

AUTOREFERAT

dr n. o zdr. Mateusz Stanisław Adamiak

Zakład Medycyny Regeneracyjnej

Wydział Lekarski

Warszawski Uniwersytet Medyczny



Warszawa 2020

SPIS TREŚCI

I. DANE OSOBOWE	3
II. WYKSZTAŁCENIE	3
III. PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ ORAZ ODBYTE STEŻE	4
IV. PRACA DYDAKTYCZNA	4
V. DZIAŁALNOŚĆ POPULARYZUJĄCA NAUKĘ	5
VI. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO (ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA) . 9	
VII. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM)	10
1.) WYKAZ PRAC	10
2.) SKRÓCONE OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WYŻEJ WYMENIONYCH PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW	13
3.) ANALIZA POSZCZEGÓLNYCH PRAC	16
VIII. UDZIAŁ W PROJEKTACH BADAWCZYCH	32
IX. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA	32

I. DANE OSOBOWE

Imię i nazwisko : Mateusz Adamiak

Tytuł naukowy: Doktor nauk o zdrowiu

Stanowisko: Asystent

Adres służbowy: Zakład Medycyny Regeneracyjnej
Centrum Badań Przedklinicznych (CePT)
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Stefana Banacha 1B, 02-097 Warszawa

II. WYKSZTAŁCENIE

- 08.01.2019 Stopień doktora nauk o zdrowiu (z wyróżnieniem)
II Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim oraz
Oddziałem Fizjoterapii, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Tytuł pracy doktorskiej:
„Rola sfingozyno-1-fosforanu w procesach zasiedlania szpiku kostnego
oraz farmakologicznej mobilizacji krwiotwórczych komórek
macierzystych.”
Promotor: Prof. dr hab. n. med. Mariusz Z. Ratajczak
Recenzenci: Prof. dr hab. n. med. Jerzy Kawiak
Prof. dr hab. n. med. Marcin Moniuszko
- 09.2012 – 03.2014 Rozpoczęte studia doktoranckie, Wydział Biologii, Uniwersytet
Szczeciński
- 06.07.2012 Tytuł magistra
Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński
Tytuł pracy magisterskiej:
„Subpopulacje limfocytów T i B oraz zjawisko apoptozy limfocytów i
granulocytów krwi obwodowej u królików zakażonych europejskimi
szczepami wirusa RHD (Rabbit Haemorrhagic Disease)”
Promotor: Prof. dr hab. Wiesław Deptuła

29.06.2010 Tytuł licencjata
Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński
Tytuł pracy licencjackiej:
„Nieswoista odporność komórkowa – element odporności naturalnej u królików zakażonych eksperymentalnie europejskimi szczepami wirusa RHD (Rabbit Haemorrhagic Disease)”
Promotor: Prof. dr hab. Wiesław Deptuła

III. PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ ORAZ ODBYTE STEŻE

10.2016 – obecnie Asystent, Zakład Medycyny Regeneracyjnej, Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny
06.2017 – 01.2018 Staż doktorski, Stem Cell Institute, James Graham Brown Cancer Center, University of Louisville, USA
05.2016 Staż naukowy, Neuroscience Laboratory, Institute of Chemistry, Department of Biochemistry, University of São Paulo, Sao Paulo, Brazylia
07.2014 – 08.2016 Staż naukowy, Stem Cell Institute, James Graham Brown Cancer Center, University of Louisville, USA

IV. PRACA DYDAKTYCZNA

W latach 2012-2014 jako doktorant Uniwersytetu Szczecińskiego prowadziłem ćwiczenia z przedmiotów: epidemiologia, immunologia, mechanizmy i diagnostyka zakażeń bakteryjnych i wirusowych, mikrobiologia, mikrobiologia z wirusologią, techniki mikrobiologiczne.

Ponadto w roku akademickim 2012/2013 oraz 2013/2014 prowadziłem grupy seminaryjne magistrantów Katedry Immunologii Uniwersytetu Szczecińskiego, zarówno pod kątem merytorycznym jak i prowadząc zajęcia techniczne.

Jako asystent Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego współprowadziłem wykłady dla fakultetu pt. Regenerative Medicine dla studentów English Division, a także ćwiczenia oraz seminaria dla przedmiotu Metodologia Badań Naukowych zarówno dla studentów polskich jak i English Division, uzyskując w ankiecie studenckiej w roku akademickim 2018/2019 ocenę 4,70.

V. DZIAŁALNOŚĆ POPULARYZUJĄCA NAUKĘ

W 2018 roku brałem udział w organizacji międzynarodowej konferencji 4th Baltic Stem Cell Meeting. Zjazd był poświęcony zagadnieniom związanym z postęпами w biologii komórek macierzystych, rolą dorosłych komórek macierzystych w regeneracji, ze szczególnym naciskiem na komórki VSEL (very small embryonic like stem cells) i ich potencjalnym zastosowaniu w medycynie klinicznej, jak również interakcjach między komórkami poprzez mikropęcherzyki błonowe. Konferencja odbywała się w Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, a wśród zaproszonych wykładowców byli czołowi naukowcy m.in. z USA, Francji, Wielkiej Brytanii, Niemiec, Włoch, Indii czy Brazylii.

Jestem współautorem 35 doniesień konferencyjnych na zjazdach krajowych (14) oraz zagranicznych (17):

Doniesienia konferencyjne na zjazdach krajowych:

1. **Adamiak M.**, Pędziwiatr D., Ratajczak M.Z.: Novel evidence for involvement of alternative complement cascade pathway in mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs). XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12-14.09.2019.
2. **Adamiak M.**, Tracz M., Ratajczak M.Z.: Novel evidence that Nlrp3 inflammasome modulate bone marrow (BM) homing and engraftment of hematopoietic stem progenitor cells (HSPCs). XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12-14.09.2019.
3. **Adamiak M.**, Bujko K., Lenkiewicz A., Tracz M., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs) expressed CD39 and CD73 ectonucleotidases regulate homing and mobilization. XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12-14.09.2019.
4. **Adamiak M.**, Kucia M., Tracz M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Extracellular ATP is involved in bone marrow (BM) homing of hematopoietic stem progenitor cells (HSPCs). XXVIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Łódź, 12-14.09.2019.
5. **Adamiak M.**, Borkowska S., Wysoczyński M., Suszyńska M., Kucia M., Abdel-Latif A., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Udział sfingozyno-1-fosforanu we wszczepieniu i zasiedlaniu niszy szpikowej przez krwiotwórcze komórki macierzyste. XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów, Warszawa, 21-23.09.2017, s.195-196 – in *Acta Haematologica Polonica*, 48, 195-196, 2017.
6. **Adamiak M.**, Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: C-reactive protein in rabbits infected with RHDV (Rabbit haemorrhagic disease virus). 15th Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology, Wrocław, 26-28.06.2014, p. 169 – in *Centr. Eur. J. Immunol.*, 39, 169, 2014.
7. **Adamiak M.**, Trzeciak-Ryczek A., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Cytometryczna ocena limfocytów T i ich subpopulacji u królików mieszańców polskich w okresie jesieni i zimy. *Mat. III Ogólnopolskiej Konf. "Zwierzęta w badaniach naukowych"*, Warszawa 2013, P1.

8. **Adamiak M.**, Tokarz-Deptuła B.: Apoptosis of lymphocytes and granulocytes of peripheral blood of healthy mix-breed Polish rabbits. The 6th International Conference of PhD Students of Szczecin University "From a cell to an organism", Szczecin, 2013, s. 26.
9. **Adamiak M.**, Niedźwiedzka-Rystwej P., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Detection of RHD (rabbit haemorrhagic disease) virus in liver cells by real-time PCR. The 3rd Workshop on Microbiology in Health and Environmental Protection MIKROBIOT, Łódź 2013 – w Post. Mikrobiol. 52, 99, 2013.
10. **Adamiak M.**, Trzeciak-Ryczek A., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Ocena limfocytów T i B metodą cytometrii przepływowej u królików mieszańców polskich. Mat. II Ogólnopolskiej Konferencji Studentów i Doktorantów Nauk Ścisłych „Człowiek Nauka Środowisko”, Gdańsk 2013, s. 34.
11. Trzeciak-Ryczek A., Tokarz-Deptuła B., Działo J., **Adamiak M.**, Niedźwiedzka-Ryczek P., Hukowska-Szematowicz B., Deptuła W.: Cytometryczna ocena limfocytów T i B i ich subpopulacji oraz zjawiska apoptozy komórek układu odpornościowego u królików zakażonych eksperymentalnie wirusem RHD (rabbit haemorrhagic disease). Mat. Konf. „Poznańskie Dni Cytometrii i Immunopatologii”, Poznań 2013, s. 85-86.
12. Malinowska M., Kubiś M., **Adamiak M.**, Tokarz-Deptuła B.: Wybrane wskaźniki odporności naturalnej u królików mieszańców polskich. Mat. Konf. Międzyuczelniane Sympozjum Biotechnologiczne, Warszawa 2013, s.119.
13. **Adamiak M.**, Kubiś M., Trzeciak-Ryczek A., Działo J., Tokarz-Deptuła B.: Zjawisko apoptozy granulocytów i limfocytów krwi obwodowej królików zakażonych wirusem RHD (Rabbit Haemorrhagic Disease). Mat. Konf. II edycji, Mikrobiologia w medycynie, przemyśle i ochronie środowiska”. Wyd. UŁ. Łódź 2011, s.35.
14. Trzeciak-Ryczek A., **Adamiak M.**, Niedźwiedzka-Rystwej P., Działo J., Tokarz-Deptuła B.: Subpopulacje limfocytów T i B u królików zakażonych eksperymentalnie wirusem RHD (rabbit haemorrhagic disease). XXXIX Międzyn. Sem. Kół Nauk., Olsztyn 2010, s.94.

