

AUTOREFERAT

w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu,
w dyscyplinie nauki medyczne

Tytuł osiągnięcia naukowego:

**„Wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe mechanizmy molekularne determinujące
neuroprotekcję i długodystansową regenerację aksonów neuronów
projekcyjnych ośrodkowego układu nerwowego”**



Dr n. med. Agnieszka Łukomska
Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

Warszawa 2026

Spis treści

1. Życiorys i podsumowanie pracy zawodowej.....	4
1.1 Dane osobowe	4
1.2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej	4
1.3 Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych ..	5
2. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. Zm.).	6
2.1 Tytuł osiągnięcia naukowego	6
2.2 Wykaz prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego z krótkim opisem wkładu indywidualnego.....	7
2.3 Omówienie celu naukowego prac, uzyskanych wyników oraz ich potencjalnego wykorzystania	12
2.3.1 Wprowadzenie merytoryczne do osiągnięcia naukowego.....	12
2.3.2 Główne cele osiągnięcia naukowego	14
2.3.3 Analiza poszczególnych prac osiągnięcia naukowego	15
2.3.4 Podsumowanie, wnioski oraz potencjalne wykorzystanie wyników prac	27
2.3.5 Piśmiennictwo cytowane w opisie osiągnięcia naukowego	29
3. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej	31
3.1 Wykaz prac niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego (Autor/Autorzy, Tytuł/Tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)	31
3.2 Informacja o bieżącej aktywności naukowej w Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (Warszawa, Polska).....	32
3.2.1 Transfer kompetencji i implementacja modelu eksperymentalnego ONC: rozwój samodzielnego programu badawczego po powrocie do kraju	32
3.2.2 Badania nad rolą komórek Nectin-3 ⁺ w potencjale regeneracyjnym siatkówki oka.	33
3.2.3 Opracowanie koncepcji udziału komposomu w regeneracji aksonów.	34
3.2.4 Udział w badaniach nad hematopoetycznymi komórkami macierzystymi w Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej WUM.....	35
3.3 Działalność badawcza realizowana w University of Connecticut, School of Medicine – dorobek niewchodzący w skład osiągnięcia naukowego (Farmington, CT, USA)	36
3.4 Badania nad rolą neuropeptydów w modulacji plastyczności układu nerwowego w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN (Warszawa, Polska)	37
3.5 Badania nad neurotoksycznością fluoru na Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie, prace opublikowane po obronie doktoratu (Szczecin, Polska).	38
3.6 Badania nad indukowanymi pluripotentnymi komórkami macierzystymi w patogenezie choroby Parkinsona (Luebeck, Niemcy).	39
4. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę	40
4.1 Działalność dydaktyczna na WUM (Warszawa, Polska).....	40
4.2 Działalność dydaktyczna i mentorska w University of Connecticut (Farmington, CT, USA).....	41

4.3 Opieka merytoryczna nad stażystami w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN (Warszawa, Polska)	42
4.4 Działalność popularyzująca naukę oraz aktywność medialna	42
4.5 Promotorstwo prac dyplomowych	43
4.6 Opieka nad Studenckim Kołem Naukowym Medycyny Regeneracyjnej	44
4.7 Działalność recenzencka w międzynarodowych czasopismach naukowych oraz ocena międzynarodowego grantu	45
4.7.1 Recenzowanie publikacji w czasopismach naukowych	45
4.7.2 Ocena międzynarodowych projektów grantowych	46
4.8 Nagrody i wyróżnienia naukowe uzyskane po obronie rozprawy doktorskiej	46
4.9 Członkostwo w krajowych i międzynarodowych towarzystwach naukowych	47
4.10 Działalność organizacyjna i leaderska w konsorcjum międzynarodowym	48
5. Podsumowanie danych bibliometrycznych	49

1. Życiorys i podsumowanie pracy zawodowej

1.1 Dane osobowe

Imię i nazwisko: Agnieszka Łukomska

Stopień naukowy: doktor nauk medycznych w zakresie biologia medyczna

Dane kontaktowe: +48 22 116 61 09, agnieszka.lukomska@wum.edu.pl

Adres służbowy: Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, CePT ul. Banacha 1B, 02-097 Warszawa

1.2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

02.2026	Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego, Uniwersytet Warszawski Studia podyplomowe: Omics Data Science – Bioinformatyka i wielkoskalowa analiza danych biomedycznych
02.2018	Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie Stopień naukowy: Doktor nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna (stopień nadany z wyróżnieniem <i>summa cum laude</i>) Tytuł rozprawy: „Udział metaloproteinaz i białek macierzy zewnątrzkomórkowej w neurotoksycznym działaniu fluoru na rozwijający się mózg szczura”
06.2014	Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie Kierunek: Biotechnologia medyczna, studia II stopnia (uzyskany tytuł zawodowy: magister) Tytuł pracy magisterskiej: „Wpływ wyciągu z nasion pokrzywy zwyczajnej (<i>Urtica dioica</i>) na aktywność lipooksygenaz w makrofagach poddanych działaniu fluoru”
06.2012	Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie Kierunek: Biotechnologia medyczna, studia I stopnia (uzyskany tytuł zawodowy: licencjat)

1.3 Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

03.2024 – obecnie	Warszawski Uniwersytet Medyczny, Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii (CePT), Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej (Warszawa, Polska) Stanowisko: Asystent naukowy
12.2019 – 03.2024	University of Connecticut, School of Medicine, Laboratorium Neuroregeneracji (Farmington, CT, USA) Stanowisko: Post-doc (<i>Postdoctoral researcher</i>), główny wykonawca grantu R01 ufundowanego przez NIH-NEI (R01-EY029739). Tematyka badawcza i obowiązki: Badania nad rolą małych niekodujących RNA w regeneracji aksonów po urazie mechanicznym nerwu wzrokowego; współudział w opiece naukowej nad doktorantami oraz studentami.
04.2018 – 12.2019	Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk (PAN), Laboratorium Neuroplastyczności (Warszawa, Polska) Stanowisko: Post-doc (<i>Postdoctoral researcher</i>), główny wykonawca grantu OPUS ufundowanego przez NCN (2015/17/B/NZ4/02016). Tematyka badawcza i obowiązki: Badania chemogenetyczne interneuronów hamujących wykazujących ekspresję somatostatyny i wazoaktywnego peptydu jelitowego (VIP) w kontekście plastyczności kory mózgowej; badanie rozmieszczenia receptorów somatostatynowych (SSTR 1-5) na interneuronach hamujących w korze baryłkowej
11.2015 – 04.2018	Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Wydział Lekarski, Zakład Biochemii (Szczecin, Polska) Stanowisko: Stanowisko specjalistyczno-techniczne Obowiązki: Wykonywanie prac badawczych i laboratoryjnych. Dodatkowo realizacja zajęć dydaktycznych (na zlecenie) z przedmiotu biochemia w wymiarze 100 godzin rocznie, obejmujących prowadzenie wykładów, seminariów oraz ćwiczeń praktycznych w laboratorium.
08-09.2017	Uniwersytet w Lubece, Instytut Neurogenetyki (Lubeka, Niemcy) Stanowisko: Stażysta naukowy (program Erasmus). Tematyka badawcza i obowiązki: Udział w projekcie badawczym ProtectMove (http://protect-move.de); charakterystyka indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) wyprowadzonych od pacjentów z chorobą Parkinsona oraz różnicowanie komórek iPSC w kierunku neuronów dopaminergicznych.
07-08.2016	Uniwersytet Karola w Pradze, Wydział Farmaceutyczny w Hradcu Králové (Hradec Králové, Czechy) Stanowisko: Stażysta naukowy (program Erasmus). Tematyka badawcza i obowiązki: Udział w projekcie badawczym dotyczącym wpływu niskich stężeń fluoru na cytotoksyczność linii komórek neuronopodobnych PC-12.

06-09.2015	Uniwersytet Ludwika i Maksymiliana w Monachium (LMU Munich), Wydział Fizjologii, Zakład Genomiki Fizjologicznej (Monachium, Niemcy) Stanowisko: Stażysta naukowy (program Erasmus). Tematyka badawcza i obowiązki: Udział w projekcie badawczym dotyczącym proliferacyjnej odpowiedzi komórek glejowych w ostrym urazie rdzenia kręgowego.
09.2013	Uniwersytet Medyczny w Rostocku, Katedra Biologii Komórki (Rostock, Niemcy) Stanowisko: Student stażysta. Zakres zadań i umiejętności: Hodowla, izolacja oraz różnicowanie komórek macierzystych szpiku kostnego.
2011 – 2012	Pomorski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Biologii Medycznej (Szczecin, Polska) Stanowisko: Student stażysta. Zakres zadań i umiejętności: Western Blot, ELISA, Real-Time PCR, izolacja DNA/RNA.
06-08.2011	Pomorski Uniwersytet Medyczny, Laboratorium Płynu Mózgowo-Rdzeniowego Kliniki Neurologii (Szczecin, Polska) Stanowisko: Student stażysta. Zakres zadań i umiejętności: Barwienia histologiczne, analiza płynu mózgowo-rdzeniowego.

2. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. Zm.).

2.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Tytuł osiągnięcia: „Wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe mechanizmy molekularne determinujące neuroprotekcję i długodystansową regenerację aksonów neuronów projekcyjnych ośrodkowego układu nerwowego.”

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 6 prac oryginalnych dotyczących poszukiwania i eksperymentalnej weryfikacji nowych celów terapeutycznych, warunkujących skuteczną neuroprotekcję i regenerację komórek zwojowych siatkówki w modelu uszkodzenia nerwu wzrokowego. Cykl ten stanowi moje najważniejsze oryginalne osiągnięcie i istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki medycznej. W ramach przeprowadzonych badań udowodniłam, że zdolność regeneracyjna dojrzałych neuronów projekcyjnych może być reaktywowana poprzez precyzyjną manipulację swoistymi programami molekularnymi, wykraczając poza schemat klasycznej, dla tego typu badań, inhibicji PTEN. Do kluczowych rezultatów cyklu należy identyfikacja nowych regulatorów neuroprotekcji i regeneracji, takich jak *Nfe2l3*, *Lanc1*, *Dynlt1a/Lars2* oraz *Atp6v0c*, a także wykazanie, że nowo powstające oligodendrocyty w miejscu uszkodzenia nerwu stanowią aktywny czynnik hamujący regenerację aksonów. Ponadto potwierdziłam, że modyfikacja macierzy zewnątrzkomórkowej za pomocą domeny fibronektyny RGD skutecznie wspiera proces długodystansowej regeneracji aksonów, co łącznie pozwoliło sformułować podstawy eksperymentalne

dla koncepcji naukowej zakładającej, że optymalny efekt terapeutyczny dla regeneracji uszkodzonych neuronów projekcyjnych wymaga jednoczesnego przełamania bariery wewnątrzneuronalnej oraz zewnątrzkomórkowej, udowodniony w przedstawionych publikacjach poprzez jednoczesną eksperymentalną terapię genową (zwiększenie ekspresji *Rpl7a*¹ a w drugim przypadku *Lanc1*²) wraz z jednoczesnym zastosowaniem rekombinowanego białka zawierającego domenę RGD fibronektyny.

Sumaryczny współczynnik Impact Factor (IF) osiągnięcia naukowego: 27,1

Sumaryczna punktacja Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) osiągnięcia naukowego: 840

2.2 Wykaz prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego z krótkim opisem wkładu indywidualnego

Publikacja 1: A. Łukomska*, B. A. Rheaume*, M. P. Frost*, W. C. Theune, J. Xing, A. Damania, E. F. Trakhtenberg (2024). Augmenting fibronectin levels in injured adult CNS promotes axon regeneration *in vivo*. *Experimental Neurology*, 379, 114877. DOI: 10.1016/j.expneurol.2024.114877. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

IF: 4,2

MEiN: 140

Mój wkład merytoryczny w powstanie publikacji polegał na: Jako współpierwsza autorka niniejszej pracy odegrałam wiodącą rolę w zaplanowaniu i realizacji zaawansowanych badań in vivo. Byłam odpowiedzialna za przeprowadzenie skomplikowanych procedur chirurgicznych na modelu mysim, obejmujących zabiegi obustronnego zmiążdżenia nerwu wzrokowego (z ang. Optic Nerve Crush, ONC) oraz iniekcje do ciała szklistego oka (w tym podanie wektorów wirusowych AAV2, znacznika aksonów (podjednostki B toksyny cholery, nietoksyczne białko szeroko stosowane w neurobiologii jako znacznik neuroanatomiczny, wykazujące powinowactwo do gangliozydów GM1 zlokalizowanych na powierzchni błon komórkowych neuronów – CTB) oraz terapii opartej na rekombinowanym fragmencie fibronektyny RP-RGD).

Ponadto kierowałam procesem preparatyki tkanek oraz akwizycją danych obrazowych z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej. Byłam głównym wykonawcą eksperymentów obrazujących regenerację aksonów (w tym spektakularny odrost włókien aż do skrzyżowania wzrokowego) oraz oceniających przeżywalność komórek zwojowych siatkówki (z ang. Retina Ganglion Cells, RGCs), co stanowiło fundament wyników zaprezentowanych na Rycinach 3 i 4. Do moich istotnych, samodzielnych osiągnięć metodycznych w ramach tej pracy należała również

optymalizacja przygotowania nowatorskiego nośnika podawanej terapii w postaci emulsji na bazie oleju silikonowego. Ponadto brałam czynny udział w analizie statystycznej i ilościowej uzyskanych wyników, koncepcji ostatecznych wniosków wynikających z wyników eksperymentów, graficznym przygotowaniu rycin oraz redakcji sekcji metodycznej manuskryptu, opisu figur, odpowiedzi na recenzje i ostatecznej akceptacji treści manuskryptu.

Publikacja 2: J. Xing*, **A. Lukomska***, B. A. Rheume*, J. Kim, M. S. Sajid, A. Damania, E. F. Trakhtenberg (2023). Post-injury born oligodendrocytes incorporate into the glial scar and contribute to the inhibition of axon regeneration. *Development*, 150(8), dev201311. DOI: 10.1242/dev.201311. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

IF: 3,7

MEiN: 140

Mój wkład merytoryczny w powstanie publikacji polegał na: Jako współpierwsza autorka niniejszej pracy odegrałam kluczową rolę w realizacji zaawansowanych badań in vivo oraz analizie histologicznej. Samodzielnie przeprowadziłam procedury chirurgiczne na modelu mysim, obejmujące zabiegi zmiążdżenia nerwu wzrokowego (ONC) oraz iniekcje do ciała szklistego oka (w tym podanie wektorów AAV2 wyciszających gen Pten, znaczników aksonalnych CTB oraz bezpośrednio podanie czynnika demielinizacyjnego – kupryzonu).

Ponadto kierowałam badaniami in vivo znakowania komórek w trakcie podziału i skomplikowanym procesem preparatyki tkanek, znakowania proliferujących komórek metodą EdU oraz akwizycją danych obrazowych za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej. Byłam wiodącym wykonawcą eksperymentów, które wygenerowały kluczowe dla pracy wyniki zaprezentowane na Rycinach 1, 5, 6 i 8. W szczególności, moje badania udowodniły wbudowywanie się nowo powstających komórek w bliźnię glejową (ocena obrotu komórkowego) oraz wykazały, że wywołana farmakologicznie demielinizacja (poprzez dietę kupryzonową lub miejscowe iniekcje) synergistycznie potęguje stymulowaną przez inhibicję PTEN regenerację aksonów oraz przeżywalność komórek RGCs. Ponadto brałam czynny udział w ilościowej i statystycznej analizie zebranych danych, sformułowania ostatecznych wniosków, przygotowaniu graficznym rycin oraz redakcji odpowiednich sekcji metodycznych manuskryptu, opisu figur, odpowiedzi na recenzje i ostatecznej akceptacji treści manuskryptu.

