

Warszawski Uniwersytet Medyczny
Wydział Lekarsko - Stomatologiczny
Zakład Stomatologii Zachowawczej

Autoreferat

Dr n. med. Aniela Brodzikowska

Warszawa 2023

PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ I NAUKOWEJ

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Aniela Brodzikowska
Data i miejsce urodzenia: 15.10.1967, Warszawa
Zajmowane stanowisko: Adiunkt
Miejsce pracy: Zakład Stomatologii Zachowawczej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

1.1 Wykształcenie

Wyższe, tytuł lekarza stomatologa

1982 – 1986 XLI Liceum Ogólnokształcące im. Joachima Lelewela w
Warszawie (egzamin maturalny 1986)

1987 – 1992 Studia stomatologiczne na Oddziale Stomatologicznym
I Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie

30 lipca 1992 Dyplom lekarza stomatologa (Akademia Medyczna w
Warszawie)

1.2 Specjalizacje

- 18 listopada 1996 uzyskałam dyplom pierwszego stopnia specjalizacji w dziedzinie Stomatologii Ogólnej
Kierownik specjalizacji: dr n. med. Elżbieta Musur
- 15 listopada 2004 uzyskałam dyplom specjalisty drugiego stopnia w dziedzinie Periodontologii.
Kierownik specjalizacji: prof. dr hab. n. med. Maria Wierzbicka

1.3 Doktorat

- 4 grudnia 2002 uzyskałam dyplom doktora nauk medycznych w dziedzinie Stomatologia na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pod tytułem „Badania skutecznego lakierów fluorkowych i chlorheksydynowych w hamowaniu próchnicy cementu korzeniowego.” nadany uchwałą Rady Naukowej Instytutu Stomatologii I Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie
Promotor: prof. dr hab. n. med. Maria Wierzbicka
Recenzenci: prof. dr hab. n. med. Janiana Stopa
prof. dr hab. n. med. Krzysztof Włodarski

2. Przebieg pracy zawodowej

Swoją karierę zawodowo – naukową od początku związałam z periodontologią i stomatologią zachowawczą.

2.1 Zatrudnienie

Od 1992 roku jestem zatrudniona w Zakładzie Stomatologii Zachowawczej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, początkowo na stanowisku asystenta, a od 2002 roku do chwili obecnej na stanowisku adiunkta.

Od 1992 roku byłam zatrudniona w Szpitalu Klinicznym Dzieciątka Jezus, a od 2019 roku w Uniwersyteckim Centrum Stomatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

2.2 Stypendium zagraniczne

W 2004 roku uzyskałam stypendium naukowe przyznane przez Międzynarodowe Towarzystwo ds. Badań Stomatologicznych (IADR, CED Visiting Scholar Stipend , subsequently took two years scientific training in the Oral Microbiology Research Laboratory at the Faculty of Odontology, Universidad Complutense de Madrid, Spain.)

W latach 2005 – 2007 odbyłam stypendium naukowe na Uniwersytecie Complutense w Madrycie, Hiszpania. Faculty of Odontology, University Complutense, Madrid, Spain
Oral Microbiology Research Laboratory at the Faculty of Odontology Universidad Complutense, Madrid, Spain

Kształcenie odbywało się pod kierunkiem prof. Mariano Sanz

2.3 Wpisy w izbie lekarskiej

Posiadam prawo wykonywania zawodu lekarza stomatologa wydane przez Okręgową Izbę Lekarską w Warszawie oznaczone numerem 2177097 i zezwolenie na wykonywanie indywidualnej specjalistycznej praktyki lekarskiej wydane przez Okręgową Izbę Lekarską w Warszawie, nr 67-98-2-01344. Od 1999 roku prowadzę indywidualną praktykę stomatologiczną.

3. Praca naukowa

3.1 Ogólna charakterystyka dorobku naukowego.

Mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje łącznie 48 opublikowanych prac (34 po doktoracie) w tym 19 prac oryginalnych (13 po doktoracie). Opublikowałam 18 prac w czasopismach posiadających Impact Factor (17 po doktoracie).

W 8 z wymienionych prac byłam pierwszym autorem. Opublikowałam 19 prac w języku angielskim (18 po doktoracie). Prace których jestem współautorem były publikowane w impaktowanych czasopismach naukowych, takich jak: Journal of Periodontology (1997), Connective Tissue Research (2009), International Journal of Molecular Sciences (2010), Folia Histochemica et Cytobiologica (2012), Folia Biologica (2006, 2013, 2014, 2016, 2017), Folia Morphologica (2014), Histochemistry and Cell Biology (2019), Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (2019), Cytokine (2020), Biomolecules (2022), International Journal of Environmental Research and Public Health (2022), Biomedicines (2023), Journal of Clinical Medicine (2023). Pozostałe prace opublikowałam w następujących magazynach: Magazyn Stomatologiczny (1992, 1993, 1994, 1995), Stomatologia Współczesna (1994, 1998, 2006), Czasopismo Stomatologiczne (1997, 1998, 2002, 2005, 2007), Chirurgia Narządów Ruchu i Ortopedia Polska (2006, 2013, 2016), Polski Merkuriusz Lekarski (2014), Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja (2015), Polish Journal of Sports Medicine (2021).

Jestem autorem tłumaczenia podręcznika „Mikrobiologia jamy ustnej” Wydawnictwo Naukowe PWN, 1994.

Jestem współautorem rozdziału w podręczniku: „Kompleksowe leczenie choroby zwyrodnieniowej stawów” Medsportpress. ISBN,2017.

W 2013 roku uzyskałam patent na obszarze Rzeczypospolitej Polskiej. Tytuł: „Preparation for maintenance of oral cavity hygiene and prevention of plaque formation.”

Parametryczna łączna ocean mojej działalności naukowej przedstawia się następująco:

Sumaryczny Impact Factor: 46,958

Punktacja MEiN: 1214

Indeks Hirscha (baza Scopus): 5

Indeks Hirscha (Web of Science): 6

Cytowania bez autocytoowań (Web of Science): 69; (Scopus): 84

Cytowania z autocytowaniami (Web of Science): 75; (Scopus): 91

Ponadto, jestem pierwszym autorem 21 doniesień na zjazdach zagranicznych i krajowych prezentowanych w formie ustnej lub plakatowej.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Cykl 6 publikacji (3 prac oryginalnych i 3 poglądowych) zebranych pod zbiorczym tytułem:

Wpływ metaloproteinazy 14 (MMP-14), genotypu interleukiny-1 i polimorfizmów genu IL-1 na procesy zapalne toczące się w jamie ustnej oraz ich rola jako potencjalnych markerów predykcyjnych, diagnostycznych i terapeutycznych.

Sumaryczny Impact Factor cyklu: IF = 28,117 (w tym dla prac oryginalnych: 12,789)

Sumaryczna punktacja MEiN cyklu: MEiN = 680 (w tym dla prac oryginalnych: 340)

4.2 Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

1. **Brodzikowska A** [autor korespondencyjny], Gondek A, Rak B, Paskal W, Pełka K, Cudnoch-Jędrzejewska A, Włodarski P. Metalloproteinase 14(MMP-14) and hsa-miR-410-3p expression in human inflamed dental pulp and odontoblasts. *Histochemistry and Cell Biology*. 2019;152(5):345-353.

IF = 3,418; MEiN = 100

2. **Brodzikowska A** [autor korespondencyjny], Górski B, Bogusławska-Kapala A. Association between IL-1 Gene Polymorphisms and Stage III Grade B Periodontitis

in Polish Population. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022;19(22):1-11

IF = 4,614; MEiN = 140

3. **Brodzikowska A** [autor korespondencyjny], Górski B, Bogusławska-Kapafa A. Effects of Interleukin-1 Genotype on the Clinical Efficacy of Non-Surgical Periodontal Treatment of Polish Patients with Periodontitis. Biomedicines. 2023;11(2):1-10

IF = 4,757; MEiN = 100

4. **Brodzikowska A** [autor korespondencyjny], Górski R, Kowalski J. Interleukin-1 Genotype in Periodontitis. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. 2019;67(6):367-373.

IF = 3,200; MEiN = 140

5. **Brodzikowska A** [autor korespondencyjny], Górski B. Polymorphisms in Genes Involved in Inflammation and Periodontitis. A Narrative Review. Biomolecules. 2022;12(4):1-15

IF = 6,064; MEiN = 100

6. **Brodzikowska A**, Ciechanowska M, Kopka m, Stachura A, Włodarski P. Role of Lipopolysaccharide Derived from Various Bacterial Species in Pulpitis. A Systemic Review. Biomolecules. 2022;12(1):1-30

IF = 6,064; MEiN = 100

4.3 Omówienie celu naukowego w/w prac, uzyskanych wyników wraz z omówieniem praktycznych implikacji przeprowadzonych analiz

Cykl publikacji stanowiących podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego jest rezultatem moich badań prowadzonych w Zakładzie Stomatologii Zachowawczej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Wprowadzenie

Zapalenie jest objawem bardzo wielu chorób, ale pomimo różnic w ich etiologii, odpowiedź immunologiczna i zapalna jest podobna. Zapalenie uszkadza tkanki, może prowadzić do martwicy, co sprawia że wczesna diagnoza i leczenie mają kluczowe znaczenie.

Zapalenie miazgi i przyzębia wierzchołkowego jest spowodowane przez drobnoustroje. Uszkodzenie miazgi powoduje uszkodzenie komórek i uwolnienie nieswoistych mediatorów prozapalnych, np. histaminy, bradykininy, neurokinin i prostaglandyn. Czynniki te powodują rozszerzenie naczyń, zwiększony przepływ krwi, co powoduje powstawanie wysięków i obrzęków. Zastój krwi prowadzi do zwiększonej agregacji krwinek czerwonych, wzrostu lepkości krwi i poziomu CO₂, a także do obniżenia wartości pH. Reakcje zapalne w miazdze nie są często spowodowane przez bezpośrednią ekspozycję na bakterie, ale na ich toksyny. Antygeny bakteryjne i lipopolisacharydy (LPS) zwiększają poziom immunoglobulin, interleukin, prostaglandyn i innych mediatorów prozapalnych w zakażonej miazdze. W reakcji miazgi związki bakteryjne i czynniki zapalne mogą stymulować degranulację i wydzielanie neutrofilii przez monocyty/makrofagi. Uwolniona IL-1 i czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) są zdolne do indukowania MMP-1, MMP-2 oraz ekspresji inhibitora tkankowego dla genu metaloproteinazy-1 (TIMP-1) w komórkach miazgi. Stymulacja przez gram ujemne bakterie beztlenowe (ang. „Black-Pigmented Bacteroides” – BPB) zwiększa produkcję MMP-2, a ich produkty prowokują komórki miazgi do wydzielania MMP-1 i MMP-2 oraz TIMP-1. Poziomy MMP-1, -2 i -3 są znacząco wyższe w przebiegu ostrego zapalenia miazgi niż w zdrowej tkance miazgi. Wykazano, że degradacja enzymatyczna macierzy pozakomórkowej (ECM) odgrywa ważną rolę w rozwoju stanu zapalnego.

Metaloproteinazy macierzy (MMP) tworzą grupę proteaz należących do rodziny strukturalnie pokrewnych enzymów proteolitycznych zależnych od cynku, o których wiadomo, że odgrywają kluczową rolę w katabolicznej przemianie macierzy pozakomórkowej (ECM) i składnikach błony podstawnej (MB). MMP są dzielone zgodnie z specyficznością i strukturą ich substratu na kolagenazy śródmiąższowe, żelatynazy, błonowe MMP, stromelizyny, matrylizyny i inne MMP. MMP regulują aktywność kilku bioaktywnych

substratów innych niż ECM, w tym czynników wzrostu, cytokin, chemokin i receptorów komórkowych z określeniem mikrośrodowiska tkanki. MMP odgrywają znaczącą rolę w rozwoju embrionalnym, gojeniu ran i różnicowaniu komórek podczas przebudowy tkanek.