Doniesienia konferencyjne na zjazdach zagranicznych:

1. Bujko K., **Adamiak M.**, Thapa A., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That the Pannexin 1 Channel Is Involved in Adenosine Triphosphate (ATP) Release from Cells for Optimal Mobilization of Hematopoietic Stem Progenitor Cells, and the Pannexin 1 SNP 5 (Rs3020015) T/C Polymorphism Characterizes Poor Mobilizer Status in Patients. 61st ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 7-10, 2019.
2. Cymer M., **Adamiak M.**, Skoda M., Libura M., Urbanowska E., Kucia M., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That the Pannexin 1 Channel Is Involved in Adenosine Triphosphate (ATP) Release from Cells for Optimal Mobilization of Hematopoietic Stem Progenitor Cells, and the Pannexin 1 SNP 5 (Rs3020015) T/C Polymorphism Characterizes Poor Mobilizer Status in Patients. 61st ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 7-10, 2019.
3. **Adamiak M.**, Ciechanowicz A., Cymer M., Skoda M., Ratajczak M.Z.: Nlrp3 Inflammasome Activation in Bone Marrow-Residing Innate Immunity Cells Governs Circadian Changes in the Number of Circulating Hematopoietic

- Stem/Progenitor Cells in Peripheral Blood. 61st ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 7-10, 2019.
4. **Adamiak M.**, Lenkiewicz A., Bujko K., Thapa A., Kucia M., Abdel-Latif A., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That the Nlrp3 Inflammasome Plays a Role in Bone Marrow As a “Cogwheel” Connecting Purinergic Signaling with Activation of the Complement Cascade to Induce “Sterile Inflammation”, Which Is Required for Optimal Mobilization of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. 61st ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 7-10, 2019.
 5. **Adamiak M.**, Bujko K., Plonka M., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That Extracellular Nucleotides and Nucleosides Regulate the Expression of Heme Oxygenase 1 (HO-1) in Opposite Ways in Hematopoietic Stem/Progenitor Cells (HSPCs), Which Explains Why ATP Enhances Mobilization of HSPCs, While Its Metabolite Adenosine Inhibits This Process. 60th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, San Diego, USA, Grudzień 1-3, 2018.
 6. **Adamiak M.**, Bujko K., Lenkiewicz A., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That the Ectonucleotidases CD39 and CD73, Which Are Expressed on Hematopoietic Stem/Progenitor Cells (HSPCs), Regulate Mobilization and Homing - Studies in CD39^{-/-} and CD73^{-/-} Mice and with Small-Molecule CD39 and CD73 Inhibitors. 60th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, San Diego, USA, Grudzień 1-3, 2018.
 7. **Adamiak M.**, Chelvarajan L., Santos W., Lynch K.R., Abdel-Latif A., Ratajczak M.Z.: Sphingosine Kinase 2 (Sphk2) Deficiency Does Not Lower but Instead Surprisingly Increases the Level of Sphingosine-1-Phosphate (S1P) in Peripheral Blood, Providing a Novel Strategy for Stimulating Hematopoietic Stem Cell Mobilization By Inhibiting Sphk2 Activity. 59th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Atlanta, USA, Grudzień 9-12, 2017.
 8. **Adamiak M.**, Abdelbaset-Ismail A., Wysoczynski M., Abdel-Latif A., Moore IV J.B., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Unexpected Evidence That Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) Is a Negative Regulator of Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Mobilization. 58th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, San Diego, USA, Grudzień 3-6, 2016.
 9. **Adamiak M.**, Abdelbaset Ismail A., Abdel-Latif A., Ratajczak J., Kucia M., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That Hematopoietic-Specific PLC-β2 Is Required for Normal Homing and Engraftment of Hematopoietic Stem Cells. 58th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, San Diego, USA, Grudzień 3-6, 2016.
 10. **Adamiak M.**, Suszynska M., Abdel-Latif A., Abdelbaset-Ismail A., Ratajczak J., Kucia M., Ratajczak M.Z.: Novel Evidence That the Mannan-Binding Lectin (MBL) Pathway of Complement Activation Plays a Pivotal Role in Triggering Mobilization of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells By Activation of Both the Complement and Coagulation Cascades. 58th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, San Diego, USA, Grudzień 3-6, 2016.
 11. **Adamiak M.**, Abdelbaset-Ismail A., Moore IV J.B., Abdel-Latif A., Wysoczynski M., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Heme Oxygenase 1 (HO-1) Is a Novel Negative Regulator of Normal and Malignant Hematopoietic Cell Trafficking. 58th

- ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, San Diego, USA, Grudzień 3-6, 2016.
12. Ratajczak J., Schneider G., Kim C.H., **Adamiak M.**, Ratajczak M.Z.: 01 A Novel Perspective On Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Migration And Homing— Evidence That Cationic Antimicrobial Peptides (C3a, LL-37, and β -2-Defensin) Prime (Enhance) The Responsiveness Of These Cells To A Low SDF-1 Gradient By Promoting Secret. 6th Brazilian Purine Club Meeting, João Pessoa – Paraíba, Brazil, Maj 12-14, 2016.
 13. Abdelbaset-Ismail A., Suszynska M., Borkowska S.J., **Adamiak M.**, Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: 2393 Human Hematopoietic Stem/Progenitor Cells (HSPCs) and Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) Express Several Functional Pituitary and Gonadal Sex Hormone Receptors - Identification of Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH) As New Growth Factors for HSPCs and MSCs. 57th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 4-8, 2015.
 14. **Adamiak M.**, Abdelbaset-Ismail A., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: 4301 A Novel and Pivotal Role of the Mannose-Binding Lectin (MBL) Pathway of Complement Cascade (ComC) Activation in Triggering Mobilization of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells (HSPCs). 57th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 4-8, 2015.
 15. **Adamiak M.**, Moore J.B. IV, Zhao J., Abdelbaset-Ismail A., Wysoczynski M., Ratajczak M.Z.: 4272 Transient Ex Vivo Inhibition of Heme Oxygenase 1 (HO-1) in Hematopoietic Stem/Progenitor Cells (HSPCs) By Small-Molecule Inhibitors Enhances Their Migratory Responsiveness to Bone Marrow (BM)-Secreted Chemoattractants a Novel and Simple Strategy to Improve Homing of HSPCs. 57th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 4-8, 2015.
 16. **Adamiak M.**, Poniewierska-Baran A., Schneider G., Abdelbaset-Ismail A., Suszynska M., Abdel-Latif A., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: 1896 Novel Evidence That a Lipolytic Enzyme - Hematopoietic-Specific Phospholipase C Beta 2 - Promotes Mobilization of Hematopoietic Stem Cells By Decreasing Their Lipid Raft-Mediated Bone Marrow Retention and Increasing the Pro-Mobilizing Effects of Granulocytes. 57th ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition, Orlando, USA, Grudzień 4-8, 2015.
 17. **Adamiak M.**, Tokarz-Deptuła B., Trzeciak-Ryczek A., Działo J., Hukowska-Szematowicz B., Niedzwiedzka-Rystwej P., Deptuła W.: Innate and acquired immunity and apoptosis of lymphocytes and granulocytes in rabbits experimentally infected with RHDV. 15th Int. Cong. Immunol., Mediolan, Włochy 2013, p. 1073 – in Front. Immunol. doi: 10.3389/conf.fimmu.2013.02.01102.

Ponadto jestem recenzentem artykułów naukowych w czasopismach Leukemia, Stem Cell Reviews and Reports, Transfusion and Apheresis Science oraz Endokrynologia Polska.

VI. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO (ANALIZA BIBLIOMETRYCZNA)

Mój dorobek naukowy zgodnie z przeprowadzoną przez Bibliotekę Główną Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego analizą bibliometryczną obejmuje:

25 oryginalnych pełnotekstowych prac naukowych

17 prac poglądowych

1 rozdział w podręcznikach międzynarodowych

8 rozdziałów w podręcznikach krajowych

17 streszczeń ze zjazdów międzynarodowych

14 streszczeń ze zjazdów krajowych

3 listy do redakcji czasopism

Łączny IF wraz z listami do redakcji – 165,819; liczba punktów MNiSW – 1921

Liczba cytowań z bazy Web of Science bez autocytowań: 214, Indeks Hirscha - 10

Liczba cytowań z bazy Scopus bez autocytowań: 221, Indeks Hirscha - 8

Szczegółowe dane bibliometryczne w załączeniu.

Głównymi ośrodkami w których realizowałem prace nad wyżej wymienionym dorobkiem naukowym jest Zakład Medycyny Regeneracyjnej, Centrum Badań Przedklinicznych, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz Stem Cell Institute w James Graham Brown Cancer Center, University of Louisville w Stanach Zjednoczonych.

Ponadto w trakcie mojej działalności naukowej współpracowałem z ośrodkami zagranicznymi:

Division of Cardiovascular Medicine, Gill Heart Institute, University of Kentucky, Lexington, USA

Institute of Molecular Cardiology, University of Louisville, Louisville, USA

Department of Pharmacology, University of Virginia, Charlottesville, USA

Department of Chemistry, Center for Drug Discovery, Virginia Tech, Blacksburg, USA

Department of Biochemistry, Institute of Chemistry, University of São Paulo, Brazylia

Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Xiamen University and Institute of Hematology of Xiamen University, Xiamen, Chińska Republika Ludowa

oraz krajowymi:

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Katedra Hematologii Uniwersytetu Zielonogórskiego, Wielospecjalistyczny Szpital Wojewódzki w Gorzowie Wlkp.

Zakład Medycyny Regeneracyjnej i Immunoregulacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Katedra i Zakład Fizjologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Szczecin

VII. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM)

Tytuł osiągnięcia naukowego:

Rola indukowanego farmakologicznie i przygotowaniem mieloablacyjnym „sterylnego zapalenia” szpiku kostnego w procesach mobilizacji oraz zasiedlania niszy szpikowych przez krwiotwórcze komórki macierzyste (KKM)

1.) WYKAZ PRAC

1. Lenkiewicz A.M.[#], **Adamiak M.[#]**, Thapa A., Bujko K., Pedziwiatr D., Abdel-Latif A., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. (2019). The Nlrp3 Inflammasome Orchestrates Mobilization of Bone Marrow-Residing Stem Cells into Peripheral Blood. Stem cell reviews and reports, 15(3), 391–403. doi: 10.1007/s12015-019-09890-7

[#] Równoważny wkład w publikację

IF: 5,316; 100pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 40% - równoważny wkład w publikację z pierwszym autorem pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

2. **Adamiak M.**, Lenkiewicz A.M., Cymer M., Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. (2019). Novel evidence that an alternative complement cascade pathway is involved in optimal mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in Nlrp3 inflammasome-dependent manner. *Leukemia*, 33, 2967–2970. doi: 10.1038/s41375-019-0530-9 – List do redakcji.