Publikacja 3: B. A. Rheume*, J. Xing*, **A. Łukomska***, W. C. Theune, A. Damania, G. Sjogren, E. F. Trakhtenberg (2023). Pten inhibition dedifferentiates long-distance axon-regenerating intrinsically photosensitive retinal ganglion cells and upregulates mitochondria-associated Dynl1a and Lars2. *Development*, 150(8), dev201644. DOI: 10.1242/dev.201644. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

IF: 3,7

MEiN: 140

Mój wkład merytoryczny w powstanie publikacji polegał na: Jako współpierwsza autorka tej publikacji byłam odpowiedzialna za realizację kluczowych eksperymentów in vivo stanowiących biologiczną walidację nowo odkrytych celów terapeutycznych. Samodzielnie przeprowadziłam skomplikowane procedury chirurgiczne na modelu mysim, obejmujące zabiegi ONC oraz iniekcje do ciała szklistego wektorów wirusowych AAV2 warunkujących nadekspresję genów mitochondrialnych (Dynl1a i Lars2), a także iniekcje wektorów kontrolnych i znacznika aksonalnego CTB.

Przeprowadziłam również kompleksową preparatykę tkanek (nerwów wzrokowych oraz preparatów siatkówek) oraz akwizycję danych obrazowych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej. Moja praca eksperymentalna pozwoliła na wygenerowanie krytycznych dla manuskryptu wyników zaprezentowanych na Rycinie 4. Dowiodły one jednoznacznie, że eksperymentalna nadekspresja genów Dynl1a i Lars2 samodzielnie promuje przeżywalność komórek RGCs oraz stymuluje regenerację ich aksonów. Ponadto brałam czynny udział w ilościowej i statystycznej analizie zgromadzonych danych tkankowych, analizie bioinformatycznej wyników sekwencjonowania, przygotowaniu graficznego Ryciny 4 oraz redakcji odpowiednich części sekcji metodycznej artykułu, opisu figur, odpowiedzi na recenzje i ostatecznej akceptacji treści manuskryptu.

Publikacja 4: **A. Łukomska**, M. P. Frost, J. Brady, A. Kearney, A. J. Balaji, C. D'Souza, E. F. Trakhtenberg (2026). Experimental upregulation of Lancl1 promotes axon regeneration after optic nerve injury in vivo. *Experimental Neurology*, 402, 115789. DOI: 10.1016/j.expneurol.2026.115789.

IF: 4,8

MEiN: 140

Mój wkład merytoryczny w powstanie publikacji polegał na: Jako pierwsza autorka niniejszej pracy odegrałam wiodącą rolę w zaplanowaniu, przeprowadzeniu oraz analizie badań walidujących skuteczność Lancl1 jako nowego czynnika pro-regeneracyjnego. Samodzielnie wykonałam wszystkie procedury chirurgiczne in vivo

na modelu mysim. Obejmowały one zabiegi obustronnego zmiążdżenia nerwu wzrokowego (ONC) oraz zaawansowane iniekcje do ciała szklistego oka wektorów wirusowych AAV2 warunkujących nadekspresję transgenu *Lancl1*, podawanie znaczników aksonalnych CTB-488 oraz wewnątrzgałkową aplikację rekombinowanego fragmentu fibronektyny (RP-RGD) w ramach terapii skojarzonej.

Kierowałam procesem preparatyki tkanek (zarówno nerwów wzrokowych, jak i preparatów siatkówek barwionych m.in. na obecność markera neuronalnego β III-Tubulin) oraz zaawansowaną akwizycją danych obrazowych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej. Moja praca eksperymentalna stanowiła wyłączny fundament wyników przedstawionych na Rycinach 2, 3, 4 i 5. Udowodniłam w nich pomyślną transdukcję RGCs (Rycina 2) oraz wykazałam, że nadekspresja *Lancl1* samodzielnie promuje regenerację aksonów i neuroprotekcję (Rycina 3). Ponadto na modelu długoterminowym (6 tygodni od urazu) udowodniłam, że skojarzenie terapii genowej *Lancl1* ze zmianą mikrośrodowiska tkankowego (RP-RGD) synergistycznie potęguje efekty terapeutyczne (Ryciny 4 i 5). Wykonałam również analizę statystyczną i ilościową tych danych, przygotowałam graficznie ryciny oraz zredagowałam kluczowe fragmenty sekcji metodycznej manuskryptu opisu figur, odpowiedzi na recenzje i ostatecznej akceptacji treści manuskryptu.

Publikacja 5: A. Lukomska*, M. P. Frost*, W. C. Theune, J. Xing, M. Gupta, E. F. Trakhtenberg (2024). Nfe2l3 promotes neuroprotection and long-distance axon regeneration after injury *in vivo*. *Experimental Neurology*, 375, 114741. DOI: 10.1016/j.expneurol.2024.114741. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

IF: 4,2

MEiN: 140

Mój wkład merytoryczny w powstanie publikacji polegał na: Jako współpierwsza autorka niniejszej pracy odegrałam wiodącą rolę w projektowaniu i weryfikacji eksperymentalnej *in vivo* nowo odkrytego wewnątrzkomórkowego czynnika pro-regeneracyjnego. Samodzielnie przeprowadziłam wszystkie skomplikowane procedury chirurgiczne na modelu mysim, obejmujące zabiegi ONC oraz precyzyjne iniekcje do ciała szklistego oka wektorów wirusowych AAV2 warunkujących nadekspresję genu *Nfe2l3*, wektorów wyciszających znane geny referencyjne (*shRNA Pten* i *shRNA Klf9*) oraz znaczników aksonalnych CTB.

Kierowałam również zaawansowaną preparatyką tkankową (nerwów wzrokowych oraz płaskich preparatów siatkówek) oraz akwizycją danych obrazowych za pomocą mikroskopii konfokalnej. Moja praca eksperymentalna pozwoliła na wygenerowanie krytycznych wyników zaprezentowanych na Rycinach 3, 4, 5 i 7. W badaniach tych udowodniłam skuteczną transdukcję docelowych komórek (Rycina 3) oraz wykazałam, że nadekspresja *Nfe2l3* w uszkodzonych komórkach RGCs stymuluje

długodystansową regenerację ich aksonów oraz neuroprotekcję na poziomie porównywalnym z klasycznymi regulatorami wzrostu (Ryciny 4 i 5). Ponadto przeprowadziłam analizę mechanistyczną badając zaangażowanie szlaku mTOR (ocena fosforylacji białka S6, Rycina 7). Brałam także czynny udział w ilościowej i statystycznej analizie zgromadzonych danych tkankowych, przygotowaniu graficznym rycin, sformułowaniu ostatecznych wniosków płynących z przeprowadzonych badań oraz redakcji odpowiednich części sekcji metodycznej manuskryptu, opisu figur, odpowiedzi na recenzje i ostatecznej akceptacji treści manuskryptu.

Publikacja 6: A. Kearney*, **A. Łukomska***, J. Brady, A. Damania, M. Gupta, E. F. Trakhtenberg (2026). Vacuolar ATPase subunit Atp6v0c transgene promotes neuroprotection and long-distance axon regeneration in injured retinal ganglion neurons. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 37(2), 102922. DOI: 10.1016/j.omtn.2026.102922. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

IF: 6,5

MEiN: 140

Mój wkład merytoryczny w powstanie publikacji polegał na: Jako współpierwsza autorka niniejszej pracy odegrałam wiodącą rolę w weryfikacji funkcjonalnej nowo zidentyfikowanego, wewnątrzkomórkowego mechanizmu pro-regeneracyjnego (szlaku wsparcia lizosomalnego). Samodzielnie przeprowadziłam wszystkie kluczowe procedury chirurgiczne in vivo na modelu mysim, obejmujące zabiegi zmiażdżenia nerwu wzrokowego oraz precyzyjne iniekcje do ciała szklanego oka wektorów wirusowych AAV2 warunkujących nadekspresję podjednostki c wakuolarnej ATP-azy (Atp6v0c), wektorów kontrolnych oraz znaczników aksonalnych CTB.

Kierowałam również procesem obróbki i preparatyki tkanek (nerwów wzrokowych oraz preparatów siatkówek znakowanych β III-Tubuliną) oraz zaawansowaną akwizycją danych za pomocą mikroskopii konfokalnej. Moja samodzielna praca eksperymentalna zaowocowała wygenerowaniem kluczowych paneli dla Rycin 2 i 3. Na podstawie tych badań eksperymentalnie udowodniłam, że nadekspresja transgenu Atp6v0c skutecznie promuje przeżywalność komórek RGCs oraz stymuluje długodystansową regenerację ich uszkodzonych aksonów. Ponadto brałam czynny udział w ilościowej i statystycznej analizie uzyskanych danych, wyciągnięciu ostatecznych wniosków z prowadzonych badań oraz w przygotowaniu graficznym przypisanych mi rycin, redakcji sekcji metodologicznej manuskryptu, opisu figur, odpowiedzi na recenzje i ostatecznej akceptacji treści manuskryptu.

2.3 Omówienie celu naukowego prac, uzyskanych wyników oraz ich potencjalnego wykorzystania

2.3.1 Wprowadzenie merytoryczne do osiągnięcia naukowego

Nieodwracalna utrata wzroku pozostaje jednym z najpoważniejszych wyzwań współczesnej medycyny klinicznej, dotyczącym miliony ludzi na całym świecie. Szacuje się, że jaskra – wiodąca przyczyna ślepoty – dotyka globalnie 80 milionów osób, a prognozy wskazują na wzrost tej liczby do około 112 milionów do 2040 roku³. Z kolei atrofia nerwu wzrokowego, wynikająca z takich stanów jak zapalenie nerwu wzrokowego, urazy mechaniczne, nowotwory czy dziedziczne neuropatie, stanowi trzecią najczęstszą przyczynę ślepoty, zaraz po zwyrodnieniu plamki żółtej związanym z wiekiem⁴. Te alarmujące statystyki podkreślają pilną potrzebę prowadzenia intensywnych badań nad regeneracją układu wzrokowego. Co więcej, odkrycia dokonane podczas badania układu wzrokowego, należącego do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) mają ogromny potencjał translacyjny i mogą znaleźć szersze zastosowanie w leczeniu innych chorób i urazów dotyczących neuronów i aksonów w obrębie mózgu oraz rdzenia kręgowego.

Komórki zwojowe siatkówki to neurony projekcyjne ośrodkowego układu nerwowego. Ich ciała komórkowe zlokalizowane są w siatkówce, a aksony tworzą nerw wzrokowy, skrzyżowanie wzrokowe i pasma wzrokowe, docierając do głębokich struktur mózgu (podkorowych ośrodków wzrokowych, takich jak m.in. jądro nadskrzyżowaniowe, wzgórki górne pokrywy śródmózgowia oraz ciało kolankowate boczne wzgórze), stanowiąc tym samym kluczowy element drogi wzrokowej kręgowców. W przeciwieństwie do neuronów obwodowego układu nerwowego (PNS), komórki zwojowe siatkówki w dojrzałym OUN ssaków wykazują drastycznie ograniczoną zdolność do regeneracji aksonów po uszkodzeniu. Brak zdolności włókien nerwowych do odrostu i odtworzenia długodystansowych połączeń między neuronami uniemożliwia powrót do zdrowia po urazach niedokrwiennych lub mechanicznych OUN. Przykładowo, ślepota spowodowana urazem lub udarem nerwu wzrokowego trwale przerywa aksony, przez które komórki RGC przekazują informacje z oka do mózgu. Choć zidentyfikowano już różnorodne czynniki stymulujące pewien stopień regeneracji aksonów w OUN, ich translacja kliniczna napotyka na poważne przeszkody. Przykładowo, obniżenie ekspresji genu supresorowego *Pten*, choć wysoce skuteczne w promowaniu odrostu aksonów, niesie ze sobą ryzyko onkogennych skutków ubocznych, co wyklucza jego bezpośrednie zastosowanie kliniczne^{5,6}. Dlatego też przełamanie regeneracyjnej niezdolności RGCs i innych neuronów OUN pozostaje jedną z kluczowych niezaspokojonych potrzeb dzisiejszej medycyny.

Brak spontanicznej naprawy w dorosłym OUN wynika z dwóch nakładających się na siebie barier: utraty wewnętrznego (wewnątrzkomórkowego) potencjału wzrostowego przez same neurony oraz pojawienia się wskutek urazu (lub degeneracji)

niekorzystnego, hamującego mikrośrodowiska zewnątrzkomórkowego. Wewnątrzkomórkowe bariery regeneracyjne wynikają głównie ze zmian epigenetycznych i transkryptomicznych zachodzących w neuronach w toku ich dojrzewania. Proces ten wiąże się z utratą przez nie zdolności do aktywnego wydłużania i rozgałęziania neurytów po zakończeniu rozwoju embrionalnego oraz wczesnego okresu pourodzeniowego. Identyfikacja i eksperymentalna nadekspresja genów wyciszonych w toku rozwoju, bądź modulacja szlaków wewnątrzkomórkowych związanych ze stresem komórkowym i metabolizmem, pozwalają na skuteczną neuroprotekcję i reaktywację programów wzrostowych uszkodzonych aksonów. Słuszność tego założenia potwierdziłam w cyklu własnych publikacji, identyfikując nowe wewnątrzkomórkowe, potencjalne cele terapeutyczne^{2,7-14}.

Zrozumienie wewnątrzkomórkowych mechanizmów regeneracji aksonów stanowi jednak zaledwie jeden z elementów warunkujących skuteczną naprawę. Równie istotne w badaniach nad regeneracją aksonów u ssaków jest określenie roli komórek nieneuronalnych oraz środowiska zewnątrzkomórkowego, ze szczególnym naciskiem na funkcję komórek glejowych. W następstwie zmiążdżenia nerwu wzrokowego uruchamiana jest kaskada procesów biologicznych, obejmująca aktywację rezydentnego mikrogleju oraz – w odpowiedzi na uszkodzenie tkanki – naciek monocytów i makrofagów z krwi obwodowej. Wykazano na przykład, że zymozan (nierozpuszczalny kompleks polisacharydowo-proteinowy, głównie β -glukan, pochodzący ze ściany komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, który w modelach eksperymentalnych służy jako silny aktywator odpowiedzi zapalnej) aktywuje komórki układu odpornościowego, pobudza fagocytozę resztek mielin w miejscu uszkodzenia nerwu i na tej drodze stymuluje regenerację aksonów. Zjawisku temu towarzyszy również uwalnianie czynników wzrostowych przez aktywowane makrofagi i mikroglej, co dodatkowo niweluje niekorzystny wpływ hamującego mikrośrodowiska uszkodzonego nerwu¹⁵⁻¹⁷.

Kluczową rolę w hamowaniu regeneracji uszkodzonych aksonów OUN pełnią również oligodendrocyty i astrocyty. Składniki mielin wytwarzanej przez oligodendrocyty (m.in. MAG, Nogo-A, OMgp) wykazują silne działanie inhibicyjne względem tego procesu^{18,19}. Z kolei astrocyty po urazie OUN migrują, proliferują oraz modyfikują swoją morfologię i profil molekularny, tworząc bliznę glejową bogatą w proteoglikany siarczanu chondroityny (CSPGs), które działają hamująco na wzrost aksonów¹⁹. W moich badaniach wykazałam istotny udział składników mikrośrodowiska zewnątrzkomórkowego w odpowiedzi na uraz, w tym niekorzystny wpływ nowo powstających oligodendrocytów włączających się w strukturę blizny glejowej²⁰, a także ogromny potencjał proregeneracyjny przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) z wykorzystaniem rekombinowanego białka będącego pochodną fibronektyny¹.

W obliczu powyższych wyzwań badanie mechanizmów regeneracji aksonów OUN w dorosłym organizmie wymaga zintegrowanego, holistycznego podejścia. Zrozumienie, w jaki sposób – z jednej strony – neurony mogą odzyskać utracony wewnętrzny potencjał do regeneracji, a z drugiej – jak skutecznie zneutralizować

hamujący wpływ ich zewnętrznego mikrośrodowiska, stanowi klucz do opracowania nowatorskich strategii terapeutycznych. Konieczność zastosowania takiego dwutorowego spojrzenia na problem braku regeneracji w dorosłym OUN stała się bezpośrednim punktem wyjścia do sformułowania założeń i celów badawczych mojego cyklu publikacji.