W tkankach objętych stanem zapalnym MMP są syntetyzowane zarówno przez komórki strukturalne (np. fibroblasty, keratynocyty, komórki tłuszczne, osteoblasty i odontoblasty) jak i przez komórki zapalne (monocyty, makrofagi, limfocyty T i neutrofile). W stanach patologicznych (stany zapalne, nowotwory, choroby zwyrodnieniowe) zwiększona aktywność MMP nie jest skutecznie hamowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMP). Wynikiem tej nierównowagi jest częściowa degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej i uszkodzenie tkanki. Metaloproteinazy pełnią podwójną rolę w patogenezie stanu zapalnego, powodują bowiem zarówno niszczenie komórek, jak również stymulują ochronne odpowiedzi immunologiczne. Odgrywają także rolę w powstawaniu zmian w przyzębiu wierzchołkowym poprzez inicjowanie resorpcji kości.

Metaloproteinaza 14 (MMP-14), zwana także metaloproteinazą błonową typu 1 (MT1-MMP), jest jedną z metaloproteinaz, które mogą odgrywać kluczową rolę w miazdze zdrowej i objętej procesem zapalnym. Jej struktura zawiera domenę transbłonową, która przechodzi przez błonę komórkową, oraz krótką cytoplazmatyczną domenę C-końcową. MMP-14 bezpośrednio rozszczepia składniki macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym fibronektynę, kolagen i żelatynę. MMP-14 może również modulować odpowiedź zapalną makrofagów. Jednak dokładna funkcja MMP-14 i innych MMP w miazdze i odontoblastach jest nieznana.

MikroRNA (miRNA) są niezbędnymi regulatorami ekspresji genów w wielu procesach biologicznych, w tym stanach zapalnych, odpowiedzi immunologicznej i osteoklastycznej resorpcji kości. Wiele chorób, w tym stany zapalne są związane z ich dysregulacją. MikroRNA są wykorzystywane jako nowe biomarkery, wskaźniki prognostyczne i cele terapeutyczne w diagnostyce i leczeniu wielu chorób. Rola MikroRNA w stanach zapalnych jamy ustnej, rozwoju tkanek zęba i patofizjologii chorób jamy ustnej została poznana niedawno. Ostatnie badania nad MikroRNA wskazały na ich szczególne powiązanie z chorobami miazgi i przyzębia wierzchołkowego. MikroRNA są to małe niekodujące cząsteczki RNA, które wiążą się z nieulegającym translacji regionem 3' (UTR) informacyjnego RNA i w konsekwencji powodują degradację tego mRNA lub hamują jego translację. W rezultacie miRNA negatywnie regulują ekspresję docelowych genów. MikroRNA biorą udział w regulacji stanu zapalnego i odpowiedzi immunologicznej na infekcję bakteryjną miazgi zębowej.

Modulowana ekspresja miRNA w objętej zapaleniem miazdze zębowej wskazuje, że cząsteczki te biorą udział w odpowiedzi zapalnej w chorej miazdze zębowej. Odkryto też różnice w ekspresji MikroRNA w zapaleniu dziąseł i przyzębia.

Zapalenie przyzębia jest wywoływane przez drobnoustroje patogenne, które wywołują odpowiedź immunologiczno-zapalną ze strony gospodarza. Uwalniane przez komórki nacieku zapalnego mediatory stymulują komórki przyzębia do wydzielania metaloproteinaz, enzymów proteolitycznych bezpośrednio odpowiedzialnych za destrukcję tkanki łącznej oraz prostaglandyn, przyczyniających się do niszczenia kości wyrostka zębodołowego. Liczne badania wykazały znaczące różnice osobnicze w podatności na zapalenie przyzębia oraz przebieg choroby. Jednym z czynników przyczyniających się do indywidualnych różnic mogą być uwarunkowania genetyczne. Szczególną uwagę zwrócono na genetyczne uwarunkowania odpowiedzi immunologiczno-zapalnej, w tym rolę polimorfizmów genów kodujących produkcję mediatorów stanu zapalnego.

Polimorfizmami genowymi, którym poświęcono najwięcej uwagi w badaniach nad zapaleniem przyzębia, są polimorfizmy genów kodujących interleukinę-1 (IL-1). IL-1 stanowi rodzinę co najmniej dziesięciu cząsteczek, z których najlepiej poznane to IL-1 α , związana z komórką, oraz IL-1 β uwalniana do otoczenia i wykazująca działanie agonistyczne po związaniu z receptorem.

IL-1 uczestniczy w wielu procesach niezbędnych do zainicjowania i podtrzymania reakcji zapalnej. Zwiększa ona produkcję cząsteczek adhezyjnych ułatwiając migrację leukocytów, stymuluje produkcję innych mediatorów zapalenia oraz metaloproteinaz. Ponadto aktywuje limfocyty T i B, a także pobudza osteoblasty prowadząc do niszczenia kości, i stymuluje zaprogramowaną śmierć komórek produkujących macierz zewnątrzkomórkową, ograniczając w tym samym zdolności regeneracyjne tkanek.

IL-1 α i IL-1 β są kodowane odpowiednio przez geny IL1A i IL1B, zlokalizowane w pobliżu siebie na chromosomie 2q i posiadające wspólne sekwencje DNA. Każdy z tych genów jest polimorficzny. Ponieważ różnice w liczbie bądź funkcji IL-1 produkowanej w odpowiedzi na czynnik bakteryjny mogą potencjalnie przyczyniać się do różnic w podatności na zapalenie przyzębia i jego przebieg, polimorfizmy genów kodujących IL-1, jako markery podatności na zapalenie przyzębia, stały się przedmiotem szczególnego zainteresowania.

Analizy prowadzone przeze mnie oraz uzyskane rezultaty badań, które przedstawiam jako moje główne osiągnięcie naukowe wpisują się w powyższy nurt.

Szczegółowe omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Pierwsza publikacja: „Metalloproteinase 14 (MMP-14) and hsa-miR-410-3p expression in human inflamed dental pulp and odontoblasts”

Cykl prac otwiera publikacja, której celem jest ocena ekspresji MMP-14 w odontoblastach oraz w miazdze zębowej objętej zapaleniem miazgi.

Ponieważ analiza sekwencji nukleotydowej wskazuje, że miR-410 ma potencjalne miejsce wiązania na 3'UTR MMP-14, a zatem może regulować ekspresję tej metaloproteiny, oceniłam również ekspresję tego mikroRNA w obu strefach badanych miazg.

18 próbek miazgi zębowej pobrano z zębów usuniętych ze wskazań ortodontycznych lub z zębów objętych zapaleniem miazgi. Próbkę ekstypowanych tkanek utrwalono w formalinie i zatopiono w parafinie (FFPE). Histopatologiczna ocena fragmentów barwionych HE zweryfikowała poprawność klasyfikacji klinicznej jako miazga w stanie zapalnym lub zdrowa (próbka kontrolna). Następnie próbki badano pod względem ekspresji białek i miRNA za pomocą barwienia immunohistochemicznego oraz qRT-PCR.

Barwienie immunohistochemiczne (IHC) przeprowadzono na 10µm skrawkach tkanek zatopionych w parafinie. Skrawki odparafinowano, a antygeny eksponowano w buforze cytrynianowym. Aktywność endogennej peroksydazy była hamowana przez inkubację w 3% H₂O₂. Wiązanie niespecyficzne przeciwciał blokowano poprzez inkubację z 2,5% normalną surowicą końską. Następnie skrawki inkubowano przez noc w wilgotnej komorze z pierwotnym przeciwciałem poliklonalnym antiMMP-14. Jednocześnie wykonywano negatywne próbki kontrolne, które inkubowano z roztworem blokującym zamiast z przeciwciałem pierwszorzędowym. Inkubację z przeciwciałem wtórnym skoniugowanym z peroksydazą prowadzono przez 40 minut, po czym lokalizację białka MMP-14

zwizualizowano za pomocą chromogenu DAB. Skrawki zostały zabarwione hematoksyliną. Wyniki barwienia oceniano za pomocą mikroskopu z funkcją automatycznego skanowania (PALM Robo, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Niemcy). Ekspresję MMP-14 oceniano i oznaczano ilościowo zgodnie z intensywnością wybarwienia, stosując oprogramowanie IHC Profiler w ImageJ (ImageJ v 1.48).

Izolacja RNA z odontoblastów do analizy ekspresji miRNA

Trzy próbki zdrowej miazgi i trzy próbki miazgi ze stanem zapalnym poddano mikrodysekcji z przechwytywaniem laserowym (LCM) (PALM Robo, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Niemcy). Przed dysekcją skrawki grubości 10µm barwiono hematoksyliną i eozyną bez zakładania szkiełka nakrywkowego. Z każdej próbki wycięto laserowo i umieszczono w oddzielnych probówkach 15 mm² odontoblastów lub tkanki miazgi bez odontoblastów przygotowując je do dalszej analizy molekularnej.

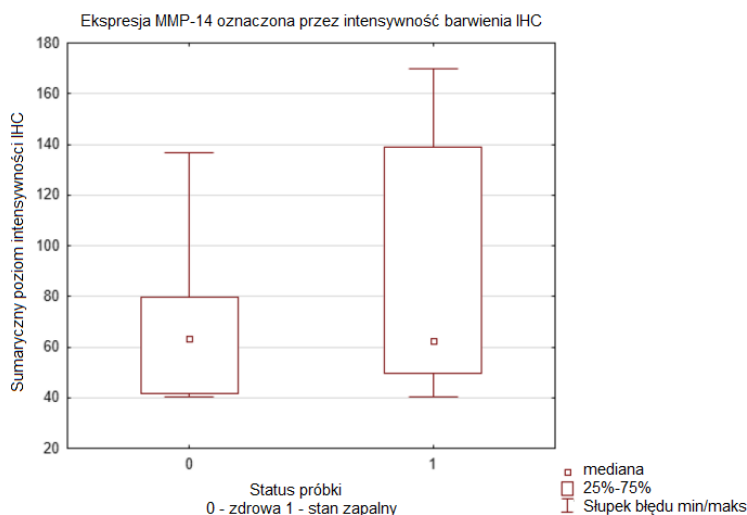
Całkowity RNA wyizolowano z wyciętych tkanek za pomocą zestawu RecoverALL Total Nucleic Acid Isolation Kit. Odwrotną transkrypcję przeprowadzono za pomocą starterów TaqMan miRNA i zestawu TaqMan microRNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Life Technologies Corporation, USA). Ekspresję miR-410 określono za pomocą PCR w czasie rzeczywistym przy użyciu testu Taqman MicroRNA Assay. Dla normalizacji wyników ekspresję badanego mir-410 odniesiono do ekspresji endogennego U6 snRNA. Względna ekspresja miR-410 została obliczona automatycznie metodą porównawczą Ct.

Analiza wyników. Półilościowe badanie ekspresji białka na podstawie IHC i względne Ct z qRT-PCR obliczono przy użyciu programu Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA). Wykresy i analizy statystyczne ekspresji mir-410 i barwienia anty-MMP 14, w tym test Wilcoxon dla par obserwacji, test U Manna-Whitneya, korelacja rang Spearmana i test jednokierunkowy ANOVA przeprowadzono za pomocą Statistica 11 (Statsoft Inc., Dell Statistica, Tulsa, OK, USA). Za znamienne przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0,05$.