IF: 8,665 [uwaga: Biblioteka Główna Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego sporządzając analizę bibliometryczną, nie przypisuje punktów MNiSW za listy do redakcji]

Wkład habilitanta: 65% - pierwszy autor pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

3. **Adamiak, M.**, Bujko, K., Brzeźniakiewicz-Janus, K., Kucia, M., Ratajczak, J., Ratajczak, M.Z. (2019). The Inhibition of CD39 and CD73 Cell Surface Ectonucleotidases by Small Molecular Inhibitors Enhances the Mobilization of Bone Marrow Residing Stem Cells by Decreasing the Extracellular Level of Adenosine. *Stem cell reviews and reports*, 15(6), 892–899. doi: 10.1007/s12015-019-09918-y

IF: 5,316; 100pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 65% - pierwszy autor pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

4. **Adamiak M.**, Ciechanowicz A., Skoda M., Cymer M., Tracz M., Xu B., Ratajczak M.Z. (2020). Novel Evidence that Purinergic Signaling - Nlrp3 Inflammasome Axis Regulates Circadian Rhythm of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Circulation in Peripheral Blood. *Stem cell reviews and reports*, 16(2), 335–343. doi: 10.1007/s12015-020-09953-0

IF: 5,316*; 100pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 70% - pierwszy autor pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

* - wartości IF przyjęte z ostatniego dostępnego roku (2019), z uwagi na brak dostępnych danych za rok 2020.

5. Cymer M., Brzezniakiewicz-Janus K., Bujko K., Thapa A., Ratajczak J., Anusz K., Tracz M., Jackowska-Tracz A., Ratajczak M.Z., **Adamiak M.** (2020). Pannexin-1 channel "fuels" by releasing ATP from bone marrow cells a state of sterile inflammation required for optimal mobilization and homing of hematopoietic stem cells. *Purinergic Signal*. Doi.10.1007/s11302-020-09706-1.

IF: 3,065*; 70pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 65% - ostatni autor pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

6. **Adamiak M.**, Cymer M., Anusz K., Tracz M., Ratajczak M.Z. (2020). A Novel Evidence That Mannan Binding Lectin (MBL) Pathway of Complement Cascade Activation is Involved in Homing and Engraftment of Hematopoietic Stem Progenitor Cells (HSPCs). *Stem Cell Rev Rep*. Doi.10.1007/s12015-020-09983-8.

IF: 5,316*; 100pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 65% - pierwszy autor pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

7. **Adamiak M.**, Abdel-Latif A., Bujko K., Thapa A., Anusz K., Tracz M., Brzezniakiewicz-Janus K., Ratajczak J., Kucia M., Ratajczak M.Z. (2020). Nlrp3 inflammasome signaling regulates homing and engraftment of hematopoietic stem cells (HSPCs) by enhancing incorporation of CXCR4 into membrane lipid rafts. *Stem Cell Rev Rep* 10.1007/s12015-020-10005-w.

IF: 5,316*; 100pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 65% - pierwszy autor pracy, projektowanie badania, gromadzenie bazy danych, wykonywanie eksperymentów, analiza i opracowanie statystyczne wyników, opracowanie manuskryptu.

* - wartości IF przyjęte z ostatniego dostępnego roku (2019), z uwagi na brak dostępnych danych za rok 2020.

8. Ratajczak M.Z., Bujko K., Cymer M., Thapa A., **Adamiak M.**, Ratajczak J., Abdel-Latif A., Kucia M. (2020). The Nlrp3 inflammasome as a “rising star” in studies of normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia*. 34(6), 1512-1523, doi: 10.1038/s41375-020-0827-8

IF: 8,665*; 200pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 35% - gromadzenie literatury, analiza dostępnych danych, opracowanie manuskryptu.

9. Ratajczak M.Z., **Adamiak M.**, Bujko K., Thapa A., Pensato V., Kucia M., Ratajczak J., Ulrich H. (2020). Innate immunity orchestrates the mobilization and homing of hematopoietic stem/progenitor cells by engaging purinergic signaling – an update. *Purinergic Signalling* doi: 10.1007/s11302-020-09698-y

IF: 3,065*; 70pkt. MNiSW

Wkład habilitanta: 40% - gromadzenie literatury, analiza dostępnych danych, opracowanie manuskryptu.

Sumaryczny Impact Factor (IF) prac w cyklu publikacji szacowany na 44,724

Liczba punktów MNiSW: 840

[indeksy bibliometryczne zgodne z załączoną analizą bibliometryczną z dnia 20 lipca 2020r.]

2.) SKRÓCONE OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WYŻEJ WYMIENIONYCH PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW

Schorzenia układu krwiotwórczego takie jak ostra i przewlekła białaczka szpikowa lub limfoblastyczna niedokrwistość aplastyczna czy zaburzenia odporności są wskazaniami do zastosowania terapii krwiotwórczymi komórkami macierzystymi (KKM). Są one pozyskiwane od dawcy na drodze bezpośredniego pobrania ze szpiku kostnego lub z krwi obwodowej po farmakologicznej mobilizacji polegającej na indukowanym farmakologicznie wzbogaceniu krwi obwodowej w szpikowe KKM. Uwzględniając stopień inwazyjności w pozyskaniu materiału, wymagania dotyczące zaplecza operacyjnego, czas regeneracji dawcy oraz

* - wartości IF przyjęte z ostatniego dostępnego roku (2019), z uwagi na brak dostępnych danych za rok 2020.

występowanie działań niepożądanych, obecnie ta druga metoda jest dominującą w pozyskiwaniu KKM.

Każdego roku na całym świecie wykonuje się ponad 50 000 transplantacji KKM i liczba ta wciąż rośnie. W Polsce według danych Poltransplantu wśród 24 ośrodków przeprowadzających przeszczepy KKM, w 2018 roku wykonano 1178 auto- oraz 696 allotransplantacji, z czego odpowiednio ponad 99% oraz ponad 87% zostało przeprowadzonych z wykorzystaniem mobilizowanych KKM z krwi obwodowej.

Jednym z najważniejszych czynników mających wpływ na skuteczność tego typu przeszczepów jest liczba pozyskanych, a w konsekwencji przeszczepianych komórek. Przyjmuje się, że optymalna ilość przeszczepionych komórek macierzystych CD34⁺ to 2x10⁶/kg masy ciała biorecy, jednak najbardziej pożądana jest ilość przekraczająca 5x10⁶/kg masy ciała biorecy. Na pełny sukces terapii składa się również zdolność chemotaktyczna tych komórek w prawidłowej migracji do jam szpikowych oraz kontynuacji krwiotworzenia. Dokładne poznanie procesów, czynników oraz zjawisk biorących udział w migracji KKM ze szpiku do krwi obwodowej oraz w procesie odwrotnym czyli zasiedlaniu przeszczepionych komórek w niszy szpikowej, pozwoli na bardziej wydajne, a przez to skuteczne wykorzystanie metod transplantacji KKM w walce z wieloma chorobami hematologicznymi.

Wśród farmakologicznych induktorów mobilizacji można wymienić między innymi czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów - G-CSF (ang. *granulocyte colony-stimulating factor*), jak również antagonistę receptora CXCR4 - AMD3100. W warunkach naturalnych czynnikami indukującymi mobilizację krwiotwórczych komórek macierzystych do krwi obwodowej jest odpowiedź na infekcję, stres, forsowne ćwiczenia, czy uszkodzenia tkanek lub narządów.

Badania w których brałem udział, wykazały, że na wyjście KKM z niszy szpikowej do krwi obwodowej ma wpływ tzw. sterylne zapalenie szpiku kostnego. Biorą w nim udział kompleksy inflamasomów aktywowane w mikrośrodowisku niszy szpikowej w odpowiedzi na bodźce mobilizujące, co prowadzi do aktywacji komórek rezydujących w niszach hematopoetycznych, należących do elementów odporności wrodzonej, w tym granulocytów i monocytów. W odpowiedzi na G-CSF lub AMD3100 komórki te uwalniają enzymy proteolityczne i lipolityczne, które uwalniają KKM z niszy szpikowej oraz wydzielają cząsteczki tzw. wzorców molekularnych związanych z niebezpieczeństwem – DAMP (ang. *danger-associated molecular patterns*), które aktywują lektynową ścieżkę aktywacji układu dopełniacza.

Zidentyfikowano kilku członków rodziny wewnątrzkomórkowych kompleksów białek inflamasomowych, które mają funkcje prozapalne, a także niektóre obdarzone właściwościami przeciwzapalnymi. Inflamasom Nlrp3 jest jak dotąd najlepiej przebadanym wśród tych wielobiałkowych kompleksów. Składa się z białka Nlrp3, białka adaptorowego ASC (ang. *apoptosis-associated speck-like protein containing a carboxy-terminal CARD*) oraz prokaspazy-1. Ten znajdujący się w cytoplazmie kompleks białkowy, po aktywacji staje się agregatem złożonym z kilku cząsteczek Nlrp3, z których każda zawiera białko Nlrp3, ASC i prokaspazę-1. Co ważne, po aktywacji inflamasomu białko prokaspazy-1 zostaje rozszczepione do funkcjonalnej kaspazy-1, której główną funkcją jest konwersja nieaktywnych prozapalnych cytokin pro-IL-1 β i pro-IL-18 w ich aktywne formy, odpowiednio IL-1 β i IL-18, które są następnie wydzielane z komórek.