2.3.2 Główne cele osiągnięcia naukowego

Nadrzędnym celem mojego cyklu badawczego była genetyczna i farmakologiczna stymulacja dorosłego organizmu ssaka do regeneracji przerwanych połączeń aksonalnych w ośrodkowym układzie nerwowym. W szczególności badania te koncentrowały się na układzie wzrokowym, dążąc do indukcji odrostu uszkodzonych aksonów komórek zwojowych siatkówki. Z uwagi na szeroką dostępność zaawansowanych narzędzi modyfikacji genetycznych oraz precyzyjnych technik obrazowania, badania zrealizowano na modelu mysim. Wykorzystano w nich powszechnie uznany i wysoce standaryzowany model mechanicznego zmiążdżenia nerwu wzrokowego, stanowiący optymalny układ referencyjny do prowadzenia badań nad degeneracją i regeneracją aksonów neuronów OUN. Przeprowadzone przeze mnie eksperymenty miały charakter badań podstawowych, a ich głównym celem poznawczym było poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów patofizjologicznych leżących u podstaw braku spontanicznej naprawy w dorosłym układzie nerwowym.

Aby zrealizować to nadrzędne założenie, sformułowałam trzy komplementarne, szczegółowe cele badawcze:

- 1. Mobilizacja wewnątrzkomórkowego potencjału regeneracyjnego neuronów.**
Szczegółowym celem badań było zidentyfikowanie wewnątrzkomórkowych czynników genetycznych odpowiedzialnych za ograniczenie regeneracji aksonów w dorosłym OUN oraz wykazanie, że celowana modyfikacja ich ekspresji z wykorzystaniem wektorów wirusowych AAV2 pozwala na przełamanie bariery rozwojowego wyciszenia, przywracając dorosłym neuronom projekcyjnym utraconą zdolność do przetrwania oraz wydłużania neurytów.
- 2. Modulacja niszy zewnątrzkomórkowej i mikrośrodowiska tkankowego.**
Kolejnym celem była dogłębna analiza inhibicyjnego mikrośrodowiska w miejscu uszkodzenia oraz opracowanie strategii terapeutycznego przełamania tej zewnątrzkomórkowej bariery regeneracyjnej. Realizacja tego założenia obejmowała określenie niekorzystnego wpływu nowo powstających komórek glejowych (oligodendrocytów) i zjawiska mielinizacji zachodzącej *de novo*, jak również weryfikację roli fibronektyny jako czynnika o potencjale pro-regeneracyjnym.
- 3. Mechanistyczne zgłębienie szlaków molekularnych warunkujących fenotyp pro-regeneracyjny.**
Ostatnim celem badawczym było precyzyjne określenie podłoża molekularnego procesów pro-regeneracyjnych zaobserwowanych *in vivo*. Dążyłam do wyjaśnienia,

jakie mechanizmy indukują efekt neuroprotekcyny i determinują znaczącą regenerację aksonów po uszkodzeniu.

2.3.3 Analiza poszczególnych prac osiągnięcia naukowego

Publikacja 1: A. Łukomska*, B. A. Rheaume*, M. P. Frost*, W. C. Theune, J. Xing, A. Damania, E. F. Trakhtenberg (2024). Augmenting fibronectin levels in injured adult CNS promotes axon regeneration *in vivo*. *Experimental Neurology*, 379, 114877. DOI: 10.1016/j.expneurol.2024.114877. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

Próby indukcji regeneracji aksonów neuronów OUN u dorosłych ssaków napotykają szereg barier, z których jedną z najistotniejszych stanowi inhibicyjne mikrośrodowisko zewnątrzkomórkowe. Chociaż po urazie w miejscu uszkodzenia aktywowana jest fagocytoza szczątków komórkowych i resztek mieliny za pośrednictwem komórek układu immunologicznego (m.in. makrofagów z krwi obwodowej oraz aktywowanego miejscowo mikrogleju), to endogenna odpowiedź zapalna okazuje się niewystarczająca do zainicjowania skutecznej naprawy przerwanych aksonów. Co więcej, zdolność komórek zwojowych siatkówki do interakcji ze składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) ulega znaczącym zmianom w toku ich dojrzewania. Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że fibronektyna (Fn) – kluczowa glikoproteina ECM – odgrywa istotną rolę we wzroście aksonów podczas rozwoju embrionalnego. Niemniej jednak jej potencjał w kontekście stymulacji regeneracji dojrzałego OUN w warunkach *in vivo* pozostawał dotychczas nie w pełni poznany. Zasadniczym celem omawianej pracy było systematyczne zbadanie, czy i w jaki sposób modulacja poziomu fibronektyny w mikrośrodowisku uszkodzonego nerwu wzrokowego wpływa na przetrwanie oraz długodystansowy odrost aksonów RGC, a także wyjaśnienie mechanizmów molekularnych i komórkowych warunkujących to zjawisko.

W ramach omawianej pracy, z wykorzystaniem zaawansowanych analiz transkryptomicznych (scRNA-seq oraz bulk mRNA-seq), wykazaliśmy w pierwszej kolejności, że subpopulacja komórek RGCs zdolna do przetrwania urazu ONC charakteryzuje się znacząco podwyższoną ekspresją podjednostek integryn Itga5 i ItgaV . Tworzą one swoiste receptory (odpowiednio $\alpha5\beta1$ i $\alpha v\beta1$) dla motywu RGD fibronektyny. Następnie zweryfikowaliśmy te obserwacje w warunkach *in vitro*. Badania przeprowadzone z wykorzystaniem długoterminowych hodowli komórkowych udowodniły, że zarówno pełnej długości fibronektyna, jak i opracowane przez nas rekombinowane białko zawierające motyw RGD (RP-RGD), w przeciwieństwie do standardowo stosowanej lamininy, silnie promują długotrwałe przetrwanie oraz wzrost aksonów wyizolowanych, dorosłych RGC.

Kolejnym kluczowym etapem była walidacja uzyskanych wyników w warunkach *in vivo*. W ramach tych prac zaprojektowałam i samodzielnie przeprowadziłam na

modelu mysim zaawansowane procedury mikrochirurgiczne, obejmujące obustronne zmiążdżenie nerwu wzrokowego połączone z iniekcjami do ciała szklanego oka. Aby skutecznie i długotrwale dostarczyć czynnik terapeutyczny do uszkodzonej tkanki, zoptymalizowałam nowatorski nośnik w postaci emulsji na bazie oleju silikonowego, w której zawiesiłam wyselekcjonowane wcześniej białko RP-RGD. Wykorzystując opisany model, udowodniłam, że celowane, eksperymentalne zwiększenie dostępności pochodnych fibronektyny w dorosłym OUN poprzez podanie RP-RGD znacząco promuje neuroprotekcję i długodystansową regenerację aksonów po urazie ONC. Ponadto analizując parametry zapalne (m.in. poziom ekspresji markera Iba1), wykazałam, że obserwowany efekt pro-regeneracyjny wynika z bezpośredniej stymulacji neuronów, nie indukując przy tym dodatkowego, potencjalnie toksycznego i rozległego stanu zapalnego w obrębie siatkówki.

W celu pogłębionej analizy mechanizmów komórkowych zachodzących w układzie nerwowym, przeprowadziłam również badania histologiczne tkanki embrionalnej (E18), neonatalnej (P14) oraz dorosłej, oceniając obecność fibronektyny w kluczowych momentach rozwojowego wydłużania aksonów. Na ich podstawie udowodniłam, że ekspresja endogennej fibronektyny ulega fizjologicznemu wyciszeniu w dojrzałym nerwie wzrokowym i rdzeniu kręgowym. Następnie, łącząc analizę scRNA-seq z przeprowadzonymi przeze mnie eksperymentami *in vivo* z zastosowaniem zymozanu (znanego stymulatora regeneracji indukowanej stanem zapalnym), wykazaliśmy, że głównym endogennym źródłem fibronektyny w miejscu uszkodzenia są aktywowane makrofagi i mikroglej (Cd14⁺). Ich wzmożona rekrutacja ściśle koreluje z procesem regeneracji aksonów po urazie ONC, co potwierdziłam analizami tkankowymi przeprowadzonymi w 3. i 14. dobie po uszkodzeniu.

Zwieńczeniem moich badań eksperymentalnych w ramach tej pracy było udowodnienie efektu synergistycznego zastosowanego układu terapii skojarzonej. Wykazałam, że jednoczesne zastosowanie zewnątrzkomórkowego czynnika RP-RGD oraz wewnątrzkomórkowej terapii genowej (wykorzystującej wektory AAV2 do nadekspresji opisanego przez nas wcześniej pro-regeneracyjnego, związanego z rybosomami genu *Rpl7a*¹¹) skutkuje wysoce zaawansowaną regeneracją uszkodzonych aksonów. Co szczególnie istotne, po upływie 6 tygodni od urazu część odrastających włókien zdołała zregenerować na dystansie sięgającym aż do skrzyżowania wzrokowego.

Uzyskane w toku wieloetapowych badań wyniki jednoznacznie dowodzą, że mikrośrodowisko zewnątrzkomórkowe dorosłego OUN po urazie charakteryzuje się krytycznym niedoborem odpowiednich, pro-regeneracyjnych substratów. Jak wykazaliśmy, endogenna odpowiedź organizmu – polegająca na rekrutacji makrofagów i mikrogleju – okazuje się niewystarczająca i ulega całkowitej neutralizacji wskutek nagromadzenia zewnątrzkomórkowych czynników inhibicyjnych w obrębie dojrzałej tkanki. Z przeprowadzonych analiz płynie również fundamentalny wniosek koncepcyjny: brak spontanicznej regeneracji aksonów RGC jest uwarunkowany nie tylko utratą wewnątrzkomórkowego potencjału wzrostowego przez same neurony, lecz

w znacznej mierze również deficytem niezbędnych, pro-regeneracyjnych substratów zewnątrzkomórkowych.

Podsumowując, eksperymentalne zastosowanie nowatorskiego, opracowanego przez nas RP-RGD stanowi wysoce skuteczną strategię terapeutyczną, pozwalającą na przełamanie barier mikrośrodowiskowych. W przeciwieństwie do pełnej długości, wielkocząsteczkowej fibronektyny (tworzącej dimery o masie około 500 kDa), nasze białko składa się z zaledwie 170 aminokwasów. Taka charakterystyka strukturalna czyni je idealnym kandydatem do podawania lokalnego, pozwalając na ominięcie wielu barier farmakokinetycznych. Co więcej, zoptymalizowana przeze mnie metoda dostarczania czynnika terapeutycznego z wykorzystaniem emulsji na bazie oleju silikonowego znacząco wspomaga ten proces. Olej ten ułatwia fizyczną dystrybucję czynnika bezpośrednio do uszkodzonego nerwu wzrokowego, pokonując tym samym ograniczenia wynikające ze zwykłej dyfuzji tkankowej. Ze względu na niewielki rozmiar, precyzyjny mechanizm działania oraz nieindukowanie neurotoksycznego stanu zapalnego, stworzone przez nas RP-RGD wykazuje ogromny potencjał translacyjny. Stanowi ono gotową platformę do rozwoju przyszłych, celowanych terapii skojarzonych, łączących ingerencję w strukturę macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) z terapiami genowymi ukierunkowanymi na neurony projekcyjne – co docelowo może zmaksymalizować efekty kliniczne u pacjentów z uszkodzeniami ośrodkowego układu nerwowego.

Publikacja 2: J. Xing*, **A. Lukomska***, B. A. Rheume*, J. Kim, M. S. Sajid, A. Damania, E. F. Trakhtenberg (2023). Post-injury born oligodendrocytes incorporate into the glial scar and contribute to the inhibition of axon regeneration. *Development*, 150(8), dev201311. DOI: 10.1242/dev.201311. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

Istotną barierą w eksperymentalnych badaniach nad naprawą OUN jest zjawisko przedwczesnego zatrzymywania się odrastających aksonów. Nawet w przypadku stymulacji silnych wewnątrzkomórkowych szlaków naprawczych – takich jak wyciszenie genu *Pten* – co pozwala aksonom na przełamanie klasycznych barier wewnątrzkomórkowych, zaledwie ułamek procenta regenerujących włókien jest w stanie dotrzeć do docelowych struktur postsynaptycznych w mózgowiu. Podczas prawidłowego rozwoju embrionalnego proces mielinizacji włókien nerwowych ulega fizjologicznemu opóźnieniu i rozpoczyna się dopiero po osiągnięciu przez aksony ich struktur docelowych. Na podstawie tych przesłanek postawiliśmy hipotezę, że to interakcja eksperymentalnie stymulowanych, odrastających aksonów z nowo powstającymi w miejscu uszkodzenia oligodendrocytami skutkuje przedwczesnym zahamowaniem ich regeneracji. W przeciwieństwie do resztek mieliny pochodzących z obumarłych komórek, żywe, nowo powstające po urazie oligodendrocyty (NFO) wykazują zdolność do tworzenia wypustek, za pomocą których inicjują proces mielinizacji regenerujących włókien, jeszcze zanim te dotrą do celu.

W pierwszej kolejności, na podstawie analiz bioinformatycznych (scRNA-seq), wykazaliśmy, że po urazie ONC dochodzi do znacznego spadku liczby dojrzałych oligodendrocytów w obrębie miejsca uszkodzenia, a resztki mieliny ulegają naturalnej fagocytozie przez makrofagi i aktywowany mikroglej w ciągu pierwszych dwóch tygodni. Jednocześnie zaobserwowaliśmy pojawienie się nowej subpopulacji dojrzewających komórek linii oligodendrocytów. W celu eksperymentalnego prześledzenia ich losów, przeprowadziłam złożoną procedurę znakowania proliferujących komórek metodą EdU w warunkach *in vivo*. Przeprowadzona przeze mnie akwizycja oraz analiza danych obrazowych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej jednoznacznie dowiodły, że po procesie fagocytozy szczątków martwiczych, miejsce urazu jest intensywnie zasiedlane przez komórki NFO, które aktywnie wbudowują się w strukturę blizny glejowej. Zrealizowana przez nas dodatkowa analiza transkryptomyczna ujawniła, że komórki te charakteryzują się silną ekspresją białek błonowych o znanych właściwościach inhibicyjnych względem odrastających włókien nerwowych (m.in. Nogo-A, MAG, BAI1/2, Sema5A).

Aby zweryfikować hipotezę, że usunięcie nowo powstających komórek glejowych z mikrośrodowiska regenerujących aksonów odblokuje ich dalszy wzrost, zaprojektowałam i samodzielnie przeprowadziłam kluczowe procedury mikrochirurgiczne *in vivo*. Wykonałam zabiegi ONC połączone z ukierunkowanymi iniekcjami do ciała szklanego oka, aplikując wektory AAV2 wyciszące wewnątrzkomórkowy gen *Pten* – uznawany za jedną z najskuteczniejszych interwencji genetycznych stymulujących regenerację aksonów – oraz podając w kolejnych etapach znacznik aksonalny CTB. Równolegle, w celu eksperymentalnej eliminacji oligodendrocytów, zastosowałam czynnik demielinizacyjny – kupryzon (*N',N''*-dicykloheksylidenoetanodihydrazyd), będący syntetycznym związkiem chemicznym i silnym chelatorem kationów miedzi, powszechnie wykorzystywanym w badaniach nad OUN jako induktor demielinizacji – podawany długoterminowo w diecie lub w formie pojedynczej, celowanej iniekcji.

W badaniach przeprowadzonych na pierwotnych hodowlach komórkowych RGC *in vitro* wykazaliśmy wstępnie, że kupryzon nie stymuluje wzrostu aksonów bezpośrednio poprzez oddziaływanie na wyizolowane neurony projekcyjne siatkówki. Ponadto moje analizy histologiczne *in vivo* potwierdziły, że miejscowe podanie kupryzonu nie wywołuje wewnątrzgałkowego stanu zapalnego (w przeciwieństwie do m.in. zymozanu) ani procesów włóknienia i bliznowacenia w obrębie siatkówki.

Najważniejszym odkryciem zaprezentowanym w tej pracy jest wykazanie, że wywołana farmakologicznie demielinizacja – niezależnie od sposobu jej indukcji poprzez dietę bądź miejscowe iniekcje do ciała szklanego oka – istotnie redukuje liczebność oligodendrocytów w obrębie blizny glejowej, synergistycznie nasilając stymulowaną wyciszeniem genu *Pten* długodystansową regenerację aksonów oraz przetrwanie komórek RGCs. Analiza wykonanych przeze mnie preparatów mikroskopowych wykazała, że dzięki eliminacji nowo powstających oligodendrocytów odrastające aksony nie wchodziły w przedwczesne interakcje z elementami

mielinizacyjnymi w miejscu uszkodzenia, co skutecznie uchroniło je przed zahamowaniem wzrostu.