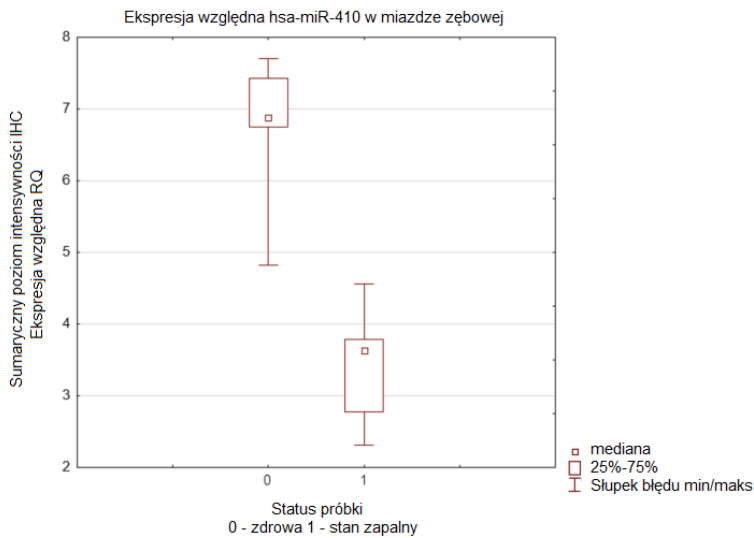
Ocenę ekspresji MMP-14 przeprowadzono na 12 próbkach za pomocą barwienia immunohistochemicznego. Zarówno w miazdze zdrowej jak i objętej stanem zapalnym, odontoblasty wybarwiły się bardziej intensywnie niż pozostała miazga, ale ta różnica nie była

statystycznie istotna ($p=0,071$, test Wilcozona dla par obserwacji). Bardziej wyraźne barwienie zaobserwowano w miazdze objętej stanem zapalnym w porównaniu z miazgami zdrowymi. Analiza ilościowa intensywności barwienia MMP-14 miazgi zdrowej i objętej stanem zapalnym została przedstawiona na rys. 2. Chociaż ekspresja MMP-14 była wyższa w miazdze objętej stanem zapalnym, te różnice są nieistotne statystycznie (testy U Manna-Whitneya i ANOVA).

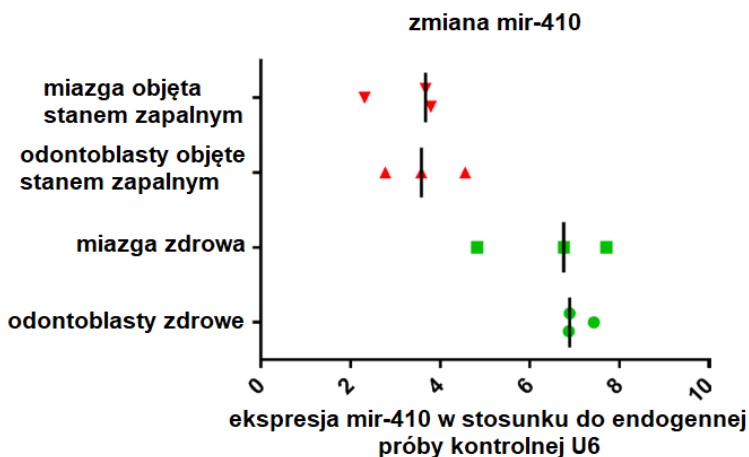
Ekspresja miR-410 w zdrowej i zmienionej zapalnie miazdze została przedstawiona na rys. 3. Ekspresja tego mikroRNA była istotnie niższa w miazdze objętej stanem zapalnym niż w miazdze zdrowej $p=0,0021$ i $p=0,0025$ (testy U Manna-Whitneya i jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA). Analiza ekspresji miR-410 zarówno w odontoblastach, jak i tkance miazgi pokazano na rys. 4. W dwóch badanych strefach, odontoblastach i pozostałej miazdze, ekspresja miR-410 była na podobnym poziomie $p>0,05$ (test Wilcozona dla par obserwacji). Jednak nie stwierdzono istotnej statystycznie korelacji ekspresji miR-410 i MMP-14 ($r=-0,028$, $p>0,05$, korelacja rang Spearmana) ani w zdrowej, ani w zmienionej zapalnie miazdze.



Rys. 2 Analiza ilościowa ekspresji MMP-14 oznaczanej na podstawie intensywności barwienia IHC w zdrowej i objętej stanem zapalnym tkance miazgi wg IHC Profiler w ImageJ (ImageJ v 1.48)



Rys. 3 Poziom ekspresji miR-410 w zdrowej i zmienionej zapalnie tkance miazgi. Ekspresję miR-410 oznaczono metodą qRT-PCR z U6 jako endogenną próbą kontrolą i obliczono metodą porównawczą CT



Rys. 4 Względny poziom ekspresji miR-410 w stosunku do kontroli endogennej - U6. Wykres przedstawia rozróżnienie na 4 podgrupy: materiał ze zdrowych miazg i miazg ze stanem zapalnym z wyodrębnieniem wyników dla miazgi całkowitej i dla wyizolowanych z niej odontoblastów. Wartość mediany jest zaznaczona linią.

Ekspresja MMP-14 w miazdze była oceniana przez barwienie immunohistochemiczne i analizę obrazów cyfrowych. Stwierdzono, że ekspresja MMP-14 była wyższa w miazdze objętej stanem zapalnym niż w miazdze zdrowej. Również warstwa odontoblastów wybarwiała się intensywniej niż inne komórki tkanki miazgi. Wyniki te jednak nie były istotne statystycznie, co może wynikać ze stosunkowo małej liczby próbek.

W bieżącym raporcie potwierdziłam nadekspresję MMP-14 na 12 próbkach, podczas gdy miR-410 badano na sześciu próbkach tkanek (trzech zdrowych i trzech ze stanem zapalnym z rozróżnieniem na miazgę i odontoblasty).

Według mojej najlepszej wiedzy jest to pierwsze badanie, które przedstawia ekspresję miR-410 w ludzkiej miazdze zębowej. Przedstawiłam w nim rozkład ekspresji MMP-14 w ludzkiej miazdze zębowej i odontoblastach i zilustrowałam, jak stan zapalny zmienia ekspresję MMP-14 w w tych komórkach. MMP-14, ze względu na swoją zdolność do aktywacji kolejnych metaloproteaz, może odgrywać kluczową rolę podczas przebudowy macierzy pozakomórkowej w stanie zapalnym. Ekspresja miR-410 była obniżona w zapalnej miazdze zębowej w tym i w jej odontoblastach. Te wyniki potwierdziły złożoną i specyficzną rolę miR-410 jako inhibitora stanu zapalnego i sugerują, że ten mikroRNA musi również odgrywać pewną rolę w patogenezie zapalenia miazgi. Konieczne są jednak dalsze badania, aby zdefiniować inne cele molekularne, z którymi oddziałuje miR-410 aby pełniej wyjaśnić mechanizmy modulacji procesu zapalnego miazgi.

Druga publikacja: "Association between IL-1 Gene Polymorphisms and Stage III Grade B Periodontitis in Polish Population."

Przegląd literatury dotyczącej częstości występowania polimorfizmów genetycznych w pozycji IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ w populacji polskiej nie był dotychczas analizowany. Dlatego moje badanie miało na celu określenie częstości występowania polimorfizmów genetycznych w pozycji IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ u dorosłych z III stadium, stopniem B zapalenia przyzębia, oraz u osób ze zdrowym przyzęciem. Określenie typów polimorfizmów genu IL-1 może mieć wartość predykcyjną i może być przydatne przy wyborze najskuteczniejszego sposobu leczenia.

Badanie składało się z części klinicznej i laboratoryjnej. Do badania były kwalifikowane osoby ogólnie zdrowe z rozpoznaniem stadium III, stopnia B zapalenia przyzębia (grupa badana), oraz osoby ze zdrowym przyzęciem (grupa kontrolna). Warunkiem uczestniczenia w badaniu była obecność minimum 20 zębów, brak profesjonalnego skalingu zębów w ciągu ostatnich 6 miesięcy, oraz podpisanie świadomej zgody na udział w badaniu.

Do badania nie były kwalifikowane osoby u których stwierdzono obecność chorób ogólnoustrojowych, które mogłyby wpłynąć na stan przyzębia (cukrzyca, choroby krwi lub zaburzenia odporności), osoby przyjmujące leki mogące zmienić przebieg choroby przyzębia (np. antybiotyki, sterydy, leki przeciwzapalne, leki immunosupresyjne). Wykluczano kobiety w ciąży lub w czasie laktacji, osoby palące lub używające inne wyroby tytoniowe.

U wszystkich pacjentów przeprowadzono kompleksowe badanie jamy ustnej wykorzystując kalibrowaną sondę periodontologiczną (sonda UNC 15 mm, Hu-Friedy's, USA). Oceniano liczbę zębów obecnych w jamie ustnej, wskaźnik płytki nazębnej (FMPI), wskaźnik krwawienia podczas zgłębnikowania (FMBOP), głębokość kieszonek dziąsłowych (PPD), oraz poziom przyczepu łącznotkankowego (CAL). W celu potwierdzenia rozpoznania klinicznego wykonano zdjęcia pantomograficzne i zdjęcia zębowe. Stadium III zapalenia przyzębia rozpoznawano, gdy maksymalne interproksymalne CAL wynosiło powyżej 5mm., radiologicznie oceniana utrata kości wyrostka zębodołowego wynosiła powyżej 1/3 części dokoronowej, utrata zębów z powodu choroby przyzębia wynosiła poniżej 4 zębów, oraz głębokość PPD była powyżej 6 mm.

Stopień zapalenia przyzębia odzwierciedla cechy biologiczne choroby, włączając w to dowody na gwałtowny przebieg i ryzyko jej przyszłego wystąpienia, przewidywaną odpowiedź na leczenie i wpływ na zdrowie ogólne. Stopień zapalenia przyzębia oceniano na podstawie radiogramów jako procent utraty kości wyrostka zębodołowego w stosunku do wieku pacjenta. Gdy wartość wahała się od 0,25 do 1,0 klasyfikowano jako stopień B. Zdrowe przyzębie definiowano, gdy odsetek miejsc z krwawieniem podczas zgłębnikowania wynosił mniej niż 10%, a głębokość kieszonek dziąsłowych była poniżej 3 mm.

Polimorfizmy IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ analizowano na podstawie testu GenoType PST (Hain Diagnostica, Niemcy; Greenstein i Hart 2002) zgodnie ze szczegółowym opisem dostarczonym przez producenta. Test polegał na izolowaniu DNA z uzyskanych komórek nabłonkowych pobranych z błony śluzowej policzka, a następnie amplifikacji fragmentów genów IL-1A i IL-1B metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Uzyskane fragmenty DNA poddano odwrotnej hybrydyzacji za pomocą sond rozpoznających allele przy locus IL-1A⁻⁸⁸⁹ i locus IL-1B⁺³⁹⁵³.

Analizę statystyczną przeprowadzono stosując oprogramowanie Statistica v. 13 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, Santa Clara, Kalifornia, USA). Dla każdego parametru obliczono średnią i odchylenie standardowe. Rozkład normalny analizowano za pomocą testu Shapiro-

Wilka. Liczbowe parametry demograficzne wykazujące rozkład normalny analizowano za pomocą testu t. Do identyfikacji różnic parametrów klinicznych między grupą badaną a grupą kontrolną zastosowano test Manna-Whitneya. Różnice między grupą badaną a kontrolną pod względem częstości występowania genotypów i alleli IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ oceniano za pomocą dokładnego testu Fishera. W celu określenia siły skojarzeń oceniano także iloraz szans (OR) i ich 95% przedziały ufności (95% CI). Wyniki uznano za istotne statystycznie dla $p < 0,05$.

W badaniu wzięło udział łącznie 50 pacjentów u których rozpoznano stadium III, stopień B zapalenia przyzębia i 35 osób ze zdrowym przyzęciem. Grupa badana obejmowała 26 kobiet i 24 mężczyzn, u których średnia wieku wynosiła $36,31 \pm 8,27$ lat, natomiast grupę kontrolną stanowiło 19 kobiet i 16 mężczyzn, ze średnia wieku $35,53 \pm 6,88$ lat. Dane demograficzne i kliniczne przedstawiono w tabeli 1.