Prowadzone przeze mnie badania wykazały, że inflamasom Nlrp3 odgrywa kluczową rolę w mobilizacji KKM do krwi obwodowej. Myszy posiadające defekt Nlrp3 słabo się mobilizują. Wykazano, że inflamasom Nlrp3 zostaje aktywowany podczas mobilizacji, zarówno w komórkach układu odporności wrodzonej (granulocyty, monocyty i komórki dendrytyczne), jak i w krwiotwórczych komórkach macierzystych w odpowiedzi na G-CSF lub AMD3100. Aktywacja ta zachodzi w sposób parakryny/autokryny w odpowiedzi na cząsteczki DAMP, w tym takich alarmin jak pozakomórkowy ATP, HMGB1 - białko grupy wysokiej mobilności-1 HMGB1 (ang. *high mobility group box 1*) oraz S100A9 - białko wiążące wapń (ang. *S100 calcium-binding protein A9*). Komórki efektorowe wrodzonej odporności, które są aktywowane przez te czynniki, wydzielają więcej alarmin i wzmacniają sterylne zapalenie w mikrośrodowisku niszy szpikowej w mechanizmie dodatniego sprzężenia zwrotnego.

Moje badania wykazały, że indukowana przez ATP mobilizacja KKM łączy poprzez inflamasom Nlrp3 sygnałowanie purynergiczne z aktywacją kaskady dopełniacza i uwolnieniem anafilotoksyn C3a i C5a, które powodują pozytywne sprzężenie zwrotne, utrzymując sterylne zapalenie w mikrośrodowisku niszy szpikowej. Ponadto inflamasom Nlrp3 może również zostać aktywowany przez kompleks atakujący błonę C5b – C9 (ang. *Membrane Attack Complex*; MAC) układu dopełniacza. Cząsteczki DAMP wydzielane przez komórki odporności wrodzonej, w wyniku aktywacji inflamasomu Nlrp3 mogą aktywować układ dopełniacza, a wykazano, że jego aktywne fragmenty (C5a) są kluczowe w procesie uwolnienia KKM z niszy szpikowej do krwi obwodowej.

Mechanizmy regulujące proces mobilizacji, wciąż nie są do końca dobrze poznane, a licznie doniesienia wykazują, że retencja komórek macierzystych jest regulowana przez kilka

uzupełniających się szlaków. Prowadzone przy moim współudziale badania zidentyfikowały nowe czynniki regulujące pozytywnie lub negatywnie retencje KKM w niszach szpikowych.

Choć medycyna odnosi liczne sukcesy w walce z chorobami hematologicznymi, to wśród pacjentów poddanych przeszczepom KKM ciągle utrzymuje się znaczny współczynnik umieralności. W Polsce 36 – miesięczne przeżycie biorców przeszczepień KKM od dawcy niespokrewnionego w 2015 roku wynosi 54% w przypadku dorosłych oraz 74% w przypadku biorców pediatrycznych. Za część niepowodzeń odpowiada opóźnione wszczepienie przeszczepianych KKM. Ponadto w przypadku autologicznych przeszczepów ok. 10% pacjentów bez chemioterapii i ok. 25% pacjentów po chemioterapii nie reaguje skutecznie na standardowe protokoły mobilizacji. Wymagane są zatem dalsze badania nad usprawnieniem tych terapii. Wyniki prowadzonych przy moim współudziale eksperymentów rzucają nowe światło na zjawisko mobilizacji oraz wszczepienia KMM, przyczyniając się do poszerzenia wiedzy mającej na celu usprawnienie terapii związanej z przeszczepami komórek szpiku, a także ustanowienia nowych, bardziej efektywnych, farmakologicznych regulatorów obu tych procesów.

3.) ANALIZA POSZCZEGÓLNYCH PRAC

1. The Nlrp3 Inflammasome Orchestrates Mobilization of Bone Marrow-Residing Stem Cells into Peripheral Blood. *Stem Cell Reviews and Reports*, 15(3), 391–403, 2019.

W pracy wykazałem, że w uwalnianiu KKM ze szpiku kostnego ważną rolę odgrywają nukleotydy zewnątrzkomórkowe, w szczególności adenozyno-5'-trifosforan (ATP), który po wydzieleniu z aktywowanych komórek do przestrzeni pozakomórkowej staje się silnym aktywatorem receptorów purynergicznyc. Badania zespołu z moim wiodącym współudziałem wykazały, że hamowanie wydzielania ATP w niszy szpikowej, poprzez blokowanie jego uwalniania do przestrzeni pozakomórkowej lub poprzez zablokowanie jednego z jego docelowych receptorów (P2X7) na powierzchni komórek krwiotwórczych, prowadzi do zmniejszenia wydajności mobilizacji.

Celem pracy była odpowiedź na pytanie czy interakcja ATP – P2X7 prowadzi do aktywacji inflamasomu Nlrp3 w komórkach należących do odporności wrodzonej, oraz czy ten

inflamasom jest wymagany do optymalnej mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych. Aby odpowiedzieć na to pytanie, przeanalizowano ekspresję elementów ścieżki inflamasomu Nlrp3 na poziomie mRNA oraz białka u myszy poddanych działaniu G-CSF lub AMD3100. Zastosowano aktywatory inflamasomu Nlrp3 i małowcząsteczkowe inhibitory, oraz następnie potwierdzono uzyskane obserwacje na myszach typu z brakiem inflamasomu Nlrp3 (ang. Nlrp3-KO mice).

Wykazano, że monocyty i granulocyty linii Gr-1⁺/CD11b⁺ należące do odporności wrodzonej, aktywują inflamasom Nlrp3 w odpowiedzi na stymulację ATP. Ponieważ osobne podanie G-CSF lub AMD3100 nie spowodowało tego zjawiska, uzyskane wyniki wskazują na ważną rolę ATP i sygnalizacji purynergiczej w początkowej fazie mobilizacji, która najpierw wymaga uwolnienia ATP z komórek do mikrośrodowiska niszy szpikowej w odpowiedzi na czynniki mobilizujące. Potwierdza to , że pozakomórkowy ATP jest czynnikiem wyzwalającym proces mobilizacji i potwierdza, że inflamasom Nlrp3 jest elementem łączącym sygnałowanie purynergiczne z aktywacją układu dopełniacza, która jest wymagana do wyjścia KKM z niszy szpikowych do krwi obwodowej.

Uzyskane wyniki pokazały ponadto, że inflamasom Nlrp3 aktywuje się na poziomie mRNA oraz białka w komórkach szpiku i krwi obwodowej po podaniu G-CSF lub AMD3100, co udowodniono na podstawie oceny ekspresji mRNA dla Nlrp3, ASC, kaspazy-1, IL-1 β , IL-18, HMGB1 i S100A9. Równolegle na poziomie białka zaobserwowano wzrost ekspresji IL-1 β , IL-18 i HMGB1 w krwi obwodowej, przy czym warto wspomnieć, iż IL-1 β i IL-18 są uznanymi aktywatorami inflamasomu Nlrp3.

Wyniki wskazują również, że IL-1 β i IL-18 ulegają ekspresji w KKM i uwalniane z tych komórek mogą również autokrynnie indukować wyjście KKM z niszy szpikowych. Wcześniejsze badania innych autorów wykazały, że IL-1 β wywołuje gorączkę i leukocytozę u myszy, oraz, że jest cytokiną mobilizującą. W analizowanej pracy po raz pierwszy wykazano, że IL-18 ma podobne właściwości. Oprócz obu interleukin, uwalnianie HMGB1 i S100A9 z komórek powoduje aktywację szlaku lektynowego kaskady dopełniacza, który jak pokazały wcześniejsze badania naszego zespołu ma istotny wpływ na udział kaskady dopełniacza w mobilizacji.

Eksperymenty z udziałem stymulatora inflamasomu Nlrp3 (nigerycyna) i jego drobnocząsteczkowym inhibitorem (MC9950) potwierdziły jego kluczową rolę w mobilizacji indukowanej zarówno przez G-CSF, jak i AMD3100. Rolę tę potwierdziły również indukowane

farmakologicznie mobilizacje myszy Nlrp3-KO. Myszy te jak stwierdziłem słabo poddają się mobilizacji KKM.

W pracy po raz pierwszy zidentyfikowano nową rolę aktywowanego przez ATP inflamasomu Nlrp3 w mobilizacji KKM. Wyniki te dodatkowo potwierdzają ważną rolę indukowanego przez odporność wrodzoną sterylnego zapalenia w niszy szpikowej jako czynnika wyzwalającego proces mobilizacji KKM.

2. Novel evidence that an alternative complement cascade pathway is involved in optimal mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in Nlrp3 inflammasome-dependent manner. *Leukemia*, 33(12), 2967–2970, 2019.

Wcześniejsze badania, które wchodziły w skład mojej rozprawy doktorskiej wykazały, że lektynowa, a nie klasyczna ścieżka aktywacji dopełniacza, odgrywa kluczową rolę w farmakologicznej mobilizacji KKM za pomocą G-CSF lub AMD3100. W porównaniu do myszy z niedoborem białka C1q, kluczowego dla ścieżki klasycznej, myszy z niedoborem białka wiążącego mannozę (MBL – ang. *mannose-binding lectin*) oraz proteaz serynowych (MASP-1 – ang. *Mannan-binding lectin serine protease 1*) mobilizowały się w gorzej niż zwierzęta kontrolne. Ponieważ jednak dochodziło u tych myszy do mobilizacji zarówno w wyniku działania G-CSF jak AMD3100, celem pracy była ocena czy alternatywna ścieżka aktywacji układu dopełniacza odgrywa rolę kompensacyjną w tym procesie.

Przeprowadzono mobilizację komórek myszy z niedoborem czynnika B (FB – ang. *Factor B*) - proteazy serynowej niezbędnej do aktywacji alternatywnej ścieżki układu dopełniacza. W przeciwieństwie do pozostałych dwóch szlaków szlak alternatywny nie jest wyzwalany przez przeciwciała lub specyficzne struktury na powierzchni mikroorganizmów. Zamiast tego jest on auto-aktywowany przez spontaniczną hydrolizę C3 (trzeci składnik kaskady dopełniacza i najliczniejsze białko dopełniacza obecne w osoczu krwi).