Podsumowując, uzyskane przez nas wyniki podważają dotychczasowe dogmaty, wskazując, że za zahamowanie regeneracji aksonów w dojrzałym OUN odpowiadają nie tylko martwicze resztki mieliny, lecz także żywe, nowo powstające oligodendrocyty, które zasiedlają bliznę glistnicową i podejmują przedwczesne próby mielinizacji regenerujących aksonów. Odkrycie to – stanowiące odwrócenie fizjologicznego porządku rozwojowego – niesie ze sobą istotne implikacje translacyjne. Udowodniliśmy, że wywołana farmakologicznie demielinizacja skutecznie eliminuje tę aktywną barierę komórkową, synergistycznie potęgując stymulowaną wyciszeniem genu *Pten* długodystansową regenerację aksonów bez wywoływania stanu zapalnego. Oznacza to, że jedną z przyszłych strategii w procesie odtwarzania połączeń neuronalnych może być tymczasowe zawieszenie interakcji aksonów z komórkami NFO i opóźnienie mielinizacji do momentu osiągnięcia przez aksony struktur docelowych. Uzupełnieniem tych badań jest stworzenie i udostępnienie innowacyjnego narzędzia bioinformatycznego (Subtype Gene Browser), stanowiącego kompleksową bazę transkryptomyczną oligodendrocytów dla globalnej społeczności naukowej.

Publikacja 3: B. A. Rheume*, J. Xing*, **A. Łukomska***, W. C. Theune, A. Damania, G. Sjogren, E. F. Trakhtenberg (2023). *Pten* inhibition dedifferentiates long-distance axon-regenerating intrinsically photosensitive retinal ganglion cells and upregulates mitochondria-associated Dynl1a and Lars2. *Development*, 150(8), dev201644. DOI: 10.1242/dev.201644. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

Wśród badanych strategii terapeutycznych eksperymentalne wyciszenie (knockdown, KD) genu supresorowego *Pten* wyróżniło się jako jeden z najsilniejszych znanych stymulatorów wzrostu włókien nerwowych, działający m.in. poprzez odhamowanie szlaku mTOR. Podejście to napotyka jednak na dwie zasadnicze przeszkody. Po pierwsze *Pten* jest genem supresorowym i bezpośrednia modyfikacja ekspresji *Pten* niesie ze sobą ryzyko onkogenne, co budzi poważne obawy w kontekście potencjalnej translacji klinicznej i wymusza poszukiwanie bezpieczniejszych celów terapeutycznych, działających na dalszych etapach kaskad sygnałowych odpowiedzialnych za regenerację. Po drugie, pomimo skutecznego wyciszenia *Pten* we wszystkich komórkach RGCs, zaledwie ułamek procenta neuronów podejmuje pełną, długodystansową regenerację włókien. Pozostałe subpopulacje (np. α RGC) odpowiadają jedynie wzrostem krótkodystansowym bądź nie wykazują zdolności regeneracyjnych wcale.

W odpowiedzi na te wyzwania głównym celem niniejszej pracy było wyjaśnienie mechanizmów, dzięki którym wybrane subpopulacje RGCs są zdolne do długodystansowej regeneracji aksonów po urazie, oraz zbadanie relacji między stymulowaną wyciszeniem genu *Pten* regeneracją aksonów a rozwojowym

wygaszeniem wewnętrznego potencjału regeneracyjnego neuronów. Aby zrealizować te założenia, opracowaliśmy i zastosowaliśmy innowacyjną technikę chirurgicznego znakowania włókien głęboko w obrębie nerwu wzrokowego (wykonywane przeze mnie zabiegi mikrokirurgiczne polegające na podaniu znacznika CTB bezpośrednio do dystalnej części nerwu wzrokowego myszy). Metodę tę połączyliśmy z izolacją wyznakowanych w ten sposób, regenerujących się komórek RGCs za pomocą cytometrii przepływowej (FACS), co umożliwiło precyzyjne wyizolowanie wyłącznie tej specyficznej subpopulacji, która w odpowiedzi na wyciszenie genu *Pten* skutecznie zregenerowała aksony na odległość co najmniej 3 mm. Następnie poddaliśmy wyselekcjonowane komórki profilowaniu transkryptomicznemu pojedynczych komórek (scRNA-seq) i bezpośrednio porównaliśmy ich profil genetyczny z utworzonymi wcześniej profilami referencyjnymi dorosłych oraz wczesnoembrionalnych komórek RGCs.

Analiza bioinformatyczna typu pseudo-timeline nieoczekiwanie ujawniła, że komórki zdolne do najdalszej regeneracji wywodzą się z dwóch ściśle określonych subpopulacji dorosłych, światłoczułych komórek zwojowych siatkówki (podtyp M1 ipRGCs). Co kluczowe, zaobserwowaliśmy zjawisko ich częściowego, stymulowanego wyciszeniem genu *Pten* odróżnicowania – transkryptomy tych komórek uległy radykalnej przebudowie. Przeprogramowanie do stanu przypominającego etap embrionalny wiązało się z jednoczesnym obniżeniem ekspresji wybranych genów typowych dla komórek dorosłych oraz wzmożeniem ekspresji embrionalnych czynników wzrostowych.

Dalsze analizy bioinformatyczne wykazały, że gwałtowny wzrost liczby transkryptów jest silnie powiązany z mechanizmami mitochondrialnymi. Do pogłębionych analiz i walidacji biologicznej wytypowaliśmy gen *Dynlt1a* (którego ekspresja ulega rozwojowemu wygaszeniu po urodzeniu, a w regenerujących komórkach zostaje gwałtownie przywrócona) oraz wysoce specyficzny, niezależny od wieku gen mitochondrialny *Lars2* (kodujący enzym biorący udział w translacji mitochondrialnego DNA).

W celu zweryfikowania biologicznego znaczenia powyższych odkryć bioinformatycznych, zaprojektowałam i samodzielnie zrealizowałam kompleksowe badania *in vivo*. Na modelu mysim przeprowadziłam procedury mikrokirurgiczne ONC, które połączyłam z precyzyjnymi iniekcjami do ciała szklatego oka innowacyjnych wektorów wirusowych AAV2, umożliwiających ukierunkowaną nadekspresję genów mitochondrialnych (*Dynlt1a* oraz *Lars2*), a także odpowiednich wektorów kontrolnych. Całość uzupełniono o późniejszą iniekcję znacznika aksonalnego CTB. Ponadto odpowiadałam za całościowy, złożony proces preparatyki tkanek oraz przeprowadziłam akwizycję danych z użyciem mikroskopii fluorescencyjnej.

Najważniejszym odkryciem zaprezentowanym w tej pracy – opartym na zgromadzonych i opracowanych przeze mnie danych ilościowych oraz jakościowych – jest udowodnienie, że stymulacja pojedynczych czynników znajdujących się

w kaskadzie przekazu sygnału poniżej szlaku mTOR, takich jak *Dynlt1a* czy *Lars2*, skutecznie promuje masywną, długodystansową regenerację aksonów w warunkach *in vivo*. Moje analizy dowiodły, że eksperymentalna nadekspresja *Lars2* stymuluje odrost aksonów na dystansie sięgającym do 3 mm za miejscem uszkodzenia, podczas gdy nadekspresja *Dynlt1a* nie tylko indukuje porównywalny zasięg regeneracji (do 2 mm), lecz także istotnie statystycznie poprawia długoterminowe przetrwanie komórek RGCs po urazie mechanicznym w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Podsumowując, uzyskane wyniki rzucają nowe światło na fundamentalne mechanizmy neuroregeneracji, udowadniając, że zdolność aksonów do odrostu zależy również od unikalnych cech transkryptomicznych neuronów – rzadka subpopulacja światłoczułych komórek M1 ipRGCs zachowuje w dojrzałym OUN szczątkowy profil embrionalny, co po wyciszeniu genu *Pten* umożliwia jej częściowe odróżnicowanie i wzmożoną regenerację. Stanowi to istotną zmianę paradygmatu, wskazując, że stopień podobieństwa dojrzałego neuronu do stanu wczesnorozwojowego decyduje o jego podatności na terapię. Z perspektywy translacyjnej kluczowym osiągnięciem pracy było również zidentyfikowanie potencjalnych celów terapeutycznych, które omijają ryzyko onkogenne związane z bezpośrednią modyfikacją szlaku *Pten*. Przeprowadzone przeze mnie badania *in vivo* dowiodły, że ukierunkowana stymulacja wewnętrznego zaplecza energetycznego poprzez nadekspresję genów mitochondrialnych *Lars2* i *Dynlt1a* silnie promuje długodystansową regenerację aksonów oraz neuroprotekcję, co otwiera nową, obiecującą drogę dla rozwoju bezpiecznych strategii klinicznych w terapii patologii ośrodkowego układu nerwowego.

Publikacja 4: A. Łukomska, M. P. Frost, J. Brady, A. Kearney, A. J. Balaji, C. D'Souza, E. F. Trakhtenberg (2026). Experimental upregulation of Lancl1 promotes axon regeneration after optic nerve injury *in vivo*. *Experimental Neurology*, 402, 115789. DOI: 10.1016/j.expneurol.2026.115789.

W mechanizmie pourazowej degeneracji RGCs jednym z najwcześniejszych zjawisk patofizjologicznych jest silny stres oksydacyjny. W naszych wcześniejszych badaniach z użyciem modelu ONC wykazaliśmy, że modulacja odpowiedzi antyoksydacyjnej może wykazywać właściwości neuroprotektoryjne oraz stymulować regenerację aksonów. Jednakże z dostępnego piśmiennictwa wynika, że większość klasycznych czynników antyoksydacyjnych (takich jak np. *Nfe2l2*) zapewnia jedynie długoterminowe przetrwanie neuronów, nie indukując przy tym długodystansowej regeneracji aksonów. Wskazuje to, że jedynie wysoce specyficzne szlaki i czynniki neutralizujące stres oksydacyjny dysponują dodatkowym, pro-regeneracyjnym potencjałem.

Poszukując nowych celów terapeutycznych na podstawie wcześniejszego profilowania transkryptomicznego subpopulacji RGCs zdolnych do skutecznej regeneracji aksonów po wyciszeniu genu *Pten* (opisanej w Publikacji nr 3), zidentyfikowaliśmy białko LANCL1 (ang. *lanthionine synthetase C-like protein 1*),

którego ekspresja ulegała silnemu podwyższeniu w neuronach wykazujących duży potencjał regeneracyjny. LANCL1 jest uznanym czynnikiem zaangażowanym w komórkową odpowiedź antyoksydacyjną i metabolizm komórkowy, wykazującym działanie neuroprotektoryjne m.in. w modelach neurotoksyczności czy stwardnienia zanikowego bocznego (ALS). Do tej pory nie zweryfikowano jednak, czy indukowana nadekspresja tego białka w dojrzałych neuronach OUN może przełamać barierę wzrostu uszkodzonych aksonów. Głównym celem niniejszej pracy była zatem charakterystyka ekspresji genów z rodziny *Lancl* w prawidłowych i uszkodzonych komórkach RGCs oraz eksperymentalna weryfikacja hipotezy, czy ukierunkowana nadekspresja genu *Lancl1* z wykorzystaniem wektorów wirusowych promuje neuroprotekcję i regenerację aksonów *in vivo*.

W pierwszej kolejności przeprowadziliśmy systematyczną analizę ekspresji genów z rodziny *Lancl* (*Lancl1–3*) w komórkach RGCs. Dokonaliśmy integracji i eksploracji publicznie dostępnych baz danych scRNA-seq z różnych stadiów rozwojowych (E16, P0, u osobników dorosłych oraz po ONC). Odkryliśmy, że transkrypt *Lancl1* ulega fizjologicznie wzmożonej ekspresji w sposób specyficzny dla komórek RGCs, a po urazie ONC – chociaż wykazuje umiarkowane podwyższenie w subpopulacjach przeżywających – ulega niemal całkowitemu wygaszeniu w subpopulacjach najbardziej podatnych na śmierć komórkową (np. C13, C21, C23, C44). Co niezwykle istotne, potwierdziliśmy, że rzadka subpopulacja komórek RGCs, która z sukcesem regenerowała aksony na duże odległości w odpowiedzi na wyciszenie genu *Pten* (badana w Publikacji nr 3), charakteryzowała się ponad trzykrotnie wyższą ekspresją transkryptu *Lancl1*. Ponadto analiza dynamiki ekspresji w czasie wykazała, że endogenny poziom *Lancl1* w komórkach RGCs osiąga szczyt krótko po urazie, po czym po 7 dniach zaczyna gwałtownie spadać. To spostrzeżenie zasugerowało nam, że egzogenne utrzymanie wysokiego poziomu białka LANCL1 za pomocą zwiększenia ekspresji jego genu może mieć kluczowe znaczenie dla długoterminowej ochrony i naprawy neuronów.

Aby zweryfikować te przesłanki bioinformatyczne w modelu żywego organizmu, odegrałam wiodącą rolę w zaplanowaniu i przeprowadzeniu analiz z zakresu walidacji biologicznej. W tym celu wykonałam obustronne procedury mikrochirurgiczne ONC, które zostały poprzedzone iniekcjami wektorów wirusowych AAV2 do ciała szklistego oka (niosących transgen *Lancl1* ze znacznikiem Myc lub wektor kontrolny z *mCherry*). W celu precyzyjnego uwidocznienia rosnących aksonów zastosowałam znacznik CTB. Dodatkowo kierowałam procesem preparatyki tkanek oraz zaawansowaną akwizycją danych obrazowych za pomocą mikroskopii konfokalnej, analizując płaskie preparaty siatkówek oraz podłużne przekroje nerwów wzrokowych.

Zasadniczym odkryciem zaprezentowanym w pracy – opartym na wykonanych przeze mnie analizach – było wykazanie, że eksperymentalna nadekspresja transgenu *Lancl1* samodzielnie, w sposób statystycznie istotny, stymuluje długodystansowy odrost uszkodzonych aksonów w głąb nerwu wzrokowego. Co więcej, zastosowana

terapia zapewniła o blisko 30% wyższy odsetek przetrwania komórek RGCs w 14. dniu po urazie w porównaniu z uszkodzoną siatkówką kontrolną.

Chcąc zbadać potencjał translacyjny tych odkryć w ujęciu długoterminowym, zaprojektowałam również 6-tygodniowy eksperyment oceniający skuteczność terapii skojarzonej. Połączyłam w nim wewnątrzkomórkową stymulację genową (*Lanc11*) z jednoczesną modyfikacją mikrośrodowiska zewnątrzkomórkowego, polegającą na iniekcji do ciała szklanego oka innowacyjnego rekombinowanego fragmentu fibronektyny (RP-RGD), którego skuteczność udowodniłam w Publikacji nr 1. Przeprowadzona przeze mnie praca eksperymentalna i analiza statystyczna dowiodły istnienia synergistycznego działania obu metod: podczas gdy w grupie kontrolnej po 6 tygodniach dochodziło już do masowej degeneracji wstecznej ocalałych aksonów (obserwowanych w 14-dniowych eksperymentach przed miejscem zmiążdżenia nerwu), w grupie poddanej terapii skojarzonej zaobserwowałam istotne zwielokrotnienie odrostu długich włókien nerwowych oraz wielokrotną poprawę całkowitego przetrwania neuronów projekcyjnych siatkówki.

Dodatkowo zbadaliśmy mechanizm sygnalizacyjny leżący u podstaw opisywanych zjawisk. Poprzez analizę preparatów wybarwionych w kierunku obecności p-S6 (fosforylowanego białka rybosomalnego S6 – markera aktywacji klasycznego szlaku mTOR) udowodniliśmy, że neuroprotekcja i regeneracja aksonów stymulowane nadekspresją *Lanc11* nie wpływają znacząco na poziom p-S6. Wynik ten sugeruje, że wysoce skuteczny czynnik *Lanc11* działa niezależnie od – lub na dalszych etapach kaskady sygnałowej położonych poniżej – klasycznego, obciążonego ryzykiem onkogennym wierzchołka szlaku mTOR (pośredniczącego przez inaktywację genu *Pten*).