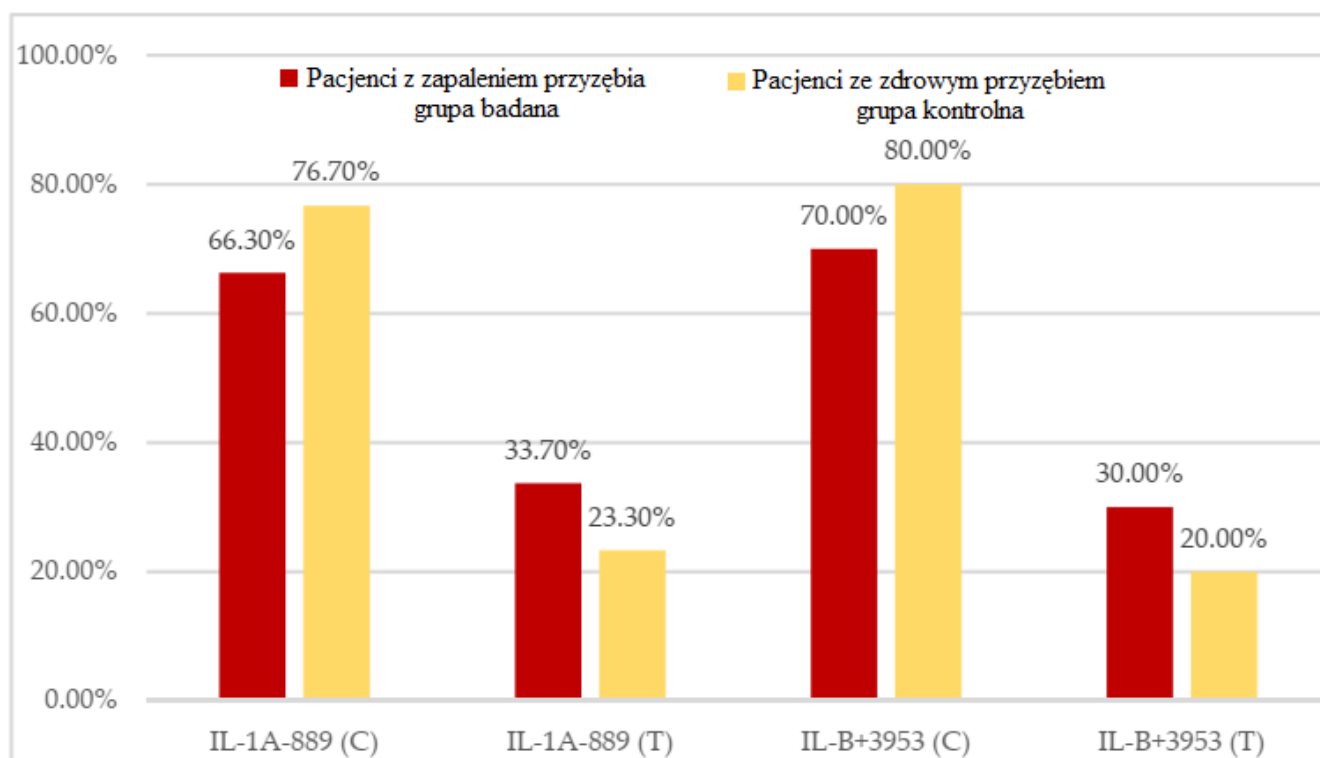
Tabela 1. Dane demograficzne i parametry kliniczne grupy badanej i kontrolnej

Zmienna	Grupa badana	Grupa kontrolna	<i>p</i>
Średnia wieku \pm SD (lata)	36.31 ± 8.27	35.53 ± 6.88	0.431
Płeć K/M n (%)	26/24 (52/48)	19/16 (54.2/45.8)	0.425
Liczba zębów	22.66 ± 1.53	23.12 ± 1.10	0.406
PPD (mm)	4.32 ± 1.68	1.45 ± 0.66	<0.001
CAL (mm)	3.68 ± 1.87	0.083 ± 0.22	<0.001
FMPI (%)	20.51 ± 6.57	6.59 ± 5.69	<0.001
FMBOP (%)	38.82 ± 19.02	15.25 ± 11.65	<0.001
IL-1A CC/CT/TT n (%)	16/40 (40.0%)	18/30 (60.0%)	0.051
	21/40 (52.5%)	10/30 (33.3%)	0.053
	3/40 (7.5%)	2/30 (6.7%)	0.431
IL-1B CC/CT/TT n (%)	19/40 (47.5%)	21/30 (70.0%)	0.029
	18/40 (45.0%)	6/30 (20.0%)	0.016
	3/40 (7.5%)	3/30 (10.0%)	0.322

SD — odchylenie standardowe; PPD — głębokość kieszonki; CAL — kliniczna utrata przyczepu; FMPI — wskaźnik płytki nazębnej; FMBOP — krwawienie podczas zgłębnikowania.

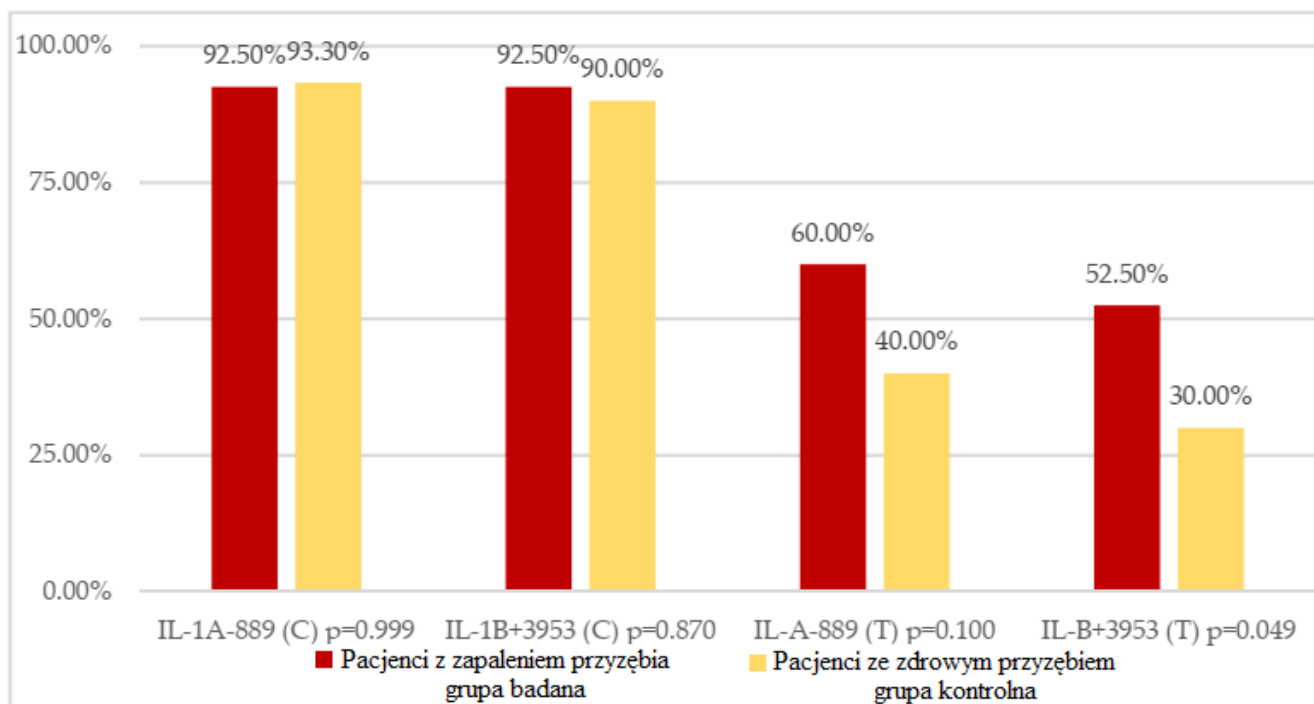
Rys. 1 przedstawia częstości występowania alleli IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ w grupie badanej i kontrolnej.

Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy grupami w występowaniu obu alleli IL-1.



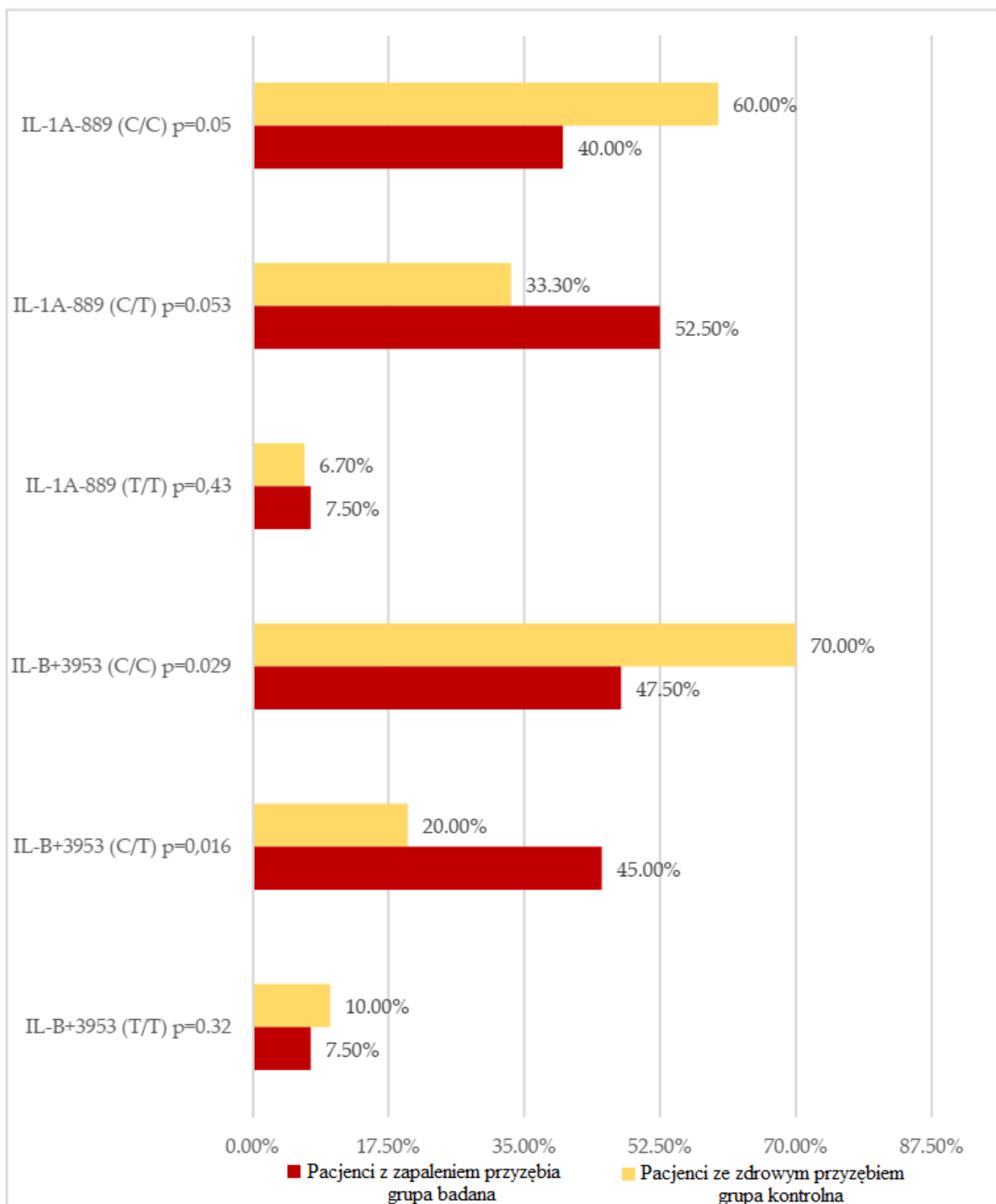
Rys. 1. Częstości występowania alleli IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ u pacjentów z zapaleniem przyzębia (grupa badana) i u osób ze zdrowym przyzębiem (grupa kontrolna).