Wykazano, że w warunkach stanu fizjologicznego liczba komórek krwi obwodowej myszy FB-KO, jak i obraz biało- i czerwonokrwinkowy, liczba KKM w niszy szpikowej i krwi obwodowej oraz liczba progenitorów klonogennych jest w normie.

Farmakologiczna mobilizacja badanych myszy zaindukowana G-CSF oraz AMD3100, wykazała, że myszy FB-KO okazały się słabymi mobilizatorami KKM. Obserwacje te wskazują więc, że aktywacja alternatywnej ścieżki aktywacji kaskady dopełniacza za

pośrednictwem czynnika B bierze udział w optymalnym uwalnianiu komórek macierzystych do krwi obwodowej.

Opierając się na wcześniejszych obserwacjach dotyczących wpływu inflamasomu Nlrp3 na proces farmakologicznej mobilizacji KKM, w niniejszej pracy przeanalizowano ekspresję genów zaangażowanych w kompleks inflamasomu na poziomie mRNA oraz białka. Stwierdzono spadek ekspresji dla Nlrp3, ASC, kaspazy-1, HMGB1, IL-1 β i IL-18 w mRNA izolowanym z komórek szpiku kostnego oraz krwi obwodowej myszy FB-KO. Upośledzenie aktywacji układu dopełniacza oraz i inflamasomu Nlrp3 została następnie potwierdzona na poziomie białka, wykazując spadek markerów aktywacji inflamasomu Nlrp3 w krwi obwodowej, takich jak IL-1 β , IL-18 i HMGB1, równoległe ze spadkiem poziomu markera aktywacji kaskady dopełniacza C5a.

Podsumowując, w pracy po raz pierwszy wykazano, że alternatywny szlak aktywacji kaskady dopełniacza bierze udział w mobilizacji hematopoetycznych i niehematopoetycznych komórek macierzystych z niszy szpikowej do krwi obwodowej, a także wykazano, że proces ten zachodzi przy udziale inflamasomu Nlrp3.

3. The Inhibition of CD39 and CD73 Cell Surface Ectonucleotidases by Small Molecular Inhibitors Enhances the Mobilization of Bone Marrow Residing Stem Cells by Decreasing the Extracellular Level of Adenosine. *Stem Cell Reviews and Reports*, 15(6), 892–899, 2019.

Jak wykazano, aktywacja komórkowego i humoralnego ramienia wrodzonej odporności w mikrośrodowisku szpiku kostnego bierze udział w wyjściu KKM do krwi obwodowej w odpowiedzi na bodźce mobilizujące. Ważną rolę w inicjacji tego procesu odgrywa adenozy-5'-trifosforan (ATP), wydzielany z aktywowanych w wyniku farmakologicznej mobilizacji komórek, które uruchamiają się poprzez aktywację kaskady dopełniacza indukowanej inflamasomem Nlrp3 w niszach szpikowych.

Zidentyfikowanie pozakomórkowego ATP jako ważnego inicjatora mobilizacji KKM wykazała rolę sygnałowania purynergicznego w tym procesie. W pozakomórkowym mikrośrodowisku ATP jest metabolizowany do adenozy, która, jak wykazano, ma właściwości immunosupresyjne, a co istotne, jest również jak wykazałem po raz pierwszy w literaturze inhibitorem mobilizacji KKM. W degradacji ATP do adenozy pośredniczą

ektonukleotyduzy, a najważniejsze z nich to ekspresjonowane na powierzchni komórki w niszy szpikowej CD39 (NTPDaza1 – ang. *Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1*) i CD73 (5'-nukleotyduza, 5'-NT).

Biorąc pod uwagę dostępność małowcząsteczkowych inhibitorów CD39 i CD73, odpowiednio ARL67156 i AMPCP, sprawdzałem czy związki te poprzez obniżenie pozakomórkowego poziomu adenozyiny mogłyby zostać zastosowane do zwiększenia wydajności mobilizacji KKM oraz innych komórek macierzystych ze szpiku do krwi obwodowej.

W cytowanej pracy wykazałem, iż zahamowanie ektonukleotyduz CD39 i CD73 zwiększa mobilizację KKM, a także zwiększa uwolnienie także innych rodzajów komórek macierzystych rezydujących w niszy szpikowej takich jak mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC), epitelialnych komórek progenitorowych (EPC), a także bardzo małych komórek przypominających komórki zarodkowe VSEL (ang. *very small embryonic-like stem cells*).

Jak wykazano w pierwszej pracy wchodzącej w skład odkrycia naukowego, podczas gdy pozakomórkowy ATP promuje mobilizację poprzez aktywację inflamasomu Nlrp3 po związaniu z receptorem purynergicznym P2X7, jego metabolit - zewnątrzkomórkowa adenozyina ma działanie przeciwne, aktywując wewnątrzkomórkową oksygenazę hemową-1 (HO-1) w KKM. Ta ostatnia hamuje migrację KKM, a ponadto bezpośrednio hamuje inflamasom Nlrp3. W omawianej pracy wykazano *in vitro*, że adenozyina hamuje migrację HSPC do ważnych chemoatraktantów obecnych w krwi obwodowej zaangażowanych w mobilizację KKM (sfingozyno-1-fosforan (S1P), ceramido-1-fosforan (C1P), czynnik pochodzenia stromalnego 1 (SDF-1) i adenozyino-5'-trifosforan (ATP). Jednocześnie zwiększa adhezję KKM do fibronektyny, co wskazuje na jej pozytywny wpływ na zatrzymywanie komórek macierzystych w mikrośrodowisku niszy szpikowej.

Podsumowując w omawianej pracy wykazano, że hamowanie CD39 i/lub CD73 przez nietoksyczne dawki małowcząsteczkowych inhibitorów ułatwia wychodzenie komórek z niszy szpikowej i może stanowić podstawę dla nowych i bardziej skutecznych strategii farmakologicznych mobilizacji. Mając na uwadze istnienie również innych NTPDaz zaangażowanych w metabolizm ATP, takich jak NTPDazy 3, 5, 6 i 8, a także istnienie kilku innych małowcząsteczkowych inhibitorów obu ektonukleotyduz, potrzebne są dalsze badania związane z poszukiwaniem farmakologicznego czynnika wspomagającego mobilizację KKM.

4. Novel Evidence that Purinergic Signaling - Nlrp3 Inflammasome Axis Regulates Circadian Rhythm of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Circulation in Peripheral Blood. *Stem Cell Reviews and Reports*, 16(2), 335–343, 2020.

Rytm dobowy reguluje wiele aspektów fizjologii, w tym wydzielanie melatoniny przez szyszynkę, temperaturę ciała i poziom kortyzolu w osoczu. Również liczba krążących KKM we krwi obwodowej wykazuje rytm dobowy, gdzie szczyt liczby krążących występuje we wczesnych godzinach porannych, a najwyższy spadek w nocy, co jak proponowano, jest regulowane przez autonomiczny układ nerwowy.

Jednak na dobowe uwalnianie KKM ze szpiku kostnego mają również wpływ kaskady proteolityczne w surowicy w tym kaskada układu dopełniacza oraz kaskada układu krzepnięcia, których aktywacja jest indukowana między innymi podczas niedotlenienia w trakcie snu głębokiego w późnych godzinach nocnych. Zjawisko to koreluje również z dobowymi zmianami poziomu bioaktywnego sfingozyno-1-fosforanu w krwi obwodowej, a także adenozyno-5'-trifosforanu, uwalnianych z aktywowanych lub odpowiadających na stres komórek, co następnie powoduje aktywację receptora purynergicznego P2X7, a w konsekwencji aktywację kompleksu inflammasomu Nlrp3.

Na podstawie tych obserwacji postawiono hipotezę, że niedotlenienie podczas głębokiego snu powoduje uwalnianie ATP, który aktywując inflammasom Nlrp3 prowadzi do mobilizacji KKM do krwi obwodowej w sposób zależny od rytmu dobowego.

Zmierzono więc dobowy poziom ATP w krwi obwodowej oraz oceniono zmiany w ekspresji mRNA dla genów związanych z inflammasomem Nlrp3. Zahamowano ponadto wydzielanie ATP poprzez zastosowanie peptydu blokującego kanał paneksyny-1 (¹⁰Panx), a także poddano myszy działaniu inhibitora inflammasomu Nlrp3 (MCC950).

W pracy po raz pierwszy wykazano współzależność między sygnałowanie purynergicznym a wrodzoną odpornością w regulacji okołodobowych zmian liczby krążących w krwi obwodowej KKM i niekrwiotwórczych komórek macierzystych (MSC, EPC, VSEL). Zaobserwowano, że dobowe zmiany poziomu ATP we krwi aktywują inflammasom Nlrp3 biorący udział w uwolnieniu komórek macierzystych z nisz szpikowych.

Wykazano, że poziom ATP w krwi obwodowej ulega dobowym fluktuacjom i że następuje to w sposób zależny od kanałów paneksynowych, co pokazały badania z użyciem blokera tego kanału. Ponadto farmakologiczne zahamowanie inflammasomu Nlrp3 spowodowało obniżenie

dobowych zmian liczby krążących KKM w krwi obwodowej, jednak nie obniżyło ich liczby całkowicie, co sugeruje o zaangażowaniu innych mechanizmów w tym procesie, takich jak aktywacja kompensacyjna innych członków rodziny inflamasomów.

Ze względu na oczywiste różnice w rytmach dobowych myszy i ludzi, badania w niniejszej pracy muszą zostać zweryfikowane u pacjentów. Uwzględnić należy również fakt, iż płeć i wiek mogą również wpływać na zaobserwowane zjawisko.

5. Panexin-1 channel “fuels” by releasing ATP from bone marrow cells a state of sterile inflammation required for optimal mobilization and homing of hematopoietic stem cells. *Purinergic Signalling*, (2020), doi.10.1007/s11302-020-09706-1.