Podsumowując, uzyskane przez nas wyniki dowodzą, że znany czynnik neuroprotektoryjny i antyoksydacyjny *Lanc11* posiada unikalne właściwości pro-regeneracyjne w kontekście odrostu uszkodzonych aksonów neuronów projekcyjnych OUN, co znacząco poszerza wachlarz jego potencjalnych zastosowań neuroterapeutycznych w leczeniu urazów i chorób ośrodkowego układu nerwowego. Chociaż wiele cząsteczek wykazuje zdolność do ochrony neuronów bez jednoczesnej odbudowy uszkodzonych obwodów, nadekspresja *Lanc11* w uszkodzonych komórkach RGCs skutecznie łączy neuroprotekcję ze stymulacją długodystansowego odrostu aksonów *in vivo*. Co więcej, wykazaliśmy, że długoterminowa skuteczność tej terapii może być diametralnie potęgowana w układzie leczenia skojarzonego z innowacyjnym czynnikiem modyfikującym macierz zewnątrzkomórkową (RP-RGD). Ponieważ dotychczasowe analizy wykazały, że stymulowane przez *Lanc11* procesy naprawcze nie angażują bezpośrednio fosforylacji białka S6, mechanizm jego działania prawdopodobnie opiera się na alternatywnych gałęziach szlaku mTOR lub specyficznych kaskadach antyoksydacyjnych (takich jak obrona glutationowa). Otwiera to obiecujące perspektywy dla dalszych badań nad ukierunkowaną stymulacją zaplecza metabolicznego neuronów oraz łączeniem terapii genowych z podejściami

mikrośrodowiskowymi w celu osiągnięcia pełnego powrotu funkcjonalnego uszkodzonych szlaków OUN.

Publikacja 5: A. Łukomska*, M. P. Frost*, W. C. Theune, J. Xing, M. Gupta, E. F. Trakhtenberg (2024). *Nfe2l3 promotes neuroprotection and long-distance axon regeneration after injury in vivo. Experimental Neurology*, 375, 114741. DOI: 10.1016/j.expneurol.2024.114741. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

Czynnik *Nfe2l3* (znany również jako *Nrf3*) należy do rodziny białek Cnc, które obok *Nfe2l1* i *Nfe2l2* regulują szereg kluczowych procesów fizjologicznych oraz patofizjologicznych, w tym komórkową odpowiedź na stres oksydacyjny, metabolizm lipidów i różnicowanie komórek glejowych. Choć myszy z nokautem genetycznym (KO) *Nfe2l3* rozwijają się w sposób prawidłowy – co przypisuje się redundancji funkcjonalnej z pozostałymi członkami tej samej rodziny – wykazują one wyraźne fenotypy chorobowe lub zaburzenia w warunkach stresowych, takich jak uszkodzenia płuc czy ekspozycja na kancerogeny. W zdrowym OUN dorosłych ssaków *Nfe2l3* ulega ekspresji głównie w oligodendrocytach, natomiast jego transkrypcja w neuronach ulega wyciszeniu wraz z osiągnięciem dojrzałości. Ponieważ wewnętrzny potencjał wzrostowy neuronów OUN drastycznie spada w trakcie rozwoju osobniczego, postawiliśmy hipotezę, że wygaszanie ekspresji *Nfe2l3* może odgrywać istotną rolę w utracie zdolności regeneracyjnych, a sam czynnik ten może wykazywać silny potencjał pro-regeneracyjny w warunkach pourazowych.

W pierwszej kolejności przeprowadziliśmy systematyczną analizę ekspresji genów z rodziny *Nfe2l* (*Nfe2l1*, *Nfe2l2*, *Nfe2l3*) w neuronach projekcyjnych kory mózgowej oraz w komórkach siatkówki na różnych etapach rozwoju, integrując publicznie dostępne bazy danych scRNA-seq. Ustaliliśmy, że w przeciwieństwie do ulegającego stałej ekspresji *Nfe2l1* oraz niemal nieobecnego *Nfe2l2*, transkrypt *Nfe2l3* wykazuje unikalny profil ekspresji: ulega silnemu wzbogaceniu w komórkach RGCs we wczesnym okresie embrionalnym i neonatalnym, po czym drastycznie spada w trakcie dojrzewania i ulega niemal całkowitemu wyciszeniu po urazie ONC. To rozwojowe wygaszanie ekspresji sugerowało, że utrata tego czynnika może być jednym z czynników odpowiadających za zanik wewnętrznych zdolności regeneracyjnych dojrziałych neuronów OUN.

Aby zweryfikować tę hipotezę, przeprowadziłam zabiegi obustronnego ONC wraz z iniekcjami do ciała szklistego oka wektorów wirusowych AAV2, które warunkowały ukierunkowaną nadekscję (bądź nadekspresję) transgenu *Nfe2l3* (ze znacznikiem Myc). Dodatkowo, w celu porównania fenotypów, zaprojektowałam grupę kontrolną obejmującą wektory AAV2 zawierające shRNA przeciwko *Pten* oraz shRNA *Klf9* (stanowiące pozytywną kontrolę regeneracyjną w modelu ONC), a także wektory kontrolne z *mCherry*. W dalszych etapach podawałam wewnątrzgałkowo znacznik aksonalny CTB. Ponadto kierowałam procesem preparatyki tkanek oraz

zaawansowaną akwizycją danych za pomocą mikroskopii konfokalnej na preparatach siatkówek i podłużnych przekrojach nerwów wzrokowych.

Najważniejszym odkryciem zaprezentowanym w tej części pracy było udowodnienie, że eksperymentalna nadekspresja *Nfe2l3* w uszkodzonych komórkach RGCs stymuluje masywną, długodystansową regenerację aksonów w głębi nerwu wzrokowego (sięgającą ok. 3 mm za miejscem urazu) oraz istotnie poprawia przetrwanie neuronów o blisko 20% w 2. tygodniu po urazie. Co niezwykle istotne, efekty te były w pełni porównywalne ze skutkami osiąganymi poprzez zastosowanie uznanych, klasycznych regulatorów wzrostu – wyciszenie genów *Pten* lub *Klf9*. Dodatkowo przeprowadzona przeze mnie analiza mechanizmów leżących u podstaw obserwowanego pro-regeneracyjnego fenotypu – oparta na ocenie poziomu fosforylacji białka rybosomalnego S6 (p-S6, będącego klasycznym markerem aktywacji szlaku mTOR) – wykazała brak istotnych różnic w poziomie p-S6 pomiędzy komórkami z nadekspresją *Nfe2l3* a grupą kontrolną. Sugeruje to, że pro-regeneracyjne i neuroprotektoryjne działanie czynnika *Nfe2l3* realizuje się poprzez odmienne kaskady sygnałowe lub za pośrednictwem alternatywnych gałęzi zlokalizowanych na dalszych etapach (poniżej) szlaku mTOR, co otwiera perspektywy dla dalszych badań nad mechanizmami naprawczymi OUN.

Podsumowując, uzyskane przez nas wyniki rzucają nowe światło na funkcję czynnika *Nfe2l3*, wykazując, że ten ewolucyjnie konserwatywny regulator odpowiedzi antyoksydacyjnej posiada silne właściwości neuroprotektoryjne i pro-regeneracyjne, a jego ekspresja ulega naturalnemu wygaszeniu w procesie dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego. Eksperymentalna, indukowana za pomocą wektorów wirusowych AAV2 nadekspresja *Nfe2l3* w uszkodzonych komórkach RGCs stymuluje długodystansowy odrost aksonów oraz przetrwanie neuronów na poziomie w pełni porównywalnym z działaniem uznanych, dobrze opisanych w literaturze regulatorów regeneracji, takich jak *Pten* czy *Klf9*. Co więcej, przeprowadzone przez nas analizy bioinformatyczne i badanie mechanizmu obserwowanego zjawiska regeneracji, wskazują na powiązanie *Nfe2l3* z kluczowymi sieciami genów zaangażowanymi w translację oraz kontrolę procesów wzrostowych, co sugeruje możliwość jego współdziałania z alternatywnymi kaskadami sygnałowymi (takimi jak szlak mTOR czy szlak negatywnej regulacji ze strony *Gsk3b*). Odkrycia te pozycjonują *Nfe2l3* jako niezwykle obiecujący cel w rozwoju nowoczesnych, ukierunkowanych terapii genowych, mających na celu ochronę i odbudowę uszkodzonych szlaków ośrodkowego układu nerwowego.

Publikacja 6: A. Kearney*, **A. Łukomska***, J. Brady, A. Damania, M. Gupta, E. F. Trakhtenberg (2026). Vacuolar ATPase subunit Atp6v0c transgene promotes neuroprotection and long-distance axon regeneration in injured retinal ganglion neurons. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 37(2), 102922. DOI: 10.1016/j.omtn.2026.102922. * Oznacza równorzędny wkład w powstanie publikacji.

Jak dowodzą badania, jednym z najwcześniejszych zdarzeń patologicznych w komórkach RGCs po urazie jest stres oksydacyjny oraz stres siateczki śródplazmatycznej (ER). Chociaż czynniki antyoksydacyjne wykazują działanie neuroprotektoryjne, zazwyczaj nie stymulują one istotnej regeneracji aksonów *in vivo*. Stres ER aktywuje odpowiedź na niesfałdowane białka (ang. *unfolded protein response*, UPR), uruchamiając jednocześnie lizosomalną degradację nieprawidłowych struktur białkowych. Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że upośledzenie transportu lizosomów do aksonów prowadzi do neurodegeneracji, podczas gdy wspomaganie procesów lizosomalnych wspiera pourazową samonaprawę neuronów.

Na podstawie tych przesłanek postawiliśmy hipotezę, że wsparcie metabolizmu lizosomów w uszkodzonych neuronach, poprzez dostarczenie ich kluczowych czynników strukturalnych za pomocą eksperymentalnej terapii genowej, może stymulować długodystansową regenerację aksonów *in vivo*. Do celowanej modyfikacji eksperymentalnej wybraliśmy podjednostkę *Atp6v0c*, ponieważ odgrywa ona fundamentalną rolę w zakwaszaniu lizosomów i degradacji białek w odpowiedzi na stres ER. Ponadto wykazaliśmy powiązanie jej ekspresji z zaburzeniami sieci genów lizosomalnych w uszkodzonych komórkach RGC. *Atp6v0c* jest kluczową podjednostką kompleksu wakuolarniej ATP-azy (V-ATPase) – napędzanej ATP pompy protonowej, która odpowiada za zakwaszanie organelli wewnątrzkomórkowych oraz pośredniczy w autofagii. Podjednostka ta tworzy strukturalny rdzeń (ang. *c-ring*) niezbędny do funkcjonowania pompy. Mimo że zaburzenia i mutacje w obrębie genu *Atp6v0c* są ściśle powiązane z chorobami neurodegeneracyjnymi (takimi jak choroba Parkinsona czy Alzheimer) oraz zaburzeniami autofagii, do tej pory pozostawało niejasne, czy eksperymentalna nadekspresja *Atp6v0c* w uszkodzonych neuronach OUN może aktywnie stymulować regenerację przerwanych aksonów.

W pierwszej kolejności wykorzystaliśmy bazy danych scRNA-seq do analizy, czy ekspresja genów kodujących domeny transbłonowe pompy V-ATPase (kompleks V0) ulega zmianie w komórkach RGCs po urazie ONC. Odkryliśmy, że ekspresja genu *Atp6v0c* ulega pourazowemu, statystycznie istotnemu obniżeniu, co potwierdziliśmy również na poziomie białka za pomocą barwienia immunohistochemicznego. Biorąc pod uwagę fakt, że podjednostka *Atp6v0c* tworzy kluczowy rdzeń (ang. *c-ring*) pompy protonowej (stanowiąc 9 z 10 podjednostek c), jej pourazowy deficyt może drastycznie upośledzać zdolność neuronów do obrony przed stresem oraz degradacji nieprawidłowych białek.

Aby zweryfikować, czy trwałe przywrócenie i podwyższenie ekspresji *Atp6v0c* w uszkodzonych neuronach zdoła przełamać barierę wzrostu, przeprowadziłam

obustronną procedurę ONC wraz z iniekcjami do ciała szklistego oka wektorów wirusowych AAV2 warunkujących nadekspresję podjednostki c wakuolarniej ATP-azy (*Atp6v0c* ze znacznikiem Myc), wektorów kontrolnych, a także wektorów wyciszających geny *Pten* lub *Klf9* (stanowiących kontrolę pozytywną). W dalszych etapach eksperymentu zastosowałam wewnątrzgałkową podaż znacznika aksonalnego CTB w celu uwidocznienia regenerujących aksonów. Dodatkowo kierowałam procesem preparatyki tkanek oraz zaawansowaną akwizycją danych obrazowych za pomocą mikroskopii konfokalnej.

Najważniejszym odkryciem zaprezentowanym w niniejszej pracy było eksperymentalne udowodnienie, że nadekspresja transgenu *Atp6v0c* w uszkodzonych komórkach RGCs skutecznie poprawia ich przeżywalność (o ok. 25%) oraz stymuluje istotną, długodystansową regenerację aksonów w głąb nerwu wzrokowego po urazie. Co niezwykle istotne, efekty te były w pełni porównywalne ze skutkami osiąganymi poprzez zastosowanie znanych, dobrze opisanych regulatorów regeneracji w tym modelu eksperymentalnym (shRNA *Pten* oraz shRNA *Klf9*).

Podsumowując, uzyskane przez nas wyniki rzucają nowe światło na powiązanie dysfunkcji lizosomalnych z brakiem regeneracji w OUN, identyfikując podjednostkę wakuolarniej ATP-azy – kodowaną przez gen *Atp6v0c* – jako silny czynnik pro-regeneracyjny i neuroprotektoryjny. Usprawnienie funkcji lizosomalnych poprzez celowaną terapię genową skutecznie stymuluje długodystansową regenerację aksonów w warunkach *in vivo* na poziomie dorównującym najlepszym znanym dotychczas interwencjom, opartym na modulacji poziomu ekspresji genów w dojrzałych komórkach RGCs. Mechanizm ten prawdopodobnie wiąże się ze wsparciem funkcji lizosomalnych oraz łagodzeniem pourazowego stresu siateczki śródplazmatycznej, co ułatwia neuronom kompensację obciążeń metabolicznych w niesprzyjającym mikrośrodowisku patologicznym. Chociaż konieczne będą dalsze badania długoterminowe – mające na celu ocenę powrotu funkcji wzrokowych, potencjalną synergię z innymi podejściami terapeutycznymi oraz bezpieczeństwo kliniczne eksperymentalnej terapii genowej – *Atp6v0c* stanowi wysoce obiecujący i gotowy do dalszego rozwoju translacyjnego cel w nowoczesnych strategiach neuroterapeutycznych.

2.3.4 Podsumowanie, wnioski oraz potencjalne wykorzystanie wyników prac

Głównym celem zrealizowanego przeze mnie cyklu publikacji habilitacyjnych było opracowanie nowych strategii eksperymentalnych na etapie badań przedklinicznych, prowadzących do długodystansowej regeneracji mechanicznie uszkodzonych neuronów OUN, ze szczególnym uwzględnieniem neuronów projekcyjnych, jakimi są komórki zwojowe siatkówki. Naturalny brak zdolności regeneracyjnych dojrzałych aksonów OUN u ssaków stanowił kluczowe wyzwanie, które skutecznie przełamaliśmy, uzyskując w modelach doświadczalnych jednoznaczny fenotyp pro-regeneracyjny. Wyniki te nie tylko dowodzą skuteczności zastosowanych interwencji,

ale również wnoszą istotny wkład w zrozumienie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw degeneracji i regeneracji OUN.