Analiza częstości występowania osób będących nosicielami któregośkolwiek z dwóch alleli wykazała, że wskaźnik nosicielstwa allela IL-1B⁺³⁹⁵³ T u pacjentów z zapaleniem przyzębia był istotnie wyższy ($p=0,049$) (rys. 2).



Rys. 2. Częstości występowania osób będących nosicielami alleli IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ C lub T.

Analiza częstości występowania genotypów IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ wykazała, że genotyp IL-1B⁺³⁹⁵³ C/T był istotnie częstszy w grupie z zapaleniem przyzębia ($p=0,016$), natomiast częstość występowania genotypu IL-1B⁺³⁹⁵³ C/C była istotnie niższa ($p=0,029$) (rys. 3). Nie było różnicy w występowaniu genotypu IL-1B⁺³⁹⁵³ T/T. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku genotypów IL-1A⁻⁸⁸⁹, jednak różnice pomiędzy grupami były na granicy istotności (rys. 3).



Rys. 3. Częstości występowania genotypów IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ u pacjentów z zapaleniem przyzębia (grupa badana) i u osób ze zdrowym przyzęciem (grupa kontrolna).

Analiza złożonego genotypu PST+ wykazała, że częstość jego występowania w grupie badanej i kontrolnej wynosiła odpowiednio 26/50 (52,5%) i 10/35 (33,3%). Różnica ta była statystycznie istotna ($p=0,053$). Ponadto genotyp PST+ był powiązany z częstością występowania stadium III, stopnia B zapalenia przyzębia (OR=2,57; 95% CI, 0,97–6,99). Częstość występowania podwójnych homozygot IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ C/C u pacjentów z zapaleniem przyzębia i w grupie kontrolnej osób zdrowych wynosiła odpowiednio 20/50 (40%) i 21/35 (60%). Różnica ta była również statystycznie istotna ($p=0,05$) i sugeruje, że ten genotyp może być powiązany ze zmniejszoną podatnością na chorobę (OR=0,44; 95% CI, 0,16–1,07).

Wyniki niniejszego badania potwierdzają rolę polimorfizmu IL-1 w patogenezie stadium III, stopnia B zapalenia przyzębia. Nowatorski charakter badania polegał na tym, iż była to jedna z pierwszych opublikowanych prac w piśmiennictwie światowym od czasu wprowadzenia nowej klasyfikacji klinicznej zapalenia przyzębia, w której analizowano stadia i stopnie zapalenia przyzębia opisując polimorfizmy genetyczne interleukin.

W obecnym badaniu wykazano, że tendencja występowania stadium III, stopnia B zapalenia przyzębia była związana z genotypem IL-1A⁻⁸⁸⁹ C/T; ten związek był jednak na granicy istotności.

Przedstawione wyniki potwierdzają duże znaczenie allelela IL-1B⁺³⁹⁵³ T w etiopatologii stadium III, stopnia B zapalenia przyzębia. Jednak rola allelela IL-1B⁺³⁹⁵³ C wydaje się być niejasna. Częstość występowania genotypu IL-1B⁺³⁹⁵³ C/C była istotnie zmniejszona w grupie z zapaleniem przyzębia. Ponadto dominacja podwójnych homozygot IL-1A⁻⁸⁸⁹ C/C i IL-1B⁺³⁹⁵³ C/C w grupie pacjentów z zapaleniem przyzębia również była istotnie niższa niż u osób zdrowych. Stanowi to silną sugestię, że allelel IL-1B⁺³⁹⁵³ C i prawdopodobnie allelel IL-1A⁻⁸⁸⁹ C może być zgodny z fenotypem odporności.

Podsumowując, w ramach niniejszego badania wykazano, że występowanie stadium III, stopień B zapalenia przyzębia może być związane z allelelem IL-1B⁺³⁹⁵³ T i złożonym polimorfizmem IL-1, a zmniejszona podatność wydawała się mieć związek z homozygotycznością IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ C/C u dorosłych Polaków. Uzyskane wyniki skłaniają do wniosku, iż określenie typów polimorfizmów genu IL-1 może być pomocne przy wyborze najskuteczniejszego leczenia choroby przyzębia.

Trzecia publikacja: "Effects of Interleukin-1 Genotype on the Clinical Efficacy of Non-Surgical Periodontal Treatment of Polish Patients with Periodontitis."

Celem publikacji nr 3 zgłaszanej w obecnym cyklu była ocena wpływu genotypu dla Interleukiny-1 na skuteczność leczenia podstawowego zapalenia przyzębia. Badanie przeprowadzono w grupie 60 pacjentów (42 kobiety, 18 mężczyzn), w wieku 39-64 lat, z rozpoznaniem stadium I, II, III i IV, stopnia B zapalenia przyzębia. Średni wiek pacjentów wynosił $55,2 \pm 4,2$ lata. Podczas badania wstępnego (T1) pobrano wymaz z błony śluzowej policzka w celu oznaczenia genotypu IL-1 za pomocą GenoType® PST (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Niemcy). Test polega na wyizolowaniu DNA z uzyskanych komórek nabłonka, a następnie amplifikacji fragmentów genu IL-1A i IL-1B metodą reakcji łańcuchowej polimerazy. Otrzymane fragmenty DNA poddano odwrotnej hybrydyzacji za pomocą sond identyfikujących allele w loci IL-1A⁻⁸⁸⁹ oraz IL-1B⁺³⁹⁵³. Na podstawie tego badania, pacjentów podzielono na dwie grupy: grupa z dodatnim genotypem (IL+) i grupa z ujemnym genotypem (IL-). 30 pacjentów miało genotyp dodatni IL+ (20 kobiet, 10 mężczyzn) i 30 miało genotyp ujemny IL- (22 kobiety, 8 mężczyzn). W badaniu wstępnym (T1) oraz w badaniach kontrolnych przeprowadzonych po 6-8 tygodniach (T2) i po 16-18 tygodniach (T3) oceniano stan przyzębia na podstawie pomiaru kieszonek przyzębnych przy sześciu powierzchniach każdego zęba (PPD), pomiaru przyczepu łącznotkankowego (CAL), oraz oceny odsetka powierzchni zębowych z płytką bakteryjną (FMPI) i odsetka kieszonek przyzębnych krwawiących przy zgłębnikowaniu (FMBOP). Leczenie obejmowało skaling i wygładzenie powierzchni korzenia (SRP), oraz instruktaż higieny jamy ustnej z motywacją. Badane osoby były kalibrowane na każdym etapie. Dane demograficzne i parametry kliniczne przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup

Zmienna	IL+	IL-	<i>p</i>
Średnia wieku \pm SD (lata)	4.3 \pm 5.3	56.1 \pm 4.2	0.432
Płeć K/M n (%)	20/10 (66.6/33/3)	22/8 (73.3/26.6)	0.453
Liczba zębów, średnia \pm SD	21.56 \pm 1.62	22.53 \pm 1.30	0.456
FMPI, średnia \pm SD (%)	83.71 \pm 10.76	86.91 \pm 10.91	<0.001
FMBOP, średnia \pm SD (%)	52.78 \pm 21.6	50.95 \pm 28.09	<0.001
PPD, średnia \pm SD (mm)	3.55 \pm 0.73	3.47 \pm 1.12	<0.001

CAL, średnia ± SD (mm)	9.85 ± 1.81	10.66 ± 2.13	<0.001
Etap I, n (%)	0 (0)	0 (0)	>0.05
Etap II, n (%)	10 (33.3)	9 (30)	>0.05
Etap III, n (%)	12 (40)	14 (46.6)	>0.05
Etap IV, n (%)	8 (26.6)	7 (23.3)	>0.05

SD — odchylenie standardowe; FMPI — wskaźnik płytki nazębnej; FMBOP — krwawienie podczas zgłębnikowania; PPD — głębokość kieszonki; CAL — kliniczna utrata przyczepu.

W badaniu T1 nie zaobserwowano istotnych różnic w badanych parametrach między pacjentami o różnych genotypach. Parametry kliniczne (średnia i odchylenie standardowe) na początku badania, 6–8 tygodni i 16–18 tygodni po leczeniu przedstawiono w tabeli 2. Badanie wykazało poprawę wszystkich badanych parametrów klinicznych po 6–8 tygodniach. Ta poprawa utrzymywała się do badania T3 po 16–18 tygodniach. Podczas porównywania procentowego udziału powierzchni z płytką nazębną (tabela 2) zaobserwowałam istotne zmniejszenie procentowego udziału powierzchni z płytką nazębną po 6–8 tygodniach (T2) dla obu genotypów, które utrzymywało się po 16–18 tygodniach (T3). Niewielki spadek odsetka powierzchni z płytką nazębną między badaniami T2 i T3 nie był istotny statystycznie. Na żadnym etapie badania nie zaobserwowano istotnej różnicy w odsetku powierzchni z płytką nazębną pomiędzy pacjentami z genotypem IL+ a pacjentami z genotypem IL–.

Dla obu badanych genotypów w badaniu T2 zaobserwowano istotne zmniejszenie odsetka kieszonek dziąsłowych krwawiących podczas zgłębnikowania, które utrzymywało się do badania T3 (tabela 2). Nie było istotnej zmiany między badaniem T2 i T3. Porównanie między pacjentami z genotypem IL+ a pacjentami z genotypem IL– nie wykazało żadnych znaczących różnic na każdym etapie badania.

Dla obu badanych genotypów po 6–8 tygodniach nastąpiło znaczne zmniejszenie głębokości kieszonek dziąsłowych (tabela 2). U pacjentów z genotypem IL– dalsze istotne spłylenie kieszonek obserwowano po 16–18 tygodniach, natomiast u pacjentów z genotypem IL+ dalsze spłylenie nie było istotne podczas badania T3. W przypadku obu genotypów zaobserwowano istotny wzrost odsetka kieszonek o głębokości <4mm między badaniami T1 a T2 (tabela 2). Ponadto pomiędzy badaniami T2 i T3 zaobserwowano dalszy wzrost odsetka płytkich kieszonek dla obu genotypów, który osiągnął poziom istotny statystycznie u pacjentów z genotypem IL–. Porównanie odsetka płytkich kieszonek między pacjentami z genotypami IL+ i IL– wykazało porównywalne wartości tego parametru w obu grupach podczas badań T1 i T2, natomiast w badaniu T3 znacznie większy odsetek kieszonek o

głębokości <4mm stwierdzono u pacjentów z genotypem IL-. Dla obu genotypów pomiędzy badaniami T1 i T2 zmniejszył się odsetek kieszonek o głębokości 4–6mm (tabela 2). Ponadto, pomiędzy badaniami T2 i T3 dla obu genotypów nastąpił dalszy nieznaczny spadek w procencie kieszonek średnio głębokich, jednak różnica nie była istotna. Porównanie odsetka kieszonek o średniej głębokości pomiędzy pacjentami z genotypami IL+ i IL- wykazało zbliżone wartości tego parametru w obu grupach podczas badań T1 i T2, natomiast w badaniu T3 zaobserwowano znacznie większy odsetek kieszonek o głębokości 4–6 mm u pacjentów z genotypem IL+.

Tabela 2. Parametry kliniczne (średnia i odchylenie standardowe) na początku badania (T1), 6–8 tygodni (T2) oraz 16–18 tygodni (T3) po leczeniu.