Bazując na wcześniejszych obserwacjach, pokazujących, że uwolniony z komórek adenozy-no-5'-trifosforan indukuje sterylne zapalenie poprzez inflamasom Nlrp3 w niszy szpikowej w następstwie działania G-CSF i AMD3100, a także w konsekwencji działania radioterapii/chemioterapii przy terapii mieloablacji oraz na fakcie, że ATP jest uwalniany z komórek głównie poprzez kanał paneksynowy-1 (ang. *Pannexin-1 channel*), w niniejszej pracy zastosowano specyficzne peptydy blokujące kanał paneksynowy w celu zbadania jego wpływu na mobilizację oraz wszczepianie krwiotwórczych komórek macierzystych.

Zaobserwowano, że ekspozycja myszy przed mobilizacją na peptyd blokujący ¹⁰Pannx hamuje mobilizację KKM indukowaną zarówno przez G-CSF, jak i AMD3100, a także inne typy komórek macierzystych rezydujących w niszy szpikowej, takich jak mezenchymalne komórki macierzyste (MSC), epitelialne komórki progenitorowe (EPC), a także bardzo małe komórki przypominające komórki zarodkowe VSEL (ang. *very small embryonic-like stem cells*). Porównano również skuteczność aktywacji składników inflamasomu przez ATP we wzbogaconej populacji komórek odporności wrodzonej Gr1⁺/CD11b⁺. Uzyskane wyniki wskazują, że ATP w porównaniu do G-CSF, AMD3100 i sfingozyno-1-fosforanu jest najsilniejszym aktywatorem elementów inflamasomu Nlrp3 w tych komórkach. Zaproponowano, że w trakcie mobilizacji pierwszy „rzut” uwolnionych ATP prowadzących do aktywacji inflamasomu Nlrp3 następuje w wyniku działania G-CSF lub AMD3100, a następnie ATP w sposób autokryny/parakryny podtrzymuje aktywację inflamasomu w komórkach odporności wrodzonej.

Długotrwała aktywacja inflamasomu Nlrp3 podczas mobilizacji indukuje uwalnianie reaktywnych form tlenu i mitochondrialnego DNA z komórek aktywowanych ATP, które wraz z cząsteczkami DAMP aktywują kaskadę dopełniacza, co jak wykazano w przeszłości ma kluczowe znaczenie dla wychodzenia KKM z niszy szpikowej do krwi obwodowej. Co więcej, w pracy wykazano, że podawanie G-CSF indukowało zmiany apoptotyczne w rezydujących w szpiku komórkach Gr1⁺/CD11b⁺, dlatego zaproponowano, że to uwalniany ATP indukuje zjawisko pyroptozy w tych komórkach. Co ciekawe, nie zaobserwowano podobnego zjawiska po podaniu AMD3100, co wskazuje na fakt, iż istnieją różne mechanizmy pośredniczące w mobilizacji KKM.

Kolejnym etapem prac były obserwacje wszczepienia KKM do niszy szpikowej. Powszechnie wiadomo, że kluczową rolę tym procesie odgrywa czynnik pochodzenia stromalnego 1 (ang. *stromal cell derived factor 1* – SDF-1), który działa chemotaktycznie na KKM poprzez receptor CXCR4. Jednak fakt, że komórki CXCR4^{-/-}, choć w mniejszym stopniu to jednak nadal wszczepiają się do niszy szpikowej, skłonił Zespół do zbadania innych czynników poza SDF-1 istotnych w tym procesie. Wcześniejsze badania z moim współdziałaniem wykazały, że kolejnym z nich jest sfingozyno-1-fosforan, jednak komórki pozbawione receptora CXCR4 wciąż wszczepiały się do niszy szpikowej myszy z niedoborem działania kinazy sfingozyny, co wskazuje na istnienie kolejnych czynników wspomagających naprowadzanie przeszczepionych KKM do niszy szpikowej. Ponieważ ATP jest również chemoatraktantem dla KKM, zaproponowano, że on również ma istotny udział w tym procesie. Badania wykazały, że u myszy – biorców, poddanych działaniu białka blokującego kanał paneksynowy 1, proces wszczepienia KKM był osłabiony w porównaniu do myszy kontrolnych.

W pracy zaproponowano, że poziom ATP w niszy szpikowej wspiera chemotaktyczny gradient SDF-1, ale nie można również wykluczyć możliwości, że ATP indukuje pewne zmiany w mikrośrodowisku niszy szpikowej wspierając wszczepienie KKM.

Praca dostarcza kolejnych dowodów na rolę kanału paneksynowego-1 w indukowaniu sterylnego zapalenia poprzez uwalnianie ATP w prawidłowej mobilizacji KKM. Po raz pierwszy wykazano również, że kanał ten odgrywa rolę w pośredniczonym przez ATP wszczepieniu KKM do niszy szpikowej po mieloablacji biorcy. Uzyskane dane na modelu mysim rzucają więcej światła na rolę ATP i sygnałowania purynergicznego w retencji KKM.

6. A novel evidence that mannan binding lectin (MBL) pathway of complement cascade activation is involved in homing and engraftment of hematopoietic stem progenitor cells (HSPCs). *Stem Cell Reviews and Reports*, 2020, doi.10.1007/s12015-020-09983-8.

Coraz więcej dowodów wskazuje, że terapia mieloablacji indukuje stan sterylnego zapalenia w mikrośrodowisku niszy szpikowej. Proces ten wyzwalany jest przez aktywację makrofagów odpornych na radio/chemioterapię, komórek zrębu szpiku kostnego i kaskady dopełniacza. Prace zespołu Pan Profesora Mariusza Z. Ratajczaka wykazały, że KKM wszczepiały się gorzej u myszy z niedoborem elementu C5 kaskady dopełniacza w porównaniu z myszami kontrolnymi typu dzikiego. Wśród ścieżek aktywacji kaskady dopełniacza, w szczególności droga lektynowa jest wyzwalana przez cząsteczki DAMP lub alarminy, które są uwalniane z komórek niszy szpikowej w odpowiedzi na sterylne zapalenie. Zespół ponadto wykazał, że droga lektynowa aktywacji kaskady dopełniacza odgrywa ważną rolę w farmakologicznej mobilizacji KKM. Stąd celem pracy była odpowiedź na pytanie, czy ścieżka ta może również odgrywać rolę w wszczepianiu i zasiedleniu niszy szpikowej przez KKM. Aby odpowiedzieć na to pytanie, użyto myszy z niedoborem szlaku lektynowego (MBL-KO) jako modelu do badania jego roli w aktywacji kaskady dopełniacza po mieloablacji oraz oceny roli tego szlaku w wszczepianiu KKM.

Wyniki uzyskane w pracy wykazały, że medium kondycjonowane z komórek szpiku izolowanych z myszy MBL-KO miało obniżoną aktywność chemotaktyczną wobec normalnych jednojądrzastych komórek szpiku kostnego, a także wobec linii granulocytarno-makrofagowych progenitorów. Można to częściowo wyjaśnić zmniejszeniem ekspresji SDF-1, a także innych chemoatraktantów KKM.

Zauważono, że na poziomie mRNA ekspresja genów dla elementów inflammasomu Nlrp3 była na wyższym poziomie u kontrolnych myszy w porównaniu ze zwierzętami MBL-KO. Innym markerem aktywacji inflammasomu Nlrp3 jest wzrost poziomu IL-1 β i IL-18 w osoczu, które są wydzielane z komórek w sposób zależny od aktywacji inflammasomu Nlrp3 i w tym przypadku wyższy poziom cytokin zauważono u myszy kontrolnych. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku ekspresji mRNA dla DAMP/alarmin, w tym HGMB1 i S100A8/9. Ten spadek ekspresji składników Nlrp3, jak również DAMP, można wyjaśnić zmniejszeniem aktywacji kaskady dopełniacza i uwalnianiem produktów dopełniacza tj. C3a, C5a i C5b-C9 (MAC) u myszy MBL-KO, które są potrzebne do utrzymania i wzmocnienia

aktywacji inflamasomu Nlrp3. Potwierdza to fakt, iż wykazano również niższy poziom anafilotoksyny C5a w osoczu myszy MBL-KO.

W pracy położono nacisk na ocenę roli ścieżki lektynowej w aktywacji kaskady dopełniacza szpiku po mieloablacji, a dane wskazują, że szlak ten odgrywa ważną rolę w sterylnym zapaleniu pośredniczącym w procesie wszczepienia KKM. Uzyskane dane wskazują, że szlak lektynowy odgrywa ważną rolę w przygotowaniu mikrośrodowiska niszy szpikowej do przeszczepu krwiotwórczego.

Uzyskane wyniki wskazują na nową rolę szlaku lektynowego w pośredniczeniu indukowaniu nadekspresji genu SDF-1 na poziomie mRNA w napromieniowanym szpiku. Myszy MBL-KO wykazały znacznie niższą ekspresję mRNA dla SDF-1 w porównaniu do myszy typu dzikiego. W procesie wszczepienia KKM pośredniczy również S1P i ATP, które również ulegają nadekspresji w wyniku napromieniowania, jednakże nie zauważono różnic w ekspresji tych czynników pomiędzy myszami typu dzikiego, a MBL-KO, co sugeruje, że ścieżka lektynowa może odmiennie regulować ekspresję SDF-1 i ATP.

7. Nlrp3 inflammasome signaling regulates homing and engraftment of hematopoietic stem cells (HSPCs) by enhancing incorporation of CXCR4 into membrane lipid rafts. *Stem Cell Rev and Rep*, 2020, doi.10.1007/s12015-020-10005-w.

Najważniejszą obserwacją publikacji jest fakt, że ekspresja inflamasomu Nlrp3 zarówno w KKM użytych do przeszczepu, jak i w mikrośrodowisku niszy szpikowej biorcy jest wymagany do optymalnego wszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych, ich zasiedlenia niszy szpikowej i odtworzenia hematopoetycznego.

W pracy zidentyfikowano nowy mechanizm, który promuje włączanie CXCR4 do tratw lipidowych błony, który zależy od aktywacji inflamasomu Nlrp3 w KKM. Aktywacja inflamasomu zwiększa uwalnianie ATP, który w sposób auto/parakryny zwiększa wbudowywanie receptora CXCR4 do tratw lipidowych błony, ułatwiając migrację KKM w kierunku gradientu SDF-1. Krwiotwórcze komórki macierzyste izolowane od myszy Nlrp3-KO, a także komórki poddane działaniu enzymu degradującego ATP - apyrazę, wykazywały zaburzoną migrację do chemoatraktantów. Dane te sugerują, że inkubacja komórek z ATP przed przeszczepem mogłaby poprawić wydajność wszczepienia tych komórek do niszy szpikowej.