Przeprowadzone w ramach cyklu badania wykazały, że kluczem do skutecznej regeneracji jest holistyczne podejście, zakładające jednocześnie pokonanie wewnętrznych barier ograniczających potencjalną regenerację neuronów oraz modyfikację niekorzystnego mikrośrodowiska zewnątrzkomórkowego. Bariere wewnątrzkomórkową przełamano za pomocą ukierunkowanych terapii genowych (wektory wirusowe AAV2), wprowadzających nadekspresję kluczowych czynników: mitochondrialnych (*Dynlt1a* i *Lars2*⁹), antyoksydacyjnych (*Lanc1*¹² i *Nfe2l3*⁷), a także związanych z aparatem lizosomalnym (*Atp6v0c*¹⁴). Z kolei zewnątrzkomórkowe ograniczenia mikrośrodowiska pokonano poprzez modulację czynników macierzy (m.in. zastosowanie rekombinowanego fragmentu fibronektyny RP-RGD¹, stymulującego efektywne oczyszczanie miejsca uszkodzenia przez komórki immunologiczne) oraz wykazanie negatywnej roli pourazowo powstających oligodendrocytów NFO i procesów wczesnej mielinizacji jako istotną barierę dla regenerujących się po przerwaniu ich ciągłości aksonów²⁰.

Najważniejsze rezultaty terapeutyczne i neuroprotektoryjne osiągnięto dzięki zastosowaniu innowacyjnych terapii skojarzonych. Połączenie wewnątrzkomórkowej stymulacji genowej (*Lanc1* lub *Rpl7a*) z modyfikacją zewnątrzkomórkowego mikrośrodowiska za pomocą czynnika RP-RGD doprowadziło do wystąpienia efektu synergistycznego, skutkującego masywnym, długodystansowym odrostem uszkodzonych aksonów.

Wszystkie sześć zaprezentowanych prac odnosi się do prestiżowych czasopism z pierwszego decyla (Q1) w dyscyplinie nauk medycznych, co stanowi obiektywny dowód wysokiej jakości i międzynarodowego uznania uzyskanych wyników. W powstaniu każdej z tych publikacji odegrałam kluczową, wiodącą lub współwiodącą rolę, figurując jako pierwsza autorka albo dzieląc tę pozycję równorzędnie z innymi najbardziej zaangażowanymi członkami zespołu badawczego. Badania te zostały w całości zrealizowane podczas mojego stażu podyplomowego (post-doc) w latach 2019–2024 w Laboratorium Neuroregeneracji pod kierunkiem dr. Ephraima F. Trakhtenberga w Department of Neuroscience, School of Medicine, University of Connecticut.

Pobyt ten zaowocował również nawiązaniem i bliską koordynacją zaawansowanych, międzynarodowych współpracy badawczych z renomowanymi ośrodkami akademickimi: Yale University oraz The Jackson Laboratory (w tym z wiodącą niezależną organizacją badawczą The Jackson Laboratory for Genomic Medicine w stanie Connecticut). Moje bezpośrednie zaangażowanie w te relacje obejmowało współtworzenie oraz wdrażanie optymalnych paradygmatów badawczych, a także osobisty udział w pracach eksperymentalnych – w tym fizyczne wizyty w laboratoriach Jackson Laboratory, gdzie we współpracy z tamtejszym zespołem naukowym koordynowałam i realizowałam zaawansowane analizy transkryptomiczne materiału biologicznego.

Najważniejszym celem aplikacyjnym uzyskanych wyników jest kontynuacja pełnego cyklu badań przedklinicznych zaproponowanych terapii eksperymentalnych, a w dalszej kolejności – po rygorystycznej weryfikacji profilu bezpieczeństwa – ich wdrożenie do fazy badań klinicznych. Opracowane strategie terapeutyczne otwierają perspektywę zastosowania w leczeniu uszkodzeń aksonów neuronów projekcyjnych siatkówki, ze szczególnym uwzględnieniem mechanicznych urazów nerwu wzrokowego, neuropatii niedokrwiennych, a także wybranych schorzeń neurodegeneracyjnych. Ponadto wykazany w każdej z zaprezentowanych publikacji silny efekt neuroprotektoryjny – wyrażający się w istotnym ograniczeniu obumierania komórek zwojowych siatkówki – stwarza realne szanse na adaptację tych rozwiązań we wsparciu terapii jaskry.

Komercjalizacja i ochrona własności intelektualnej wynikającej z tych odkryć stanowią istotny element mojej działalności naukowej. Obok kierownika laboratorium, dr. Ephraima F. Trakhtenberga, byłam główną osobą odpowiedzialną za merytoryczne i eksperymentalne przygotowanie dwóch zgłoszeń patentowych w amerykańskim urzędzie patentowym (USPTO):

- NOVEL NUCLEIC ACIDS FOR NEUROPROTECTION AND AXON REGENERATION (patenty tymczasowe złożone w USPTO: nr 63/493,890 w dniu 3 kwietnia 2023 r.),
- NOVEL AMINO ACID SEQUENCE OF FIBRONECTIN-PEPTIDES AND METHODS OF MAKING AND USING THE SAME (nr 63/499,359 w dniu 1 maja 2023 r.).

Powyższe zgłoszenia tymczasowe zostały następnie połączone i rozwinięte w jedno kompleksowe zgłoszenie właściwe, które objęło ochroną patentową całość opracowanych przez nasz zespół innowacyjnych terapii. Zgłoszenie to zostało opublikowane przez USPTO: Novel compositions for neuroprotection and axon regeneration (US Patent Application Publication, opublikowane 7 listopada 2024 r., nr US 2024/0368252 A1).

2.3.5 Piśmiennictwo cytowane w opisie osiągnięcia naukowego

1. Lukomska, A. *et al.* Augmenting fibronectin levels in injured adult CNS promotes axon regeneration in vivo. *Exp. Neurol.* **379**, 114877 (2024).
2. Lukomska, A. *et al.* Experimental upregulation of Lnc1 promotes axon regeneration after optic nerve injury in vivo. *Exp. Neurol.* **402**, 115789 (2026).
3. Allison, K., Patel, D. & Alabi, O. Epidemiology of Glaucoma: The Past, Present, and Predictions for the Future. *Cureus* <https://doi.org/10.7759/cureus.11686> (2020) doi:10.7759/cureus.11686.

4. Ahmad, S. S., Blair, K. & Kanukollu, V. M. Optic Atrophy. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2024).
5. Park, K. K. *et al.* Promoting Axon Regeneration in the Adult CNS by Modulation of the PTEN/mTOR Pathway. *Science* **322**, 963–966 (2008).
6. Sun, F. *et al.* Sustained axon regeneration induced by co-deletion of PTEN and SOCS3. *Nature* **480**, 372–375 (2011).
7. Lukomska, A. *et al.* Nfe2l3 promotes neuroprotection and long-distance axon regeneration after injury in vivo. *Exp. Neurol.* **375**, 114741 (2024).
8. Lukomska, A. *et al.* Upregulation of developmentally-downregulated miR-1247-5p promotes neuroprotection and axon regeneration in vivo. *Neurosci. Lett.* **823**, 137662 (2024).
9. Rheume, B. A. *et al.* Pten inhibition dedifferentiates long-distance axon-regenerating intrinsically photosensitive retinal ganglion cells and upregulates mitochondria-associated Dynlt1a and Lars2. *Development* **150**, dev201644 (2023).
10. Lukomska, A. *et al.* Experimental gene expression of developmentally downregulated Crmp1, Crmp4, and Crmp5 promotes axon regeneration and retinal ganglion cell survival after optic nerve injury. *Brain Res.* **1809**, 148368 (2023).
11. Xing, J. *et al.* Experimental upregulation of developmentally downregulated ribosomal protein large subunits 7 and 7A promotes axon regeneration after injury in vivo. *Exp. Neurol.* **368**, 114510 (2023).
12. Lukomska, A. *et al.* Developmentally upregulated transcriptional elongation factor a like 3 suppresses axon regeneration after optic nerve injury. *Neurosci. Lett.* **765**, 136260 (2021).
13. D'souza, C., Lukomska, A., Balaji, A. J., Brady, J. & Trakhtenberg, E. F. Targeting neurodevelopmental miR132-3p promotes neuroprotection and axon regeneration after optic nerve injury in mice. *Brain Res.* **1889**, 150450 (2026).
14. Kearney, A. *et al.* Vacuolar ATPase subunit Atp6v0c transgene promotes neuroprotection and long-distance axon regeneration in injured retinal ganglion neurons. *Mol. Ther. Nucleic Acids* **37**, 102922 (2026).
15. Fitch, M. T., Doller, C., Combs, C. K., Landreth, G. E. & Silver, J. Cellular and Molecular Mechanisms of Glial Scarring and Progressive Cavitation: *In Vivo* and *In Vitro* Analysis of Inflammation-Induced Secondary Injury after CNS Trauma. *J. Neurosci.* **19**, 8182–8198 (1999).
16. Yin, Y. *et al.* Macrophage-Derived Factors Stimulate Optic Nerve Regeneration. *J. Neurosci.* **23**, 2284–2293 (2003).
17. Zhang, S. *et al.* Exploration of the strategies to enhance the regeneration of the optic nerve. *Exp. Eye Res.* **219**, 109068 (2022).
18. Silver, J., Schwab, M. E. & Popovich, P. G. Central Nervous System Regenerative Failure: Role of Oligodendrocytes, Astrocytes, and Microglia. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **7**, a020602 (2015).

19. Yiu, G. & He, Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 617–627 (2006).
20. Xing, J. et al. Post-injury born oligodendrocytes incorporate into the glial scar and contribute to the inhibition of axon regeneration. *Development* **150**, dev201311 (2023).

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

3.1 Wykaz prac niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego (Autor/Autorzy, Tytuł/Tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

W poniższej tabeli prezentuję zestawienie danych bibliometrycznych charakteryzujących mój pozostały dorobek publikacyjny, z wyłączeniem prac wchodzących w skład głównego osiągnięcia naukowego (cyklu habilitacyjnego):

	Przed doktoratem		Po doktoracie	
	IF	MEiN	IF	MEiN
Oryginalne prace naukowe	25,535	292	98,361	2590
Opisy przypadków	-	-	-	-
Prace poglądowe	2,361	63	7,270	180
RAZEM	27,896	355	105,631	2770

W poniższej tabeli przedstawiam całkowitą liczbę cytowań mojego dorobku naukowego oraz wartość indeksu Hirscha:

Źródło danych (baza)	Liczba cytowań		Indeks Hirsha
	Z autocytowaniami	Bez autocytowań	
Web of Science	682	607	15
Scopus	791	716	16

3.2 Informacja o bieżącej aktywności naukowej w Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego (Warszawa, Polska).

3.2.1 Transfer kompetencji i implementacja modelu eksperymentalnego ONC: rozwój samodzielnego programu badawczego po powrocie do kraju

W 2024 roku powróciłam do kraju, obejmując stanowisko asystenta naukowego w Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej na Wydziale Lekarskim Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Kluczowym elementem mojej bieżącej działalności naukowej jest skuteczne wdrożenie i adaptacja unikalnych kompetencji oraz zaawansowanych modeli badawczych, zdobytych i opracowanych przeze mnie podczas stażu podoktorskiego w Stanach Zjednoczonych.

Dzięki ścisłej współpracy z kierownikiem jednostki, prof. dr hab. n. med. Magdaleną Kucią, a także współpracy naukowej z prof. dr hab. n. med. Agnieszką Cudnoch-Jędrzejewską (z Katedry i Zakładu Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej WUM) oraz prof. dr hab. n. med. Dagmarą Mirowską-Guzel (z Katedry i Zakładu Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej WUM), z powodzeniem skompletowałam zaplecze techniczno-badawcze umożliwiające kompleksową analizę histologiczną i konfokalną pozyskanych tkanek, jak również zorganizowałam nowoczesną pracownię mikrochirurgiczną, przeznaczoną do specjalistycznych zabiegów na ośrodkowym układzie nerwowym myszy (w tym w modelu zmiążdżenia nerwu wzrokowego oraz precyzyjnych iniekcji wewnątrzgałkowych).

Efektem kontynuacji tej linii badawczej na gruncie krajowym jest rozwój nowatorskiej tematyki dotyczącej roli purynergicznych receptorów P2X4 w procesach neuroprotekcji i regeneracji aksonów. Osiągnięte rezultaty badawcze stały się fundamentem dla istotnych dokonań wdrożeniowych i naukowych:

- **Ochrona własności intelektualnej:**

Opracowanie koncepcji i złożenie zgłoszenia patentowego do Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej: *Zastosowanie czynnika modulującego aktywność receptora P2X4 do stymulacji regeneracji aksonalnej oraz neuroprotekcji komórek nerwowych ośrodkowego układu nerwowego*. (zgłoszenie z dnia 28.06.2026 r., nr P.456293).

- **Pozyskanie finansowania na komercjalizację badań:**

Pozyskanie zewnętrznych środków w ramach projektu „Science4Business – Nauka dla Biznesu”, Zadanie 1 „Inkubator Rozwoju”, w którym pełnię funkcję Kierownika Projektu (kwota dofinansowania: 293 636,00 PLN). Tytuł projektu: „*Przedwdrożeniowa weryfikacja i walidacja farmakologiczna skuteczności inhibitorów P2X4 w stymulacji regeneracji komórek zwojowych siatkówki – RETINA-X4*” (2026, projekt w trakcie realizacji).

- **Aktywność konferencyjna i międzynarodowa wymiana myśli:**

Zaprezentowanie najnowszych danych doświadczalnych w formie wystąpienia ustnego na międzynarodowej konferencji *The 3rd European Purine Meeting* (Bordeaux, Francja, 1–3 lipca 2026 r.), w referacie zatytułowanym: „*The purinergic P2X4 receptor as a regulator of retinal ganglion cell survival and axon regeneration after injury*”.

Prace nad przygotowaniem oryginalnego manuskryptu znajdują się na zaawansowanym etapie, a publikacja pierwszych wyników planowana jest na bieżący rok. Ponadto mój wniosek o finansowanie powołania nowej grupy badawczej w tym obszarze tematycznym znajduje się obecnie w trakcie oceny w ramach konkursu SONATA BIS, organizowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Powyższe działania stanowią namacalny dowód skutecznego transferu wiedzy i unikalnego *know-how* z wiodącego ośrodka zagranicznego do polskiej struktury akademickiej. Konsekwentnie realizowana przeze mnie strategia wpisuje się w ideę medycyny translacyjnej – dążenia do tego, aby innowacyjne odkrycia z zakresu neurobiologii podstawowej mogły w przyszłości realnie przełożyć się na nowe formy terapii klinicznych w chorobach i urazach OUN.

3.2.2 Badania nad rolą komórek Nectin-3⁺ w potencjale regeneracyjnym siatkówki oka.

Już w pierwszym roku po powrocie do Polski (2024 r.) uzyskałam finansowanie na realizację autorskiego działania naukowego w ramach konkursu MINIATURA Narodowego Centrum Nauki. Projekt zatytułowany „*Poszukiwanie nowej populacji komórek o charakterystyce podobnej do komórek macierzystych w siatkówce myszy*” (nr rej. 2024/08/X/NZ3/00624, kwota dofinansowania: 49 720,00 PLN) pozwolił mi na przeprowadzenie nowatorskich badań nad specyficzną populacją komórek siatkówki na różnych etapach rozwoju ontogenetycznego myszy: embrionalnym (E18), neonatalnym (P5) oraz u osobników dorosłych.

Moim autorskim założeniem badawczym była identyfikacja i charakterystyka subpopulacji komórek wykazujących jednoczesną – w różnych kombinacjach – ekspresję antygenów powierzchniowych: Nectin-3, c-kit (CD117) oraz Sca-1. Wykazałam, że komórki potrójnie dodatnie (charakteryzujące się koekspresją wszystkich trzech markerów) wyróżniają się istotnie podwyższoną ekspresją genów wczesnorozwojowych (m.in. *Pax6*, *Rax*, *Chx10*, *Nestin*) w porównaniu z komórkami nieznakowanymi, pochodzącymi z analogicznych punktów czasowych. Co niezwykle istotne w kontekście medycyny regeneracyjnej narządu wzroku, tendencja ta utrzymywała się również u osobników dorosłych. Dalsze, szczegółowe analizy fenotypowe dowiodły, że zidentyfikowane komórki Nectin-3⁺ należą do populacji komórek RGCs, a jednoczesne wykluczenie ich przynależności do gleju Müllera potwierdziło odrębność odkrytego mechanizmu od wcześniej znanych strategii regeneracyjnych siatkówki, opartych na odróżnicowaniu komórek glejowych.