Zmienna	T1	T2	T3	P T1-T2	P T1-T3	P T2-T3
FMPI IL+ (%)	83.71 ± 10.76	56.61 ± 17.33	56.16 ± 17.17	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
FMPI IL- (%)	86.91 ± 10.91	49.11 ± 21.36	45.77 ± 18.79	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05			
FMBOP IL+ (%)	52.78 ± 21.6	21.79 ± 13.89	22.53 ± 13.06	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
FMBOP IL- (%)	50.95 ± 26.09	17.1 ± 15.0	16.69 ± 13.51	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05			
PPD IL+ (mm)	3.55 ± 0.73	2.7 ± 0.69	2.6 ± 0.56	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
PPD IL- (mm)	3.47 ± 1.12	2.52 ± 1.01	2.33 ± 0.91	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05			
CAL IL+ (mm)	9.85 ± 1.81	9.3 ± 2.01	9.06 ± 1.86	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
CAL IL- (mm)	10.66 ± 2.13	9.89 ± 1.87	9.72 ± 1.88	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05			
%PPD < 4 mm IL+	53.92 ± 19.03	77.41 ± 18.07	80.18 ± 14.93	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
%PPD < 4 mm IL-	58.84 ± 23.95	82.85 ± 20.93	85.74 ± 19.54	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05			
%PPD 4–6 mm IL+	40.21 ± 14.89	20.26 ± 15.93	18.45 ± 13.84	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
%PPD 4–6 mm IL-	33.7 ± 16.41	13.9 ± 13.88	11.9 ± 13.61	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05			
%PPD > 6 mm IL+	5.64 ± 5.16	2.33 ± 3.44	1.37 ± 2.19	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05
%PPD > 6 mm IL-	7.45 ± 13.39	3.24 ± 8.94	2.36 ± 6.97	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> > 0.05
<i>p</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05			

FMPI — wskaźnik płytki nazębnej; FMBOP — krwawienie podczas zgłębnikowania; PPD — głębokość kieszonki; CAL — kliniczna utrata przyczepu; P — różnice wewnątrz grupy; *p* — różnice między grupami.

Dla obu genotypów zaobserwowano istotne zmniejszenie odsetka głębokich kieszonek >6mm między badaniami T1 i T2 (tabela 2). Ponadto między badaniami T2 i T3 stwierdzono

dalsze nieznaczne zmniejszenie odsetka głębokich kieszonek, ale różnica między badaniami T2 i T3 była istotna tylko u pacjentów z genotypem IL+. W żadnym momencie badania nie było istotnej różnicy w odsetku głębokich kieszonek między pacjentami z IL+ a pacjentami z IL-.

Dla obu genotypów zaobserwowano znaczącą odbudowę przyczepu łącznotkanowego między badaniami T1 i T2, średnio 0,55mm u pacjentów z genotypem IL+ i 0,77mm u pacjentów z genotypem IL- (tabela 2). Dalsza odbudowa przyczepu między badaniami T2 i T3 wynosiła 0,24 mm u pacjentów z genotypem IL+ ($p>0,05$) i 0,17mm u pacjentów z genotypem IL- ($p<0,05$).

W grupie pacjentów ze zdiagnozowanym zapaleniem przyzębia i z genotypem IL+ zaobserwowałam silną dodatnią korelację między genotypem IL+ a ogólną redukcją głębokości kieszonek ($r=0,373\pm 0,441$; $p<0,05$). Z drugiej strony w badanych grupach nie stwierdzono korelacji między IL-1 SNP (polimorfizm pojedynczego nukleotydu) i BOP a wskaźnikiem płytki nazębnej (odpowiednio $r=0,130$; $p>0,05$; $r=0,162$; $p>0,05$). Najwyższe współczynniki korelacji stwierdzono między IL+ SNP a redukcją głębokich kieszonek przyzębnych u pacjentów z ciężkim zapaleniem przyzębia (odpowiednio stadium III i IV, $r=0,638$; $p<0,05$ i $r=0,549$; $p<0,05$).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na istotny wpływ genotypu dla IL-1 na skuteczność leczenia podstawowego u pacjentów z chorobą przyzębia. Genotyp dla IL-1 może być jednym z czynników przyczyniającym się do zmniejszenia głębokości kieszonek dziąsłowych i odbudowy przyczepu łącznotkankowego po niechirurgicznym leczeniu choroby przyzębia. Poprawę stanu przyzębia obserwowano między 6–8 i 16–18 tygodniem po zabiegu u dorosłych pacjentów z genotypem IL-, natomiast u pacjentów z genotypem IL+ nie odnotowano różnicy w badanych parametrach. Praca ta jest ważnym punktem wyjścia do dalszych badań mających na celu lepsze zrozumienie roli genotypu interleukiny-1 w leczeniu choroby przyzębia.

Czwarta publikacja: „Interleukin-1 Genotype in Periodontitis.”

W pracy w obecnym cyklu przedstawiłam aktualny stan wiedzy na temat roli polimorfizmów genów IL1A i IL1B w zapaleniu przyzębia. Zwróciłam uwagę na rolę IL-1 w patogenezie choroby oraz na znaczenie testu genetycznego badającego obecność dwóch złożonych polimorfizmów genu IL-1 jako czynnika ryzyka ciężkiego zapalenia przyzębia. Omówiłam znaczenie tego testu w profilaktyce zapalenia przyzębia i jego leczeniu. Przedstawiłam polimorfizmy IL-1 i opisałam je posługując się referencyjnym numerem identyfikacyjnym (rsID) polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP), ustalonym w celu wyeliminowania nadmiaru zgłoszonych polimorfizmów w bazie danych SNP, przetwarzanej przez National Center for Biotechnology Information (Narodowe Centrum Informacji Biotechnologicznej). Omówiłam występowanie tych genotypów w różnych populacjach i grupach etnicznych oraz ich wpływ na zdrowie przyzębia. Przedstawione dane wykazują niespójne wyniki. Wydaje się, że z zapaleniem przyzębia są związane co najmniej dwa polimorfizmy: rs1800587 i rs1143634. Dlatego można je uznać za geny kandydujące, brane pod uwagę w dalszej ocenie ryzyka zapalenia przyzębia. Wydaje się, że dużą rolę mogą odgrywać także czynniki geograficzne i etniczne, ponieważ występowanie poszczególnych polimorfizmów znacznie się różni w zależności od badanej populacji.

Piąta publikacja: "Polymorphisms in Genes Involved in Inflammation and Periodontitis. A Narrative Review."

Celem tego przeglądu narracyjnego jest podsumowanie roli polimorfizmów genetycznych w stanach zapalnych i zapaleniu przyzębia, Omówiona została również rola receptorów komórkowych, antygenów zgodności tkankowej, przeciwciał i cytokin.

Źródłem zmienności wewnątrz gatunku są polimorfizmy genetyczne. Mianem polimorfizmu określa się występowanie w populacji, co najmniej dwóch form genu, z których każda występuje z częstością większą niż 1%. Polimorfizm jest efektem zmian zachodzących w sekwencji DNA, które mogą być wykryte metodami biologii molekularnej. Polimorfizm genetyczny może być wynikiem zmiany pojedynczego nukleotydu w sekwencji DNA na inny, usunięcia bądź wstawienia jednego lub więcej nukleotydów, lub wstawienia powtarzających się sekwencji. Zmiany mogą występować w części genu, która koduje białko (egzonie), w sekwencji nie kodującej (intronie) lub w sekwencji regulującej transkrypcję (promotorze).

Mutacje w obrębie egzonu mogą zmienić strukturę kodowanego białka. Zmiany w obrębie promotora mogą wpłynąć na transkrypcję genu, która jest pierwszym etapem w procesie powstawania białka. Mutacje w obrębie intronu mogą prowadzić do zmiany funkcji genu.

Podjęto próby określenia związku między występowaniem polimorfizmów genetycznych, ekspresją genu i podatnością na niektóre choroby. Celem tych badań było zarówno lepsze zrozumienie etiopatogenezy choroby, jak i poznanie polimorfizmów, które mogłyby służyć jako markery podatności na chorobę. Zwracano przy tym uwagę na to, że częstość występowania polimorfizmów różni się znacznie w różnych populacjach, stąd też wyniki uzyskane w jednej populacji nie mogą być bezpośrednio przeniesione na inne. W odniesieniu do zapalenia przyzębia badania koncentrowały się nad polimorfizmami genów kodujących białka uczestniczących w procesie zapalnym i w odpowiedzi immunologicznej, m.in. antygeny zgodności tkankowej, przeciwciała klasy IgG, ich receptory, a także cząsteczki CD14, receptory Toll-podobne, receptory dla witaminy D i inne receptory komórkowe. Badano również polimorfizmy genów kodujących metaloproteinazy. Największą uwagę poświęcono jednak polimorfizmom genów kodujących cytokiny pro- i przeciwzapalne.

Aktualne dowody wskazują, że zmienność cech zapalenia przyzębia u ludzi można przypisać czynnikom genetycznym. Różne warianty alleliczne mogą wywoływać zmiany w strukturze tkanki, w odpowiedzi przeciwciał i w mediatorach stanu zapalnego. W związku z tym zmiany genetyczne mogą działać jako czynniki ochronne lub czynniki ryzyka chorób przyzębia. Szereg cech odpowiedzi zapalnej i immunologicznej, które wydają się odgrywać rolę w rozwoju zapalenia przyzębia, ma jasno określone podłoże genetyczne. Identyfikacja genów, które przyczyniają się do patogenezy zapalenia przyzębia, może być wykorzystana do oceny ryzyka zarówno w agresywnym, jak i przewlekłym zapaleniu przyzębia.

Podsumowując, zapalenie przyzębia jest chorobą, której występowanie jest uzależnione od obecności w danym momencie zarówno czynników zewnętrznych (drobnoustroje patogenne), jak i wewnętrznych (odpowiedź gospodarza). Jakość odpowiedzi immunologiczno-zapalnej zależy w dużym stopniu od uwarunkowań genetycznych. Niektóre polimorfizmy genów kodujących białka biorące udział w odpowiedzi gospodarza mogą być czynnikami ryzyka dla chorób o podłożu zapalnym, w tym i dla zapalenia przyzębia. Poznanie możliwie jak największej liczby czynników genetycznych związanych z odpowiedzią gospodarza może zatem pozwolić na dokładniejsze określenie ryzyka występowania choroby

u danego pacjenta, stąd też rola polimorfizmów genetycznych w zapaleniu przyzębia jest obecnie przedmiotem licznych badań.

Szósta publikacja: "Role of Lipopolysaccharide Derived from Various Bacterial Species in Pulpitis. A Systemic Review."

Cykl prac zamyka opracowanie, które przeprowadza analizę dostępnej literatury dotyczącej roli lipopolisacharydów w zapaleniu miazgi. Jak wykazały liczne badania lipopolisacharydy (LPS) indukują stan zapalny w różnych tkankach człowieka, w tym w miazdze zębowej. Celem tego badania było podsumowanie aktualnej literatury, skupiającej się na typach komórek wykorzystywanych przez naukowców do symulacji zapalenia miazgi zębowej, wariantach LPS wykorzystywanych w warunkach eksperymentalnych oraz wpływie tych wyborów na wyniki. Nasze badanie zostało przeprowadzone zgodnie z preferowanymi pozycjami raportowania dla przeglądów systematycznych i metaanaliz (PRISMA). Szukaliśmy badań opisujących wyniki aplikacji lipopolisacharydu na komórki miazgi zębowej *in vitro*, wykorzystując elektroniczne bazy danych: MEDLINE, Web of Science i Scopus. Po zebraniu danych, postawiliśmy sobie za cel przedstawienie wszystkich znanych efektów działania LPS na różne typy komórek obecnych w miazdze zębowej. Skupiliśmy się na określonych receptorach i cząstkach, które biorą udział w szlakach molekularnych.

Przyczyną zapalenia miazgi są najczęściej bakterie Gram-ujemne. Lipopolisacharydy (LPS), będące składnikami błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych, biorą udział w indukowaniu stanu zapalnego miazgi zęba. Zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw tej patologii może pomóc w znalezieniu nowych, specyficznych metod leczenia.