Efekt auto/parakryny ATP w odpowiedzi na chemoatraktanty opisał Corriden i wsp., którzy wykazali pozytywny wpływ ATP, a negatywny adonozyny na migrację neutrofilów do gradientu C5a. W omawianej publikacji wykazano podobny efekt, wykazując odpowiedź KKM na chemoatraktanty niszy szpikowej i wskazując molekularne wyjaśnienie tego zjawiska poprzez przeciwny wpływ ATP i adonozyny na tworzenie tratw lipidowych w błonie.

Kolejnym ważnym aspektem w udoskonaleniu procesu wszczepienia KKM jest modyfikacja mikrośrodowiska szpiku biorcy. W poprzedniej pracy zespołu Pana Profesora Mariusza Z. Ratajczaka wykazano, że odporność wrodzona i aktywacja układu dopełniacza odgrywają ważną rolę w optymalnym wszczepieniu przeszczepionych komórek. Potwierdzają to uzyskane dane testu ELISA, które wykazały, że myszy Nlrp3-KO wykazują defekt aktywacji układu dopełniacza w medium kondycjonowanym uzyskanym z komórek szpiku biorcy po mieloablacji. Dane wskazują, że hamowanie inflamasomu Nlrp3 w niszy szpikowej myszy biorców ma negatywny wpływ na wszczepienie i zasiedlenie KKM w niszy szpikowej. Jednym z wytłumaczeń może być fakt, że w komórkach szpiku, letalnie napromieniowanych myszy Nlrp3-KO w porównaniu do myszy typu dzikiego następuje spadek ekspresji mRNA dla SDF-1, elementów inflamasomu i niektórych DAMP, które są odpowiedzialne za aktywację układu dopełniacza. Dlatego inflamasom Nlrp3 odgrywa ważną rolę zarówno jako regulator migracji KKM do chemoatraktantów, jak również jako odpowiedź na mieloablacyjne napromienianie, które ułatwia wydajność wszczepienia przeszczepionych komórek.

W pracy, po raz pierwszy wykazano, że inflamasom Nlrp3 odgrywa kluczową rolę we wszczepieniu i zasiedleniu KKM w niszy szpikowej. Efekt ten zachodzi w sposób zależny od auto/parakrynnego działania ATP zarówno w komórkach, jak i w mikrośrodowisku niszy szpikowej uwarunkowanym przez kondycjonowanie do przeszczepu. Na podstawie tych obserwacji inflamasom Nlrp3 może stać się celem interwencji terapeutycznych w celu poprawy wyników klinicznych przeszczepów krwiotwórczych.

8. The Nlrp3 inflammasome as a “rising star” in studies of normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia*, 34(6), 1512-1523, 2020.

Praca podsumowuje wpływ i efekt działania inflamasomu Nlrp3 między innymi na rozwój i ekspansję krwiotwórczych komórek macierzystych, mobilizację tych komórek, ich wszczepienie i zasiedlenie w niszy szpikowej po przeszczepie, w starzeniu KKM i metabolizmie komórek odpornościowych, roli w zespole mielodysplastycznym, nowotworach mieloproliferacyjnych i białaczkach oraz poprzyszczepowej chorobie przeszczep przeciw gospodarzowi (GVHD – ang. Graft-Versus-Host Disease).

Niedawne badania wykazały, że napływ glukozy do rozwijającego się zarodka kręgowca wpływa na rozwój i ekspansję KKM w narządach krwiotwórczych, a efekt ten jest zależny od aktywacji inflamasomu Nlrp3 i uwalniania IL-1 β . Jak odkryli autorzy, napływ glukozy do KKM zwiększa uwalnianie IL-1 β , a efekt ten został stłumiony w komórkach IL-1 β -KO i osłabiał wpływ glukozy na liczbę mysich wczesnych krwiotwórczych komórek CD41⁺. Na poparcie roli inflamasomu Nlrp3 autorzy zauważyli, że utrata jego składników zapobiegała proliferacji embrionalnych komórek. Ponadto, gdy ludzkie komórki hemogeniczne pochodzące z iPSC były poddane działaniu aktywatorów inflamasomu Nlrp3, nastąpił znaczny wzrost tworzenia wieloliniowych kolonii hematopoetycznych.

Jak wskazują wcześniej omawiane prace inflamasom Nlrp3 odgrywa kluczową rolę w mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych z niszy szpikowej do krwi obwodowej, ale i innych komórek macierzystych znajdujących się w mikrośrodowisku niszy szpikowej. Poparciem tego jest fakt, że inflamasom Nlrp3 zostaje aktywowany podczas mobilizacji, zarówno w komórkach odporności wrodzonej (granulocyty, monocyty i komórki dendrytyczne), jak i w KKM w odpowiedzi na G-CSF lub AMD3100. Ta aktywacja zachodzi w sposób parakryny/autokryny w odpowiedzi na DAMP, w tym pozakomórkowe alarminy, takie jak ATP, HMGB1 i S100A9. Komórki efektorowe wrodzonej odporności, które są aktywowane przez te czynniki, wydzielają wyższe poziomy alarmin i wzmacniają sterylne zapalenie w mikrośrodowisku niszy szpikowej poprzez zastosowanie pętli dodatniego sprzężenia zwrotnego.

Jak wspomniano mieloablacja do krwiotwórczego przeszczepu może indukować sterylne zapalenie w niszy szpikowej biorcy. Ponadto wykazano, że inflamasom Nlrp3 zostaje aktywowany w KKM zbieranych do przeszczepu. Aktywacja ta odgrywa ważną i jak dotąd niedocenianą rolę we wszczepieniu KKM do niszy szpikowej, co potwierdzają badania na

myszach Nlrp3-KO, które wykazały wadliwą migrację wobec chemoatraktantów takich jak SDF-1, czy ATP, które wykazują zwiększoną ekspresję w niszy szpikowej w odpowiedzi na mieloablację.

Proces starzenia wpływa na wszystkie tkanki, narządy oraz procesy z nimi związane, a szpik kostny i hematopoeza nie są wyjątkami. Starzenie szpiku charakteryzuje się zwiększoną mielopoezą ze względu na zwiększoną liczbę KKM i komórek szpikowych, co prowadzi do przewagi hematopoezy nad limfopoezą. W wyniku tej zmiany pula limfocytów B i T zmniejsza się w narządach krwiotwórczych. Wzrost mielopojezy jest spowodowany, między innymi, wzrostem uwalniania sygnalizacji IL-1 β i IL-1R pochodzących z inflamasomu Nlrp3, co zwiększa produkcję cytokin pro-mielopoetycznych przez komórki pomocnicze szpiku. Co więcej, wraz z wiekiem obserwuje się także wadliwą erytropoezę, która może przekształcić się w anemię. Ponownie, może to być uwarunkowane wpływem IL-1R i IL-18, ponieważ z jednej strony sygnalizacja IL-1R prowadzi do zmniejszenia wydzielania erytropoetyny w nerkach, a z drugiej strony IL-18 indukuje ekspresję interferonu gamma, który wraz z IL-1 α hamuje tworzenie kolonii erytroidalnych.

Omawiana powyżej związana z wiekiem reakcja zapalna może być dodatkowo spotęgowana niezdrowym stylem życia i nadmiernym spożyciem kalorii, co może prowadzić do patofizjologicznej odpowiedzi zapalnej, ponieważ ostatnie dowody wskazują, że inflamasom Nlrp3 zostaje aktywowany przez napływ glukozy lub aminokwasów. Zgodnie z rolą inflamasomu Nlrp3 w metabolizmie komórkowym wykazano, że Nlrp3 pełni niezwykle ważną rolę w rozwoju chorób metabolicznych, ponieważ niedobór Nlrp3 wydaje się mieć korzystne skutki w zmniejszaniu ogólnoustrojowego stanu zapalnego, zmniejszaniu aktywacji komórek odpornościowych, poprawie metabolizmu i poprawie oporności na insulinę. Z drugiej strony, wyższy poziom glukozy, obserwowany u pacjentów z cukrzycą typu 2, jest związany z aktywacją inflamasomu Nlrp3 i zwiększonym poziomem IL-1 β i IL-18 w surowicy.

Zespół mielodysplastyczny (MDS – ang. *myelodysplastic syndrome*) charakteryzuje się dysplazją szpiku, defektem w dojrzewaniu komórek krwiotwórczych, który powoduje nieefektywną hematopoezę, której towarzyszą nawracające mutacje genów somatycznych i nieprawidłowości chromosomalne. MDS jest związany z nieprawidłową aktywacją odporności wrodzonej i „tłącym się” stanem zapalnym w mikrośrodowisku krwiotwórczym. Ostatnie dowody wskazują, że aktywacja inflamasomu Nlrp3 nasila zapalenie w szpiku i prowadzi do uszkodzenia komórek krwiotwórczych, nieprawidłowości chromosomalnych i indukcji pyroptozy w odpowiedzi na podwyższony poziom pozakomórkowych DAMP. Wśród niech

ważną rolę jako aktywatorów inflamasomu Nlrp3 w patogenezie MDS odgrywają S100A8 i S100A9, których poziom jest znacznie zwiększony w osoczu krwi pacjenta z MDS.

Nowotwory mieloproliferacyjne (MPN – ang. *myeloproliferative neoplasms*) obejmują policytemię vera, trombocytemię oraz zwłóknienie szpiku, i reprezentują unikalny model zależności między klonalnym rozwojem nowotworu hematologicznego a przewlekłym zapaleniem. MPN są powiązane i mogą przekształcić się w MDS lub ostrą białaczkę szpikową. Wykazano również, że klon nowotworowy MPN indukuje reakcję zapalną. Dowodzi o tym fakt, że allogeniczny przeszczep komórek macierzystych prowadzi do całkowitego przywrócenia hematopoezy, regresji zwłóknienia szpiku i stopniowego osłabiania przewlekłego stanu zapalnego, a chociaż przewlekłe zapalenie w mikrośrodowisku niszy szpikowej może być obecne, zanim rozwinię się złośliwy klon, to najprawdopodobniej stanowi on konsekwencję obecności złośliwego klonu. Nie ulega wątpliwości, że inflamasom Nlrp3 odgrywa ważną rolę w patogenezie i progresji MPN, jednak potrzebne są bardziej szczegółowe badania, aby lepiej zająć się jego rolą w tych zaburzeniach, jak to już zrobiono w przypadku MDS.