Mimo relatywnie skromnego budżetu grantowego, sprawna realizacja tego zadania badawczego przyniosła wysoce wymierne i aplikacyjne rezultaty, do których należą:

Działalność publikacyjna: Opublikowanie oryginalnej pracy badawczej, w której pełnię rolę pierwszej oraz współkorespondencyjnej autorki:

Lukomska A., Kieszek P, Buczek N, Ratajczak MZ, Kucia M. *Spatiotemporal characterization of a distinct Nectin-3⁺ cell population in the developing and adult mouse retina*. Sci Rep. 2026 Jun 8;16(1):26088. doi: 10.1038/s41598-026-56219-9. (Q1, IF: 4,9; punkty MEiN: 140).

Ochrona własności intelektualnej: Opracowanie i złożenie zgłoszenia patentowego do Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej:

„Sposób identyfikacji komórek progenitorowych, komórki progenitorowe oraz ich zastosowania” (zgłoszenie z dnia 17.09.2025 r., nr **P.453258**).

Pozyskanie finansowania na komercjalizację wyników:

Moje odkrycia z badań podstawowych stały się bezpośrednią bazą do zdobycia kolejnego grantu przedwdrożeniowego w ramach programu „Science4Business – Nauka dla Biznesu” (Zadanie 1 „Inkubator Rozwoju”). W projekcie zatytułowanym: „Opracowanie i walidacja prototypowego zestawu immunomagnetycznego opartego na antygenie Nectin-3 do szybkiej izolacji komórek siatkówki o potencjale regeneracyjnym – NECTIN-MAG” (rok przyznania: 2026, kwota dofinansowania: 293 130,00 PLN) pełnię funkcję Głównego Wykonawcy (kierownikiem projektu jest prof. dr hab. n. med. Magdalena Kucia).

3.2.3 Opracowanie koncepcji udziału komplosomu w regeneracji aksonów.

Poszerzając moje zainteresowania badawcze o zagadnienia z pogranicza neurobiologii i immunologii, opracowałam autorską koncepcję teoretyczną dotyczącą roli tzw. komplosomu (ang. *complosome*) – wewnątrzkomórkowego szlaku sygnalizacyjnego zależnego od molekuł dopełniacza C3a i C5a – w procesach naprawczych układu nerwowego. Teoria ta systematyzuje dotychczasową wiedzę i wskazuje na podwójną, często przeciwstawną rolę białek układu dopełniacza w patogenezie urazów oraz stymulacji regeneracji aksonów.

Opracowana przeze mnie koncepcja została opublikowana w formie obszernej pracy przeglądowej w prestiżowym czasopiśmie immunologicznym, w której pełnię rolę pierwszej oraz współkorespondencyjnej autorki:

- **Lukomska A**, Ciesielski P, Ratajczak MZ, Kucia M. *Dual role of complement in neuronal repair*. Front Immunol. 2025 Dec 3;16:1712452. doi: 10.3389/fimmu.2025.1712452. (Q1, IF: 7,0; punkty MEiN: 140).

3.2.4 Udział w badaniach nad hematopoetycznymi komórkami macierzystymi w Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej WUM

Moje wykształcenie w dziedzinie biotechnologii i biochemii medycznej pozwoliło mi wypracować szerokie zaplecze metodologiczne. Choć moją wiodącą specjalizacją pozostaje neurobiologia i regeneracja OUN, bogate doświadczenie w pracy z różnorodnymi typami komórek ssaczych oraz w prowadzeniu złożonych modeli badawczych *in vivo* na myszach umożliwiło mi interdyscyplinarne włączenie się w zaawansowane projekty kierowane przez prof. dr hab. n. med. Magdalenę Kucię oraz prof. dr. hab. n. med. Mariusza Ratajczaka. Moje merytoryczne i eksperymentalne zaangażowanie w badania nad biologią hematopoetycznych komórek macierzystych i progenitorowych (HSPC) – ze szczególnym uwzględnieniem szlaków sygnalizacyjnych zależnych od purynergicznego receptora P2Y₁₄, mechanizmów aktywacji inflamasomu NLRP3 oraz wpływu wewnątrzkomórkowego układu dopełniacza (komplosomu) na bioenergetykę mitochondriów i metabolizm komórkowy – zaowocowało współautorstwem w serii znaczących prac o zasięgu międzynarodowym:

- Adamiak M, Thetchinamoorthy K, Wierzbicka D, Kazek M, Waraksa-Zasada E, **Łukomska A**, Brzezniakiewicz-Janus K, Ratajczak J, Kucia M, Ratajczak MZ. *UDP-Glucose-P2Y₁₄ Receptor Signaling Enhances the Responsiveness of Hematopoietic Stem/Progenitor Cells to Chemoattractants by Facilitating Membrane Lipid Raft Formation and Nlrp3 Inflammasome Activation*. Stem Cell Rev Rep. 2026 May;22(4):1918-1932. doi: 10.1007/s12015-026-11104-w.
- Konopko A, Kazek M, Waraksa-Zasada E, **Łukomska A**, Ratajczak J, Kucia M, Ratajczak MZ. *The NLRP3 Inflammasome Transmits Sterile Inflammation Signals to Sustain Proper Mitochondrial Electron Transport Chain Function and Influences Cellular Metabolism*. Stem Cell Rev Rep. 2025 Oct;21(7):2157-2169. doi: 10.1007/s12015-025-10948-y.
- Konopko A, **Łukomska A**, Ratajczak J, Kucia M, Ratajczak MZ. *Complosome Regulates Hematopoiesis at the Mitochondria Level*. Stem Cell Rev Rep. 2025 May;21(4):1001-1012. doi:10.1007/s12015-025-10856-1.
- Konopko A, **Łukomska A**, Kucia M, Ratajczak MZ. *The Different Responsiveness of C3- and C5-deficient Murine BM Cells to Oxidative Stress Explains Why C3 Deficiency, in Contrast to C5 Deficiency, Correlates with Better Pharmacological Mobilization and Engraftment of Hematopoietic Cells*. Stem Cell Rev Rep. 2025 Jan;21(1):59-67. doi: 10.1007/s12015-024-10792-6.

3.3 Działalność badawcza realizowana w University of Connecticut, School of Medicine – dorobek niewchodzący w skład osiągnięcia naukowego (Farmington, CT, USA)

W trakcie stażu podoktorskiego w Department of Neuroscience (School of Medicine, University of Connecticut), równolegle do głównego cyklu habilitacyjnego, aktywnie inicjowałam i współrealizowałam szereg komplementarnych projektów w Laboratorium Neuroregeneracji dr. Ephraima F. Trakhtenberga. Badania te koncentrowały się na weryfikacji eksperymentalnych strategii terapeutycznych ukierunkowanych na neuroprotekcję i stymulację odrostu aksonów w mysim modelu ONC. Wykorzystując celowane terapie genowe, analizowaliśmy rolę czynników, których ekspresja ulega naturalnym zmianom w trakcie dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego, w tym specyficznych mikroRNA (m.in. miR-1247-5p, miR-132-3p, miR-135a/b), białek zaangażowanych w dynamikę cytoszkieletu (rodzina CRMP), czynników transkrypcyjnych (*Tceal3*) oraz białek rybosomalnych (*Rpl7* i *Rpl7a*). Wysoka produktywność naukowa w tym obszarze zaowocowała opublikowaniem serii artykułów w cenionych czasopismach międzynarodowych, w których figuruję jako pierwsza autorka lub współautorka, a które stanowią istotne rozszerzenie wiedzy o molekularnych mechanizmach degeneracji i regeneracji OUN:

- **Lukomska A**, Theune WC, Frost MP, Xing J, Kearney A, Trakhtenberg EF. *Upregulation of developmentally-downregulated miR-1247-5p promotes neuroprotection and axon regeneration in vivo*. Neurosci Lett. 2024 Feb 16;823:137662. doi: 10.1016/j.neulet.2024.137662.
- **Lukomska A**, Theune WC, Xing J, Frost MP, Damania A, Gupta M, Trakhtenberg EF. *Experimental gene expression of developmentally downregulated Crmp1, Crmp4, and Crmp5 promotes axon regeneration and retinal ganglion cell survival after optic nerve injury*. Brain Res. 2023 Jun 15;1809:148368. doi: 10.1016/j.brainres.2023.148368.
- **Lukomska A**, Kim J, Rheume BA, Xing J, Hoyt A, Lecky E, Steidl T, Trakhtenberg EF. *Developmentally upregulated transcriptional elongation factor a like 3 suppresses axon regeneration after optic nerve injury*. Neurosci Lett. 2021 Nov 20;765:136260. doi: 10.1016/j.neulet.2021.136260.
- Xing J, Theune WC, **Lukomska A**, Frost MP, Damania A, Trakhtenberg EF. *Experimental upregulation of developmentally downregulated ribosomal protein large subunits 7 and 7A promotes axon regeneration after injury in vivo*. Exp Neurol. 2023 Oct;368:114510. doi: 10.1016/j.expneurol.2023.114510.
- D'souza C, **Lukomska A**, Balaji AJ, Brady J, Trakhtenberg EF. *Targeting neurodevelopmental miR132-3p promotes neuroprotection and axon regeneration after optic nerve injury in mice*. Brain Res. 2026 Oct 15;1889:150450. doi: 10.1016/j.brainres.2026.150450.

- Brady JH, **Lukomska A**, Balaji AJ, D'Souza C, Trakhtenberg EF. *Neurodevelopmental miR-135a-1-3p and miR-135b-3p promote long-distance axon regeneration after injury in the central visual pathway*. Mol Ther Adv. 2026 Jul 30;34(3):201826. doi: 10.1016/j.omta.2026.201826.

3.4 Badania nad rolą neuropeptydów w modulacji plastyczności układu nerwowego w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN (Warszawa, Polska)

W latach 2018–2019 zrealizowałam podoktorski staż naukowy w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, w Laboratorium Neuroplastyczności kierowanym przez prof. dr hab. Małgorzatę Kossut. Moje ówczesne badania koncentrowały się na neurobiologii kory baryłkowej oraz znaczeniu układu somatostatynowego w prawidłowym funkcjonowaniu mózgu.

Głównym nurtem moich prac była analiza mechanizmów plastyczności kory mózgowej indukowanej doświadczeniem. Wykorzystując nowatorską technologię chemogenetyczną (DREADD) oraz paradygmat warunkowania klasycznego (oparty na stymulacji czuciowej wibrysów), badałam wpływ interneuronów hamujących na reorganizację obwodów neuronalnych. W wyniku tych eksperymentów udowodniłam, że aktywność interneuronów wykazujących ekspresję somatostatyny (SOM-INs) w warstwie IV kory baryłkowej jest krytycznie niezbędna do wywołania powiększenia funkcjonalnej reprezentacji wibrysów oraz do skutecznego przebiegu procesu uczenia się.

Równolegle prowadziłam zaawansowane badania anatomiczno-funkcjonalne, analizując rozmieszczenie pięciu podtypów receptorów somatostatynowych (SSTR1–5). Z wykorzystaniem modeli myszy transgeniczných wykazałam, że profil ekspresji tych receptorów cechuje się wysoką specyficznością w zależności od warstwy kory mózgowej oraz typu interneuronu. Do moich najważniejszych odkryć w tym zakresie należy udowodnienie, że interneurony parwalbuminergiczne (PV⁺) są pozbawione receptora SSTR2, podczas gdy interneurony somatostatynowe (SOM⁺) wykazują koekspresję ze wszystkimi pięcioma podtypami badanych receptorów.

Efektem mojej pracy w latach 2018-2019 w Instytucie Nenckiego jest współautorstwo w poniższych publikacjach:

- **Lukomska A**, Dobrzanski G, Liguz-Lecznar M, Kossut M. *Somatostatin receptors (SSTR1-5) on inhibitory interneurons in the barrel cortex*. Brain Struct Funct. 2020 Jan;225(1):387-401. doi: 10.1007/s00429-019-02011-7.
- Dobrzanski G, **Lukomska A**, Zakrzewska R, Posluszny A, Kanigowski D, Urban-Ciecko J, Liguz-Lecznar M, Kossut M. *Learning-induced plasticity in the barrel cortex is disrupted by inhibition of layer 4 somatostatin-containing interneurons*. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 2022 Jan;1869(1):119146. doi: 10.1016/j.bbamcr.2021.119146.

- Kossut M, **Łukomska A**, Dobrzański G, Liguz-Lęcznar M. *Somatostatin receptors in the brain*. Postepy Biochem. 2018 Oct 25;64(3):213-221. doi:10.18388/pb.2018_133.

3.5 Badania nad neurotoksycznością fluoru na Pomorskim Uniwersytecie Medycznym w Szczecinie, prace opublikowane po obronie doktoratu (Szczecin, Polska).

W początkowym okresie kariery naukowej byłam ściśle związana z moją *Alma Mater* – Pomorskim Uniwersytetem Medycznym (PUM) w Szczecinie, gdzie realizowałam działalność badawczą w Zakładzie Biochemii i Żywienia Człowieka oraz Zakładzie Biochemii Wydziału Lekarskiego. Współpracę tę z powodzeniem kontynuowałam również po obronie doktoratu (zapewniając wsparcie koncepcyjne, zaawansowaną analizę danych i współtworzenie manuskryptów), co zaowocowało powstaniem serii oryginalnych prac z zakresu neurotoksykologii. Przeprowadzony na modelach szczurzych cykl badań wykazał, że przed- i pourodzeniowa ekspozycja na fluor – swobodnie penetrujący barierę krew-łożysko oraz krew-mózg – wywiera wielokierunkowy, destrukcyjny wpływ na ośrodkowy układ nerwowy. Udowodniliśmy, że pierwiastek ten indukuje silny stres oksydacyjny (upośledzając naturalną ochronę antyoksydacyjną mózgu i zaburzając aktywność NOX4), co prowadzi do aktywacji mikroglii, utraty neuronów oraz rozwoju przewlekłego stanu zapalnego, indukowanego m.in. wzmożoną aktywnością COX2 i uwalnianiem prostaglandyny E2. Ponadto wykazaliśmy, że neurotoksyczność fluoru znacząco zaburza neuroplastyczność (poprzez zachwianie równowagi między metaloproteinazami MMP2 i MMP9 a ich inhibitorami TIMP2 i TIMP3) oraz modyfikuje układ dopaminergiczny (zmieniając metabolizm dopaminy i ekspresję receptorów D1R i D2R), co upośledza funkcjonowanie układu nagrody i może nasilać podatność na rozwój uzależnień. Moje najważniejsze publikacje z tego nurtu obejmują:

- Dec K, **Łukomska A**, Skonieczna-Żydecka K, Kolasa-Wołosik A, Tarnowski M, Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I. *Long-term exposure to fluoride as a factor promoting changes in the expression and activity of cyclooxygenases (COX1 and COX2) in various rat brain structures*. Neurotoxicology. 2019 Sep;74:81-90. doi: 10.1016/j.neuro.2019.06.001.
- **Łukomska A**, Baranowska-Bosiacka I, Dec K, Pilutin A, Tarnowski M, Jakubczyk K, Żwieretło W, Skórka-Majewicz M, Chlubek D, Gutowska I. *Changes in Gene and Protein Expression of Metalloproteinase-2 and -9 and Their Inhibitors TIMP2 and TIMP3 in Different Parts of Fluoride-Exposed Rat Brain*. Int J Mol Sci. 2020 Dec 31;22(1):391. doi: 10.3390/ijms22010391.
- Kupnicka P, Listos J, Tarnowski M, Kolasa-Wołosik A, Wąsik A, **Łukomska A**, Barczak K, Gutowska I, Chlubek D, Baranowska-Bosiacka I. *Fluoride Affects Dopamine Metabolism and Causes Changes in the Expression of Dopamine*

Receptors (D1R and D2R) in Chosen Brain Structures of Morphine-Dependent Rats. Int J Mol Sci. 2020 Mar 29;21(7):2361. doi: 10.3390/ijms21072361.