Badaliśmy, jak LPS wpływa na różne szlaki prozapalne w komórkach miazgi. Główną rolę odgrywa aktywacja receptora TLR, a następnie stymulacja NF- κ B. Inną ważną rolę w zapaleniu stymulowanym przez LPS odgrywają NLR i ROS. Zmiany w komórkach poddanych działaniu LPS zachodzą na wszystkich poziomach regulacji ekspresji, od metylacji DNA do posttranslacyjnej modyfikacji mRNA.

Nasz przegląd daje niezbędne podstawy do dalszych badań z wykorzystaniem modeli zapalenia miazgi *in vitro*.

Praktyczne implikacje przeprowadzonych analiz

Wszystkie analizy oraz uzyskane rezultaty badań, które przedstawiłam jako moje główne osiągnięcie naukowe, dotyczą zagadnień nowych lub nieopisywanych dotychczas w polskiej populacji. Najistotniejsze wnioski przeprowadzonych prac można podsumować w następujący sposób:

- Po raz pierwszy demonstruje ekspresję miR-410 w ludzkiej miazdze zębowej, oraz pokazałam, że ekspresja tego mikroRNA była obniżona w miazdze zębowej i odontoblastach objętych stanem zapalnym.
- Wykazałam ekspresję MMP-14 w ludzkiej miazdze zębowej i odontoblastach zarówno w miazdze zdrowej, jak i objętej stanem zapalnym i zilustrowałam, jak stan zapalny zmienia ekspresję MMP-14 w tkance miazgi, w tym w odontoblastach. Wyniki potwierdziły złożoną i specyficzną rolę miR-410 jako inhibitora stanu zapalnego i sugerują, że ten mikroRNA musi również odgrywać pewną rolę w patogenezie zapalenia miazgi.
- Częstość występowania polimorfizmów genetycznych w loci IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ nie była dotychczas badana w populacji polskiej. Dlatego moje badanie miało na celu określenie częstości występowania polimorfizmów genetycznych w loci IL-1A⁻⁸⁸⁹ i IL-1B⁺³⁹⁵³ u dorosłych z zapaleniem przyzębia etap III stopień B oraz u osób ze zdrowym przyzęciem. Określenie typów polimorfizmów genu IL-1 może mieć wartość predykcyjną i może być przydatne przy wyborze najskuteczniejszego leczenia.
- Nowatorski charakter badania polegał na tym, iż była to jedna z pierwszych opublikowanych prac w piśmiennictwie światowym od czasu wprowadzenia nowej klasyfikacji klinicznej zapalenia przyzębia, w której analizowano stadia i stopnie zapalenia przyzębia opisując polimorfizmy genetyczne interleukin.
- Wykazałam, iż u części polskiej populacji występują polimorfizmy genetyczne, które mogą zwiększać ryzyko rozwoju choroby przyzębia. Uzyskane wyniki skłaniają do wniosku, iż określenie polimorfizmów może być wykorzystane w ocenie ryzyka wystąpienia choroby oraz w celu podejmowania wczesnych działań zapobiegających.
- Wyniki moich badań wskazują, że genotyp IL-1 może być jednym z czynników wpływających na proces gojenia po niechirurgicznym leczeniu choroby przyzębia.

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

5.1 Aktywność naukowa realizowana we współpracy z jednostkami Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

- Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Od 1998 roku jestem związana naukowo z Zakładem Histologii i Embriologii WUM. Współpracuje w zakresie badań związanych z histogenezą kości. Prowadziliśmy badania dotyczące regulacji osteoblastogenezy i udziału osteoblastów w osteoklastogenezie. Dużo uwagi poświęciliśmy niedawno zidentyfikowanej sklerostynie, która jest silnym inhibitorem proliferacji i różnicowania komórek kościotwórczych.

W wyniku tej współpracy ukazało się szereg publikacji:

1. Włodarski K, Włodarski P, **Brodzikowska A**, Łuczak M, Galus K. Starzenie się komórek osteogennych. Czasopismo Stomatologiczne. 1998;51(10): 631-638
2. Włodarski PK, Galus R, **Brodzikowska A**, Włodarski KH. Zastosowanie białek morfogenetycznych kości (BMP) w leczeniu ubytków kości. Aplikacje kliniczne w stomatologii i ortopedii. Czasopismo Stomatologiczne. 2002;LV(2):110-114
3. Włodarski K, Włodarski P, Galus R, **Brodzikowska A**. Przeróżnicowanie (metaplazja) chondrocytów w komórki kościotwórcze. Chirurgia narządów ruchu i Ortopedia Polska 2006;71(3):199-203

4. Włodarski K, Włodarski P, **Brodzikowska A**. Metaplasia of chondrocytes into osteoblasts. *Folia Biologica - Krakow*. 2006;54(3-4):75-80
5. Włodarski P, Galus R, Włodarski K, **Brodzikowska A**. Heterotopic osteogenesis by murine demineralized incisors at lesions sites induced by Concanavalin A in mice. *Connective Tissue Research*. 2009;50(1):1-6
6. Włodarski K, Włodarski P, Galus R, **Brodzikowska A**. Effects of time of initial exposure to MSV sarkoma on bone induction by dentine matrix implants and on orthotopic femora. *Int. J. Mol. Sci*. 2010;11(9):3277-3287.
7. Włodarski K, Galus R, **Brodzikowska A**, Włodarski P. The adipocyte componenet of bone marrow in heterotopic bone induced by demineralized incisor grafts. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2012;50(3):444-449
8. Włodarski P, Galus R, **Brodzikowska A**, Włodarski K. Osteogenic efficiency of demineralized and lyophilized xenogeneic bone and syngeneic dentine implants in mice. *Folia Biologica -Kraków*. 2013;61(1-2):25-29.
9. Włodarski K, Galus R, **Brodzikowska A**, Włodarski P. Sclerostin, an osteocytes-derived bone-forming inhibitor. *Polish Orthopedics and Traumatology*. 2013; 78:151-154.
10. Włodarski K, **Brodzikowska A**, Kuzaka B. Are Chondroclasts and Osteoclasts Identical? *Folia Biologica -Kraków*. 2014;62(2):143-147.
11. Włodarski K, Wojtowicz A, **Brodzikowska A**, Galus R. Incidence of bone formation by whole bone marrow cell suspensions and by its stromal cell cultures injected into kidney parenchyma of Balb/c mice. *Folia Morphologica*. 2014;73(4):482-485.
12. Włodarski K, Galus R, **Brodzikowska A**, Włodarski P, Wojtowicz A. Znaczenie laktoferyny w regeneracji kości. *Polski Merkiusz Lekarski*. 2014;37(217): 65-67.
13. Szczęsny G, **Brodzikowska A**, Galus R, Włodarski P, Włodarski K.H. Osteocyty – centralny regulator homeostazy kości. Regulation of bone homeostasis by osteocytes. *Ortopedia, Traumatologia, Rehabilitacja*. 2015;17(6): 567-675.
14. Galus R, **Brodzikowska A**, Wojtowicz A, Włodarski K. Osteocytic osteolysis. Osteoliza osteocytarna. *Chirurgia Narządów Ruchu Ortopedia Polska*. 2015;80(6):255-257
15. **Brodzikowska A**, Wojtowicz A, Galus R, Włodarski K. Czynniki transkrypcyjne w regulacji osteoblastogenezy i udział osteoblastów w reglacji osteoklastogenezy.“ *Chirurgia Narządu Ruchu Ortopedia Polska*. 2016;80(1):258-261.

16. Galus R, Włodarski P, Mazur S, Włodarski K, **Brodzikowska A**. Osteocyte Lacunae Density in Dentine – Induced Ectopic Bone. *Folia Biologica -Kraków*.2016;64(2):75-78
 17. **Brodzikowska A**, Włodarski K, Galus R. Repopulation of Irradiated Mice with Medicinally Stimulating Cells and Infection with Moloney Sarcoma Virus Have a Profound Effect on Regeneration of Splenic Megakaryocytes. *Folia Biologica – Krakow*. 2017;65(3):137-141.
 18. Włodarski K, Szczęsny G, **Brodzikowska A**. Physiological and histological conditionings of articular cartilage regeneration techniques and clinical application of these techniques. *Medycyna Sportowa*. 2021;37(3):127-145.
- Laboratorium Centrum Badań Przedklinicznych Zakładu Metodologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Od 2019 roku współpracuję z Zakładem Metodologii WUM. Prowadzimy badania oceniające rolę metaloproteinaz w odontoblastach i miazdze zębowej objętej stanem zapalnym. Analizowaliśmy również ekspresję miR-410 w obu strefach tkanki. Ocenialiśmy również wpływ lipopolisacharydów będących składnikami błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych, w indukowaniu stanu zapalnego miazgi zęba. Wynikiem prowadzonych analiz są dwie prace będące częścią cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe.

1. **Brodzikowska A**, Gondek A, Rak B, Paskal W, Pełka K, Cudnoch-Jędrzejewska A, Włodarski P. Metalloproteinaze 14 (MMP-14) and hsa-miR-410-3p expression in human inflamed dental pulp and odontoblast. *Histochemistry and Cell Biology*.2019;152(5):345-353
2. **Brodzikowska A**, Ciechanowska M, Kopka M, Stachura A, Włodarski P. Role of Lipopolysaccharide, Derived from Various Bacterial Species, in Pulpitis – A Systematic Review. *Biomolecules*. 2022;12(1):1-30

- Zakład Chorób Błon Śluzowych i Przyzębia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Zakład Stomatologii Zintegrowanej Warszawskiego Uniwersyteytu Medycznego

Od 2018 roku współpracuje z Zakładem Chorób Błon Śluzowych i Przyzębia WUM, oraz z Zakładem Stomatologii Zintegrowanej WUM. Prowadzimy wspólne badania pacjentów z chorobami przyzębia. Badania dotyczą występowania polimorfizmów genetycznych u pacjentów z chorobą przyzębia, oraz wpływu uwarunkowań genetycznych na wyniki podstawowego leczenia choroby przyzębia. Wyniki badań opublikowałam w następujących pracach:

1. **Brodzikowska A**, Górski R, Kowalski J. Interleukin-1 Genotype in Periodontitis. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2019;67(6):367-373
2. **Brodzikowska A**, Górski B. Polymorphisms in Denes Involved in Inflammation and Periodontitis: A Narrative Review. *Biomolecules*. 2022;12(4):1-156
3. **Brodzikowska A**, Górski B, Bogusławska-Kapała A. Association between IL-1 Gene Polymorphisms and Stage III Grade B Periodontitis in Polish Population. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022;19(22):1-11
4. **Brodzikowska A**, Górski B, Bogusławska-Kapała A. Effects of Interleukin-1 Genotype on the Clinical Efficacy of Non-Surgical Periodontal Treatment of Polish Patients with Periodontitis. *Biomedicines*. 2023;11(2):1-10

5.2 Aktywność naukowa realizowana we współpracy z innymi niż Warszawski Uniwersytet Medyczny instytucjami naukowymi

- Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk.

Z Instytutem Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk jestem naukowo związana od 2011 roku. Współpracowałam w zakresie udziału endogennych peptydów antybakteryjnych w higienie jamy ustnej oraz bakteryjnej terapii substytucyjnej. Prowadziłam też badania oceniające wpływ tioglikozydów ekstrahowanych z gorczycy białej na stan higieny jamy ustnej. Wynikiem prowadzonych badań są prace prezentowane na kongresach.

1. **Brodzikowska A**, Witecki J, Lipkowski A. Clinical Evaluation of the Thioglycosides on Oral Hygiene. IADR/PER Congress, Dubrovnik, Croatia, 10-13 September 2014
2. **Brodzikowska A**, Witecki J, Lipkowski A. Clinical assessment of the effect of thioglycosides extracted from white mustard on the oral bacteria. EuroPerio 8. Londyn, 3-7 June 2015. Journal of Clinical Periodontology. 2015;42(Suppl S-17):64-442
3. **Brodzikowska A**. Ocena kliniczna tioglikozydów ekstrahowanych z gorczycy białej Bamberka na stan higieny jamy ustnej. VII Międzynarodowa Konferencja Stomatologiczna Zachód-Wschód. Warszawa, 9 maj 2014

- Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Materiałowej

W latach 2000 – 2006 współpracowałam z Wydziałem Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej w zakresie badań mikroanalizy podstawowych pierwiastków tkanek twardych w ogniskach próchnicy cementu korzeniowego po zastosowaniu lakierów fluorowych i chlorheksydynowych. Celem badań była ocena stopnia remineralizacji ognisk próchnicy po wdrożonym leczeniu za pomocą rentgenowskiej mikroanalizy chemicznej. Wyniki naszych badań zostały przedstawione w publikacji oryginalnej i zaprezentowane na międzynarodowych konferencjach naukowych.