Przewlekłe zapalenie odgrywa rolę wspomagającą w onkogenezie ze względu na promowanie niestabilności genomu poprzez mutacje DNA i zmiany epigenetyczne, upośledzenie nadzoru immunologicznego nowotworu oraz predyspozycje do ewolucji klonalnej. Tak więc utrzymujące się przewlekłe zapalenie w niszy szpikowej i obecność MDS lub MPN może z czasem sprzyjać rozwojowi białaczki. Proces ten odgrywa ważną rolę w patogenezie białaczki obserwowanej u pacjentów w podeszłym wieku w wyniku stanu zapalnego, który jest napędzany, przynajmniej częściowo, przez aktywację inflamasomu Nlrp3. Innym ważnym aspektem białaczki i stanu zapalnego jest fakt, że zapalenie u pacjentów z białaczką sprzyja uwalnianiu kilku chemoatraktantów, a tym samym zwiększa ruch komórek białaczkowych i ich rozprzestrzenianie się w narządach krwiotwórczych. Niedawne wyniki zespołu Pana Profesora Mariusza Z. Ratajczaka wskazują, że inflamasom Nlrp3 jest ważnym motorem migracji i rozprzestrzeniania komórek białaczkowych.

9. Innate immunity orchestrates the mobilization and homing of hematopoietic stem/progenitor cells by engaging purinergic signaling – an update. *Purinergic Signalling*, 2020, doi.10.1007/s11302-020-09698-y.

Szpik kostny jako aktywny narząd krwiotwórczy jest bardzo wrażliwy na zmiany w mikrośrodowisku i reaguje na zewnętrzne bodźce fizyczne z otaczającego środowiska, takie jak infekcje, forsowne ćwiczenia, uszkodzeniem innych tkanek/narządów, rytm dobowy i czynniki fizyczne, takie jak napromienianie. Bodźce te wpływają w dużym stopniu na komórki szpiku poprzez skoordynowaną odpowiedź sieci wrodzonej odporności, który jest istotnym czynnikiem w utrzymaniu homeostazy organizmu.

W pracy skupiono się na roli sygnału purynergicznego i odporności wrodzonej w retencji krwiotwórczych komórek macierzystych podczas ich uwalniania z niszy szpikowej do krwi obwodowej, co zobrazowano podczas farmakologicznej mobilizacji, a także w procesie odwrotnym czyli wszczepieniu i zasiedleniu przez te komórki niszy szpikowej po przeszczepie krwiotwórczym.

Sygnalowanie purynergiczne jest pierwotną formą sygnalizacji pozakomórkowej, w której pośredniczą zewnątrzkomórkowe nukleotydy, w tym ATP i jej metabolit nukleozydowy, adenozyne. ATP i adenozyne wywierają przeciwny wpływ na retencje KKM. Sygnalowanie to obejmuje również pewne rzadkie zewnątrzkomórkowe pirymidyny, takie jak UTP i UDP.

Po aktywacji inflamasomu w sposób zależny od osi ATP – receptor P2X7 i ATP – receptor P2X4, komórki odporności wrodzonej uwalniają, oprócz IL-1 β i IL-18, także DAMPy, w tym białko Hmgb1 i S100A9, które utrzymują stan sterylnego zapalenia w mikrośrodowisku niszy szpikowej. Komórki odporności wrodzonej uwalniają również reaktywne formy tlenu, które odsłaniają neoepitopy na powierzchni komórek w tym mikrośrodowisku. Antygeny neoepitopowe eksponowane przez reaktywne formy tlenu są rozpoznawane przez naturalnie występujące przeciwciała IgM, a kompleksy neoepitop-IgM stają się celem dla lektyny wiążącej mannozę i tym samym aktywują kaskadę dopełniacza. W skrócie, odporność wrodzona wywołuje sterylne zapalenie w mikrośrodowisku niszy szpikowej, a następnie proces ten staje się automatycznie wzmacniany przez interakcje autokryne i parakryne. Istnieją jednak czynniki, które ograniczają ten proces, a jednym z nich jest komórkowy enzym przeciwzapalny, oksygenaza hemowa 1 (HO-1).

Zebrane dane wykazują, że aktywacja odporności wrodzonej powoduje wyjście KKM do krwi obwodowej. Komórki odporności wrodzonej jako pierwsze wykazują odpowiedź na działanie czynników indukujących mobilizację. Prace różnych autorów wykazują, że granulocyty, monocyty i komórki dendrytyczne są wymagane do zainicjowania mobilizacji. W wyniku farmakologicznej mobilizacji, komórki odporności wrodzonej wydzielają DAMPy/alarminy, w tym ATP i HMGB1, reaktywne formy tlenu oraz enzymy proteolityczne i lipolityczne.

Co istotne, w modelach zwierzęcych *in vivo* zmniejszenie uwalniania ATP przez kanały paneksynowe 1 lub koneksyny 43, hamowanie reaktywnych form tlenu, czy brak fosfolipazy C- β 2 powodują osłabienie mobilizacji. Wszystkie te czynniki wydzielane przez aktywowane komórki odporności wrodzonej wpływają na inicjację mobilizacji na różne sposoby. ATP wyzwała aktywację inflamasomu Nlrp3 po związaniu z receptorami P2X7 i P2X4 na powierzchni komórek odporności wrodzonej zarówno w sposób autokryny, jak i parakryny, uwolniona z komórek fosfolipaza C- β 2 zaburza strukturę błon lipidowych na powierzchni krwiotwórczych komórek macierzystych w niszy szpikowej, zaburzając osie SDF-1 – CXCR4 i VCAM-1 – VLA4. Jednocześnie uwolnione przez mitochondria reaktywne formy tlenu aktywują inflamasom Nlrp3 wewnątrz komórek, a ponadto odsłaniają neoepitop na powierzchni komórek śródbłonna, co wyzwała aktywację układu dopełniacza.

Inflamasom Nlrp3 wydaje się odgrywać tu ważną i centralną rolę i zostaje aktywowany zarówno przez purynergiczny szlak sygnalizacyjny ATP-P2X7/P2X4, ekspozycję na S1P, jak i przez pochodzący z układu dopełniacza - C5a. Aktywacja tego inflamasomu nasila uwalnianie z komórek odporności wrodzonej kilku innych DAMPów, aktywuje kaspazę 1, która konwertuje pro-IL-1 β i pro-IL18, do ich dojrzałych aktywnych form wydzielanych z komórek, które są silnymi endogennymi pro-mobilizującymi czynnikami.

Jak wykazano odporność wrodzona w sposób istotny pośredniczy w procesach retencji KKM, angażując, oprócz pewnych czynników peptydowych, także inne ważne niepeptydowe mediatory, w tym bioaktywne fosfosfingolipidy i pozakomórkowe nukleotydy. Wyjaśnienie tych mechanizmów pozwoli na opracowanie bardziej wydajnych protokołów mobilizacji komórek macierzystych w celu zebrania wymaganej liczby komórek do przeszczepu i przyspieszenia odtworzenia krwiotwórczego u pacjentów po przeszczepie.

VIII. UDZIAŁ W PROJEKTACH BADAWCZYCH

W trakcie działalności naukowej brałem udział w następujących projektach:

Zrealizowane:

2011/02/A/NZ4/00035 - „Znaczenie bioaktywnych lipidów w regulacji procesów mobilizacji i „homingu” komórek macierzystych” - Maestro (Narodowe Centrum Nauki) – Wykonawca

2R01DK074720-06 - "Hematopoietic effect of complement protein C5a" - National Institute of Health – Wykonawca

2014/14/M/NZ3/00475 - "Procesy starzenia a multipotencjalność komórek macierzystych dorosłych tkanek” – Harmonia (Narodowe Centrum Nauki) – Wykonawca

2016/23/N/NZ4/03345 – „Ocena wpływu działania kinazy sfingozyny typu 1 oraz 2 na farmakologiczną mobilizację krwiotwórczych komórek macierzystych/progenitorowych” – Preludium (Narodowe Centrum Nauki) – Kierownik

W trakcie realizacji:

2018/29/B/NZ4/01470 – „Rola sygnałowania purynergicznego w układzie krwiotwórczym” – OPUS (Narodowe Centrum Nauki) - Wykonawca

IX. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

2019 - Abstract Achievement Award - wyróżnienie zgłoszonego streszczenia podczas 61 Zjazdu Amerykańskiego Towarzystwa Hematologicznego (61st American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition), Orlando, USA.

2019 - Indywidualna nagroda JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, I stopnia za współautorstwo publikacji z zakresu zjawisk dotyczących krwiotwórczych komórek macierzystych.

2018 - Zostałem rekomendowany przez Fundację na rzecz Nauki Polskie do udziału w 68 edycji spotkania młodych naukowców z całego świata z Laureatami Nagrody Nobla w Lindau (68th Lindau Nobel Laureate Meeting).

2018 - Stypendium naukowego Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnego młodego naukowca.

2018 - Indywidualna nagroda JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, I stopnia za cykl publikacji z zakresu zjawisk dotyczących krwiotwórczych komórek macierzystych.

2017 - Stypendium START z Fundacji na rzecz Nauki Polskiej - Roczne stypendium dla wybitnych młodych uczonych na początku kariery naukowej posiadających udokumentowane osiągnięcia w swojej dziedzinie badań.

2015 - Abstract Achievement Award - wyróżnienie zgłoszonego streszczenia podczas 57 Zjazdu Amerykańskiego Towarzystwa Hematologicznego (57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition), Orlando, USA.



Podpis wnioskodawcy