Wrocławiu na terenie wszystkich wrocławskich uczelni i nie tylko, organizowana jest także edycja regionalna, podczas której wykładowcy prezentują swoje wykłady w wielu miastach Dolnego Śląska m.in. w Legnicy, Dzierżonowie, Bolesławcu, Głogowie, Ząbkowicach Śląskich, Wałbrzychu czy Zgorzelcu.

- ✓ W ramach DFN przygotowałam i przeprowadziłam w IITD PAN konkursy:
 1. I Konkurs Biologiczny dla Gimnazjalistów „Człowiek-zagadka”/ (25.09.2012)
 2. II Konkurs Biologiczny dla Gimnazjalistów „Człowiek-zagadka”/ (24.09.2013)
 3. III Konkurs Biologiczny dla Gimnazjalistów „Człowiek-zagadka”/ (22.09.2014)
 4. IV Konkurs Biologiczny dla Gimnazjalistów „Człowiek-zagadka”/ (22.09.2015)
 5. V Konkurs Biologiczny dla Gimnazjalistów „Człowiek-zagadka”/ (20.09.2016)
- ✓ W latach 2005-2008 ramach DFN zorganizowałam i przeprowadziłam w IITD PAN pokazy:
 1. Namnażanie wirusów na zarodkach kurzych
 2. Prowadzenie hodowli komórkowych in vitro
 3. MSO-mikroskopijne siły obronne organizmu
 4. Życie i śmierć pod mikroskopem. Rozpoznawanie żywych i martwych komórek w hodowlach komórkowych
- ✓ Od 2011 roku w ramach DFN prezentuję także wykłady o tematyce zdrowia i chorób zakaźnych m.in.: Co lubi jadać nasz mózg?, Cały ten cukier!, Obcy w nas, czyli o mikroorganizmach, jakich nie znamy, Rozsądni ludzie nie stosują diet, Leki kontra suplementy diety – wybieraj świadomie, Dlaczego groźne choroby wracają? Antybiotykooporność, antyszczepionkowcy a historia chorób zakaźnych, Mikrowładcy świata-o chorobach, które dziesiątkowały ludzkość. Dotychczas przygotowałam i wygłosiłam w ramach edycji regionalnej DFN:
 1. W 2011 roku 10 wykładów,
 2. W 2012 roku 18 wykładów,
 3. W 2013 roku 25 wykładów,
 4. W 2014 roku 25 wykładów,
 5. W 2015 roku 5 wykładów,
 6. W 2016 roku 21 wykładów,
 7. W 2017 roku 28 wykładów,
 8. W 2018 roku 26 wykładów,
 9. W 2019 roku 8 wykładów,
 10. W 2020 roku (okres pandemii SARS-CoV-2) 2 wykłady:



- *Od opryszczki i zepsutych zębów do choroby Alzheimera. Wykład w IITD PAN. Nagrany wykład prezentowany online w edycji regionalnej DFN w Bolesławcu, Ząbkowicach Śląskich i Dzierżoniowie (07-22.10.2020).*

- *Antybiotykooporność, antyszczepionkowcy a historia chorób zakaźnych. Wykład nagrany w IITD PAN (01.10.2020) w celu transmisji online w Bystrzycy Kłodzkiej, Bolesławcu, Ziębicach i Dzierżoniowie (07-22.10.2020).*

11. W 2021 roku (okres pandemii SARS-CoV-2) 2 wykłady:

- *Mikrowładcy świata – o największych epidemiach w dziejach ludzkości. Wykład w IITD PAN. Nagrany wykład był prezentowany online również w edycji regionalnej DFN w Bolesławcu, Bystrzycy Kłodzkiej, Głogowie i Jeleniej Górze (7 razy, październik 2021).*
<https://www.youtube.com/watch?v=pWVfR353TCs>

- *Leki kontra suplementy diety – wybieraj świadomie. Wykład w IITD PAN. Nagrany wykład był prezentowany online również w edycji regionalnej DFN w Bolesławcu, Bystrzycy Kłodzkiej, Głogowie, Jeleniej Górze, Legnicy i Ząbkowicach Śląskich (9 razy, wrzesień-październik 2021).*
<https://www.youtube.com/watch?v=AzvzL5SU5cA>

12. W 2022 roku 20 wykładów.

✓ W 2022 roku wystąpiłam w Dolnośląskie Podcasty Nauki: Czy badanie wirusów jest bezpieczne?
<https://www.youtube.com/watch?v=00TBithysR8>

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

1) W czerwcu 2016 roku miałam zaszczyt wystąpić jako jeden z zaproszonych prelegentów w ramach konferencji TEDx: **TEDxWrocław „Break the silence”**, Teatr Muzyczny Capitol Wrocław, TEDxTalks:
Marta Sochocka: Sugar can change your mind <https://www.youtube.com/watch?v=UJpUjnoNTHI>

2) W październiku 2020 roku zostałam zaproszona do wygłoszenia wykładu inauguracyjnego pt. *Od chorych zębów i opryszczki do choroby Alzheimera* w ramach Obchodów Dnia Ludwika Hirszfelda w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

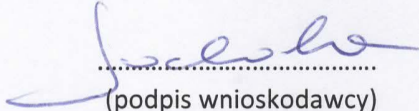
3) W 2022 roku podczas uroczystości 25-lecia Dolnośląskiego Festiwalu Nauki zostałam uhonorowana nagrodą specjalną „SPIRITUS MOVENS Dolnośląskiego Festiwalu Nauki” za pracę na rzecz DFN przez 25 lat jego działalności.

4) W grudniu 2022 roku zostałam zaproszona przez prezesa Stowarzyszenia Chorych na Stwardnienie Rozsiane oddział w Głogowie p. Stanisława Stolarczyka do wygłoszenia wykładu w ramach konferencji pod patronatem honorowym starosty głogowskiego i prezydenta Głogowa: „Niepełnosprawność a wyzwania współczesności. Cukrzyca jako choroba cywilizacyjna XXI wieku”.
Wykład: Marta Sochocka: *Czym się żywi nasz mózg?*



5) Nagrody i wyróżnienia naukowe:

- ✓ Zespołowa Nagroda Dyrektora za opublikowanie pracy oryginalnej o najwyższym współczynniku wpływu (IF) w kategorii „wiodąca rola IITD PAN” za pracę: **Sochocka M**, Ochnik M, Sobczyński M, Siemieniec I, Orzechowska B, Naporowski P, Leszek J: *New therapeutic targeting of Alzheimer's disease with the potential use of proline-rich polypeptide complex to modulate an innate immune response - preliminary study. J. Neuroinflammation, 2019, 16:137* (Załącznik 27).
- ✓ Nagroda Dyrektora IITD PAN za opublikowanie pracy oryginalnej o najwyższym współczynniku wpływu (IF) w kategorii „współpraca międzyośrodkowa”: Dlugosz O, **Sochocka M**, Ochnik M, Banach M. *Metal and bimetallic nanoparticles: flow synthesis, bioactivity and toxicity. Journal of Colloid And Interface Science, 2021; 15:586:807-818* (Załącznik 28).
- ✓ Zespołowa Nagroda Dyrektora IITD PAN za opublikowanie w latach 2019 – 2021 pracy przeglądowej o najwyższej liczbie cytowań: **Sochocka M**, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, Kurpas D, Brzozowska E, Leszek J. *The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review. Mol Neurobiol. 2019, 56:1841-1851* (Załącznik 29).


(podpis wnioskodawcy)