1. **Brodzikowska A**. Mikroanaliza rentgenowska ognisk próchnicy cementu korzeniowego po zastosowaniu lakieru chlorheksydynowego Cervitec. Czasopismo Stomatologiczne. 2005;58(3):167-175

2. **Brodzikowska A**, Zieliński W. Roentgen microanalysis of chemical composition of root caries. 84th General Session and Exhibition of the IADR, Brisbane, Australia, June 28-July 1, 2006
3. **Brodzikowska A**. Roentgen microanalysis of root caries lesions treated with chlorhexidine. IADR/AADR/CED 87th General Session and Exhibition, Miami, USA, 1-4 April 2009.

5.3 Aktywność naukowa realizowana we współpracy z jednostkami zagranicznymi

- Department of Cariology University of Lund, Sweden
Department of Periodontology University of Lund, Sweden
Dental Faculty University of Lund, Sweden

Uczestniczyłam wraz z zespołem z mojego Zakładu w realizacji międzynarodowych projektów badawczych. Zdobyte przeze mnie umiejętności dotyczyły metodyki badań mikrobiologicznych prób materiału jamy ustnej oraz interpretacji wyników, planowania zdrowia jamy ustnej i profilaktyki próchnicy opartej na kontroli złogów bakteryjnych. Wynikiem tej współpracy są dwie prace oryginalne których jestem współautorką.

1. Wojcieszek D, Józefowicz A, Strużycka I, Widestrom I, Wretlind K, Makarewicz G. **Brodzikowska A**. Występowanie próchnicy a poziom *Streptococcus mutans* w ślinie stymulowanej u dzieci w Białej Podlaskiej. Czasopismo Stomatologiczne. 1997;50(2):99-103
 2. Wierzbicka M, Ericson D, Strużycka I, Wretlind K, Wojcieszek D, Hoszek A, Józefowicz A, **Brodzikowska A**. Intensywność próchnicy a występowanie w ślinie stymulowanej bakterii z grupy *Streptococcus mutans* u 6-letnich dzieci. Czasopismo Stomatologiczne. 1997;50(1):8-11
- Faculty of Odontology, University Complutense, Madrid, Spain

Oral Microbiology Research Laboratory at the Faculty of Odontology
Universidad Complutense, Madrid, Spain

Po ukończeniu studiów nawiązałam współpracę z prof. Mariano Sanz, kierownikiem Faculty of Odontology, University Complutense, Madrid, Spain. W wyniku tej współpracy w latach 2005 – 2007 odbyłam stypendium, które zostało ufundowane przez Międzynarodowe Towarzystwo ds. Badań Stomatologicznych (IADR,CED Visiting Scholar Stipend)..

Współpraca dotyczyła etiologii, diagnostyki i leczenia chorób przyzębia. Zdobyłam umiejętności dotyczące metod regeneracji przyzębia z użyciem wszczepów i błon zaporowych.

Pracowałam również w laboratorium mikrobiologicznym, gdzie poznawałam metodykę badań mikrobiologicznych patogenów związanych z zapaleniem przyzębia. Poznałam metodykę pobierania prób materiału z kieszeni dziąsłowych i przyzębnych. Poznałam metodykę interpretacji uzyskanych wyników. Wynikiem prowadzonych przeze mnie badań były doniesienia zjazdowe:

1. **Brodzikowska A**, Matesanz P, Escribano M, Herrera D, Gonzalez I, Sanz M. In vitro antimicrobial activity of mouthrinse containing amine-stannous fluoride. IADR September 26-29, 2007, Thessaloniki, Greece.
 2. **Brodzikowska A**, Matesanz P, Escribano M, Herrera D, Gonzalez I, Sanz M. In vitro antimicrobial activity of mouthrinse containing amine-stannous fluoride. Journal of Dental Research. 2007;86(Suppl).
- Department of Endodontics, School of Dentistry, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
 - Molecular Medicine Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

- Department of Immunology, School of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
- Department of Immunology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

W 2020 roku we współpracy z University of Medical Sciences, Rafsanjan w Iranie prowadziłam analizy mające na celu poznanie wpływu cytokin na zapalenie przyzębia. Wyniki badań zostały opublikowane w pracy poglądowej.

1. Khorasani M, Hassanshahi G, **Brodzikowska A**, Khorramdelazad H. Role(s) of cytokines in pulpitis: Latest evidence and therapeutic approaches. *Cytokine*. 2020;126: 367-373

- ETEP (Etiology and Therapy of Periodontal and Peri-implant Diseases) Research Group, Department of Dental Clinical Specialties, Faculty of Odontology, University Complutense of Madrid, Spain

Od 2021 roku do dziś współpracuję z ETEP (Etiology and Therapy of Periodontal and Peri-implant Diseases) Research Group, Department of Dental Clinical Specialties, Faculty of Odontology, University Complutense of Madrid, Spain.

Wynikiem współpracy jest publikacja:

1. **Brodzikowska A** [autor korespondencyjny], Górski B, Szerszeń M, Sanz M. Efficacy of Guided Tissue Regeneration Using Frozen Radiation-Sterilized Allogenic Bone as Bone Replacement Graft Compared with Deproteinized Bovine Bone Mineral in the Treatment of Periodontal Intra-Bony Defects: Randomized Controlled Trial. *Journal of Clinical Medicine*. 2023;12(4):1-13.

Ponadto aktywnie uczestniczę w międzynarodowym życiu naukowym. Przedstawiam wyniki swoich badań na zjazdach i konferencjach o wysokiej randze naukowej, do których należą Sesje Generalne i Oddziałowe Towarzystwa ds. Badan

Stomatologicznych – IADR, CED.

Aktywnie biorę udział w pracach European Federation of Periontology zrzeszającym periodontologów z całej Europy w celu poszerzenia wiedzy oraz doskonalenia umiejętności. W trakcie zjazdów organizowanych przez tę organizację, do których należą Kongresy EuroPerio i Perio MasterCline, prezentuje wyniki leczenia moich pacjentów oraz wyniki badań naukowych.

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

- Od 1992 roku pracuje w Zakładzie Stomatologii Zachowawczej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Z Zakładem tym związałam wszystkie swoje plany naukowe i zawodowe. Początkowo byłam zatrudniona na stanowisku asystenta, a od 2002 roku do chwili obecnej na stanowisku adiunkta. Od 2015 roku jestem opiekunem dydaktycznym studentów IV roku kierunku lekarsko-dentystycznego. W Zakładzie odpowiadam za organizację zajęć dydaktycznych, przygotowanie sylabusów, planów zajęć, kolokwium i egzaminów. Prowadzę zajęcia kliniczne, seminaria i wykłady dla studentów III-V roku, w tym dla studentów anglojęzycznych. Uczestniczę w Radach Pedagogicznych.

Byłam promotorem dwóch prac licencjackich studentów Higieny Stomatologicznej i recenzentem 18 prac magisterskich studentów Pielęgniarstwa.

- Przetłumaczyłam podręcznik: Mikrobiologia Jamy ustnej. Philip Marsh, Michael Martin. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1994

- Uzyskałam patent na obszarze Rzeczypospolitej Polskiej: Zgłoszenie patentu do Urzędu Patentowego RP pod nr P.404147 z dnia 30.05.2013. Nr Reference: 398 Title: Preparation for maintenance of oral cavity hygiene and prevention of plaque formation. Inventor: **Brodzikowska A.** Applicant: Warszawski Uniwersytet Medyczny

- Brałam udział w organizacji następujących międzynarodowych konferencji naukowych:

- 1992: Międzynarodowe Sympozjum Periodontologiczne Warszawa, Wrzesień 1992
- 1994: Międzynarodowa Konferencja Periodontologii Warszawa, 23 maj 1994
- 2000: 4th Joint Meeting Continental European and Scandinavian Divisions of IADR, Warsaw, Poland, 24-27 August
- 2014: 1 Międzynarodowa Konferencja Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2014
- 2015: Międzynarodowe Seminarium Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2015

Jako skarbnik Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego oraz członek komitetu naukowego i organizacyjnego byłam współodpowiedzialna za przygotowanie programu, przebieg oraz finansowe rozliczenie następujących konferencji:

- 2016: 2 Międzynarodowa Konferencja Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2016
- 2017: Międzynarodowe Seminarium Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2017
- 2018: 3 Międzynarodowa Konferencja Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2018
- 2019: Międzynarodowe Seminarium Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2019
- 2022: 4 Międzynarodowa Konferencja Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2022
- 2023: 5 Międzynarodowa Konferencja Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego
Perio 2023

7 Informacje dotyczące kariery zawodowej

Członkostwo w krajowych i międzynarodowych towarzystwach naukowych:

- od 1998 roku jestem członkiem International Association for Dental Research, Central European Division. IADR/CED
- od 2012 roku jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego PTP
- od 2016 roku jestem skarbnikiem i członkiem zarządu Polskiego Towarzystwa Periodontologicznego PTP
- od 2014 roku jestem członkiem Europejskiej Federacji Periodontologii EFP

8 Nagrody

- 25 października 1999 rok - Nagroda Naukowa Pierwszego Stopnia przyznana przez Rektora Akademii Medycznej w Warszawie za współautorstwo pracy pt „Inability is ability.”
- 2005 rok – Nagroda: International Association for Dental Research Continental European Division. CED Travel Stipend Award for Aniela Brodzikowska. Title of Abstract: Root caries lesions: Structural characteristics following treatment with different varnishes.
- 2008 rok – Nagroda: International Association for Dental Research Central European Division IADR.CED Visiting Scholar Stipend 2008
- 2013 rok – Nagroda: Special Award. A. Brodzikowska. “Preparation for maintenance of oral cavity hygiene and prevention of plaque formation.” The 9th Taipei International Invention Show and Technomart (Taipei INST) September 26-29, 2013
- 2013 rok – Nagroda: The silver medal award. A. Brodzikowska. “Preparation for maintenance of oral cavity hygiene and prevention of plaque formation.” Taipei International Invention Show and Technomart. September 26-29, 2013
- 2013 rok – Nagroda: Gold medal. A. Brodzikowska. “Preparation for maintenance of oral cavity hygiene and prevention of plaque formation.” International Warsaw Invention Show (IWIS 2013). October 8-10, 2013.

Analiza bibliometryczna dorobku naukowego (stan na dzień 21.03.2023)

Źródło danych (baza)	LICZBA CYTOWAŃ		INDEKS HIRSCHA
	Z autocytowaniami	Bez autocytowań	
Web of Science	75	69	6
Scopus	91	84	5

	PRZED DOKTORATEM		PO DOKTORACIE	
	IF	MEiN	IF	MEiN
Oryginalne pełnotekstowe prace naukowe	-	16	24,603	637
Opisy przypadków	-	-	-	-
Prace poglądowe	-	12	20,379	549
RAZEM	-	28	44,982	1186

Łącznie (przed i po doktoracie):

IF = 44,982

MEiN = 1214

Informacje dodatkowe				
	IF	MEiN	IF	MEiN
Publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism	-		-	
Listy do redakcji czasopism	1,976		-	
Publikacje z udziałem autora w badaniach wielośrodkowych	-		-	
RAZEM	1,976		-	

dr n. med. Aniela Brodzikowska
(podpis wnioskodawcy)