- Dec K, **Łukomska A**, Skonieczna-Żydecka K, Jakubczyk K, Tarnowski M, Lubkowska A, Baranowska-Bosiacka I, Styburski D, Skórka-Majewicz M, Maciejewska D, Gutowska I. *Chronic Exposure to Fluoride Affects GSH Level and NOX4 Expression in Rat Model of This Element of Neurotoxicity.* Biomolecules. 2020 Mar 9;10(3):422. doi: 10.3390/biom10030422.

3.6 Badania nad indukowanymi pluripotencjalnymi komórkami macierzystymi w patogenezie choroby Parkinsona (Luebeck, Niemcy).

W ramach poszerzania moich kompetencji metodycznych odbyłam staż naukowy w Institute of Neurogenetics na Uniwersytecie w Lubece (Niemcy). Zostałam wówczas zaproszona do współpracy w ramach prestiżowej inicjatywy badawczej finansowanej przez Niemiecką Wspólnotę Badawczą (DFG) – w grupie badawczej ProtectMove (FOR 2488). Głównym celem tego projektu było wykorzystanie ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC) w ramach lokalnej platformy komórkowej do oceny fenotypów neuronalnych oraz funkcjonowania mitochondriów. Współpraca ta, obejmująca zaawansowaną analizę i opracowanie wykonanych przeze mnie eksperymentów, była z powodzeniem kontynuowana również po obronie mojej rozprawy doktorskiej.

Nasze badania dotyczyły niezwykle istotnego problemu klinicznego, jakim jest fenotypowa niezgodność pod względem występowania choroby Parkinsona (PD) u par bliźniąt jednojajowych, pomimo udowodnionego wpływu czynników genetycznych na rozwój tego schorzenia. W ramach projektu uczestniczyłam w procesie wygenerowania i wszechstronnej charakteryzacji sześciu niezależnych linii ludzkich indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC), wyprowadzonych z fibroblastów skóry pobranych od trzech wspomnianych par, z wykorzystaniem bezpiecznej technologii reprogramowania bazującej na nieintegrującym wektorze wirusa Sendai. Uzyskane i w pełni scharakteryzowane przez nasz zespół linie komórkowe stanowią unikalne narzędzie biologiczne, umożliwiające precyzyjne śledzenie różnic molekularnych między zdrowym a chorym bliźniakiem i stanowiące doskonały model do badania interakcji genetyczno-środowiskowych, determinujących rozwój PD. Efektem tej międzynarodowej współpracy badawczej jest poniższa praca oryginalna:

- Dulovic-Mahlow M, **Łukomska A**, Diaw SH, Balck A, Borsche M, Grütz K, Lenz I, Rudolph F, Lohmann K, Klein C, Seibler P. *Generation and characterization of human-derived iPSC lines from three pairs of monozygotic twins discordant for Parkinson's disease.* Stem Cell Res. 2019 Dec;41:101629. doi: 10.1016/j.scr.2019.101629.

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

4.1 Działalność dydaktyczna na WUM (Warszawa, Polska)

Bezpośrednio po rozpoczęciu pracy na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym zaangażowałam się w rozwój i unowocześnianie uczelnianej oferty edukacyjnej. Moim wiodącym osiągnięciem w tym zakresie było stworzenie od podstaw autorskiego programu zajęć fakultatywnych zatytułowanych **„Medycyna translacyjna i nowoczesne metody biomedyczne”**. Przedmiot ten został zaproponowany studentom kierunku lekarskiego (zarówno w programie polskojęzycznym, jak i *English Division*) oraz studentom analityki medycznej.

Jako autorka sylabusów (przygotowanych w polskiej i angielskiej wersji językowej) oraz główny koordynator przedmiotu, zaprojektowałam program kształcenia obejmujący najbardziej innowacyjne i dynamicznie rozwijające się dziedziny współczesnej nauki. Zakres tematyczny przedmiotu został precyzyjnie dobrany do aktualnych wyzwań medycyny i obejmuje m.in.:

- koncepcję medycyny translacyjnej (od odkrycia naukowego do wdrożenia klinicznego),
- zastosowanie genomiki, transkryptomiki, proteomiki i metabolomiki,
- zaawansowaną cytometrię przepływową,
- nowoczesne modele w badaniach biomedycznych (hodowle 2D/3D, organoidy, modele zwierzęce, edycja genomu z wykorzystaniem technologii CRISPR/Cas9),
- rolę sztucznej inteligencji (AI) i analizy dużych zbiorów danych (Big Data) w medycynie translacyjnej,
- transfer technologii i komercjalizację wyników badań akademickich.

Pierwsza edycja przedmiotu została z ogromnym sukcesem zrealizowana w roku akademickim 2025/2026 dla studentów analityki medycznej. Jako koordynator odpowiedzialny za jakość kształcenia, dołożyłam wszelkich starań, aby zajęcia miały jak najbardziej praktyczny charakter. W tym celu zorganizowałam proces dydaktyczny tak, aby poszczególne bloki tematyczne prowadzone były przez zaproszonych ekspertów-praktyków z Laboratorium Medycyny Regeneracyjnej WUM. Sama również prowadziłam wykłady i warsztaty praktyczne w obszarach mojej ścisłej specjalizacji badawczej (modele biomedyczne oraz komercjalizacja wiedzy), a także odpowiadałam za weryfikację efektów uczenia się.

Wysoki poziom merytoryczny zajęć oraz odpowiedni dobór kadry dydaktycznej przełożyły się na stuprocentową zdawalność oraz bardzo pozytywne ewaluacje ze strony studentów. W związku z tym ogromnym sukcesem dydaktycznym, z pełnym powodzeniem wprowadziliśmy przedmiot fakultatywny na stałe do oferty edukacyjnej WUM na kolejne lata akademickie dla obu wyżej wymienionych kierunków.

4.2 Działalność dydaktyczna i mentorska w University of Connecticut (Farmington, CT, USA)

W trakcie kilkuletniego stażu podoktorskiego w Laboratorium Neuroregeneracji pod kierunkiem dr. Ephraima F. Trakhtenberga, moja aktywność dydaktyczna koncentrowała się na intensywnym, zindywidualizowanym kształceniu młodej kadry naukowej (*research mentoring*). Pełniąc w tamtym czasie funkcję jedynego naukowca na stanowisku *postdoctoral fellow* w zespole, naturalnie przejęłam na siebie kluczową odpowiedzialność za bieżącą opiekę merytoryczną nad młodszymi badaczami.

Moja działalność na tym polu obejmowała trzy główne filary kształcenia akademickiego:

- **Opieka nad studentami studiów I stopnia (*Undergraduate students*):** Sprawowałam bezpośrednią, codzienną opiekę naukową i warsztatową nad wszystkimi studentami realizującymi swoje projekty badawcze w naszym laboratorium. Moim głównym celem było wdrażanie ich w rygorystyczny proces metodologiczny oraz kształtowanie krytycznego myślenia naukowego. Najlepszym, obiektywnym dowodem na najwyższą skuteczność tego podejścia jest fakt, że moi podopieczni – dzięki nabytym umiejętnościom i wypracowanemu zaangażowaniu – zostali pełnoprawnymi współautorami w zdecydowanej większości moich publikacji naukowych. To zindywidualizowane mentorstwo otworzyło przed nimi realne możliwości dalszego rozwoju w prestiżowych ośrodkach akademickich.
- **Udział w procesie kształcenia na poziomie studiów magisterskich (*Master's Program*):** Reprezentując nasze laboratorium, zasiadałam w komisjach oceniających w ramach międzywydziałowego programu magisterskiego z zakresu technologii biomedycznych. Moja rola polegała na merytorycznej ewaluacji i opiniowaniu interdyscyplinarnych prac dyplomowych powstających we współpracy z naszym zespołem.
- **Wsparcie merytoryczne w kształceniu doktorantów (*PhD students*):** Ścisłe współpracowałam z kierownikiem jednostki w procesie mentorowania studentów studiów doktoranckich. Moje wsparcie polegało m.in. na bieżącym rozwiązywaniu problemów eksperymentalnych (*troubleshooting*), optymalizacji zaawansowanych protokołów mikrochirurgicznych i molekularnych oraz wsparciu analitycznym podczas przygotowywania przez nich publikacji.

Mimo iż specyfika mojego stanowiska w USA nie obejmowała prowadzenia tradycyjnych zajęć audytoryjnych, to wielowymiarowe wsparcie, szkolenia oraz wprowadzanie studentów w świat nauki stanowiło dla mnie niezwykle istotny i satysfakcjonujący element pracy akademickiej. Doświadczenie to ukształtowało moje obecne podejście do pracy z polskimi studentami i dyplomantami.

4.3 Opieka merytoryczna nad stażystami w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN (Warszawa, Polska)

Podczas mojej pracy w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN, w Laboratorium Neuroplastyczności kierowanym przez prof. dr hab. Małgorzatę Kossut, pełniłam funkcję bezpośredniego opiekuna merytorycznego dla stażystów i praktykantów. Moje zaangażowanie obejmowało szkolenie warsztatowe i wdrażanie do pracy laboratoryjnej studentów z polskich ośrodków akademickich, jak również studentów zagranicznych, realizujących swoje projekty badawcze w Polsce w ramach międzynarodowego programu wymiany Erasmus. Wsparcie to polegało na transferze umiejętności praktycznych oraz wprowadzaniu młodych badaczy w rygorystyczne standardy pracy naukowej i analizy danych w obszarze neurobiologii.

4.4 Działalność popularyzująca naukę oraz aktywność medialna

Niezwykle ważnym elementem mojej pracy akademickiej jest aktywna realizacja tzw. trzeciej misji instytucji naukowych – edukacji społeczeństwa i popularyzacji osiągnięć współczesnej neurobiologii. Do moich najważniejszych działań o charakterze edukacyjnym i warsztatowym należą:

- **Udział w 23. Pikniku Naukowym Polskiego Radia i Centrum Nauki Kopernik (maj 2019 r.):** W ramach jednego z największych w Europie plenerowego wydarzenia promującego naukę, współtworzyłam stanowisko edukacyjne Instytutu Nenckiego, które cieszyło się ogromnym zainteresowaniem setek odwiedzających w każdej grupie wiekowej. Opracowałam i prowadziłam autorskie pokazy i prelekcje tłumaczące w przystępny sposób działanie układu nerwowego. Wyjaśniałam neurobiologiczne mechanizmy powstawania iluzji optycznych (mechanizmy błędnego postrzegania obrazu przez mózg) oraz prowadziłam edukację z zakresu higieny snu. W szczególności uświadamiałam odbiorców o negatywnych skutkach korzystania w godzinach wieczornych z urządzeń emitujących światło niebieskie (smartfonów, tabletów) dla prawidłowego funkcjonowania mózgu i rytmu okołodobowego.
- **Współorganizacja i prowadzenie prelekcji podczas „Mazurskich Dni Mózgu” (lipiec 2019):** Aktywnie angażowałam się w organizację wydarzeń edukacyjnych w Stacji Badawczej Instytutu Nenckiego w Mikołajkach. Współprowadziłam cykl popołudniowych wykładów popularnonaukowych oraz interaktywnych warsztatów poświęconych anatomii i funkcjom układu nerwowego. Działania te, skierowane do szerokiego grona odbiorców (zarówno dzieci, jak i osób dorosłych), miały na celu budowanie świadomości prozdrowotnej oraz fascynacji architekturą i plastycznością ludzkiego mózgu.

Moje badania i osiągnięcia naukowe znalazły również odzwierciedlenie w międzynarodowych publikacjach branżowych oraz zostały docenione w formie prestiżowych wyróżnień edytorskich:

- Międzynarodowy wywiad naukowy w czasopiśmie *Development* (2023): W ramach prestiżowego cyklu „*The people behind the papers*” na łamach międzynarodowego czasopisma *Development* (Wyd. Company of Biologists, DOI: 10.1242/dev.201870) wraz z innymi wiodącymi członkami zespołu udzieliłam wywiadu prezentującego kulisy powstawania przełomowych badań nad regeneracją aksonów RGCs. Rozmowa przybliżyła szerszemu gronu odbiorców akademickich wyzwania stojące przed współczesną medycyną regeneracyjną w kontekście urazów rdzenia kręgowego i nerwu wzrokowego.
- Wyróżnienia autorskich mikrofotografii na okładkach czasopism naukowych (2024, 2026) - moje autorskie zdjęcia z mikroskopu konfokalnego, dokumentujące mechanizmy regeneracji aksonów, zostały dwukrotnie docenione przez redaktorów naczelnych i wybrane jako oficjalne ilustracje okładkowe (*cover image*) w międzynarodowym czasopiśmie z listy JCR – *Experimental Neurology* (Elsevier):
 - 2026 rok: Fotografia mikroskopowa przedstawiająca eksperymentalną stymulację genową (*Lanc1*) promową dla regeneracji aksonów po urazie nerwu wzrokowego zdobyła okładkę wydania nr 402 czasopisma *Experimental Neurology*.
 - 2024 rok: Zdjęcie mikroskopowe dokumentujące neuroprotektoryjne i regeneracyjne działanie czynnika *Nfe2l3* zostało wybrane na okładkę wydania tego samego czasopisma.

4.5 Promotorstwo prac dyplomowych

Moje doświadczenie w zakresie kształcenia młodej kadry naukowej obejmuje pełnienie funkcji promotora prac magisterskich oraz promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim. W swojej pracy ze studentami i doktorantami kładę szczególny nacisk na wdrażanie ich w zaawansowaną metodykę badawczą oraz włączanie w aktywny obieg międzynarodowej nauki, co przekłada się na wymierne sukcesy publikacyjne i konferencyjne moich dyplomantów.

Promotorstwo prac magisterskich (Warszawski Uniwersytet Medyczny):

- **2025-2026 r.:** Promotor pracy magisterskiej absolwentki kierunku analityka medyczna. *Tytuł pracy:* „Identyfikacja i charakterystyka komórek, posiadających ekspresję markerów komórek macierzystych, w siatkówce myszy”. (Obrona na ocenę bardzo dobrą). Najlepszym dowodem na wysoki poziom naukowy prowadzonych badań jest fakt, że wypracowane przez studentkę wyniki stały się częścią oryginalnego artykułu naukowego, w którym figuruje ona jako współautorka. Ponadto pod moim kierunkiem naukowym, dyplomantka zaprezentowała wyniki swoich badań podczas XII Ogólnopolskiej Konferencji Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Młodych Diagnostów „Wschodząca Diagnostyka” w Białymstoku (18.04.2026 r.).
Za wystąpienie ustne zatytułowane: „Analiza profilu ekspresji genów

wczesnorozwojowych w populacji komórek *Nectin-3⁺* na różnych etapach rozwoju siatkówki myszy” zdobyła prestiżowe **wyróżnienie**. Doskonałe przygotowanie merytoryczne i warsztatowe w pełni otwiera przed nią perspektywę kontynuacji kariery naukowej w Szkole Doktorskiej.

- **2026-2027 r. (w toku):** Promotor pracy magisterskiej studentki kierunku analityka medyczna. *Tytuł pracy:* „Rola receptora P2X4 w przeżywalności komórek zwojowych siatkówki po uszkodzeniu nerwu wzrokowego” (przewidywany termin obrony: czerwiec 2027 r.).

Współpromotorstwo w przewodzie doktorskim:

- **2020 r.:** Promotor pomocniczy rozprawy doktorskiej dr Patrycji Kupnickiej. *Tytuł rozprawy:* „Wpływ związków fluoru na ekspresję receptorów dopaminowych D1 i D2 oraz stężenie dopaminy w wybranych strukturach mózgów szczurów uzależnionych od morfiny” (Opublikowana rozprawa, DOI: 10.48745/ppm.6n1b-3s90). Moja rola w tym przewodzie polegała na ścisłym wsparciu merytorycznym i analitycznym procesu badawczego oraz wszechstronnej pomocy w redakcji naukowej i strukturze ostatecznego tekstu dysertacji.

4.6 Opieka nad Studenckim Kołem Naukowym Medycyny Regeneracyjnej

Bezpośrednio po powrocie do Polski w 2024 roku i podjęciu pracy na Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, z sukcesem reaktywowałam działalność Studenckiego Koła Naukowego (SKN) Medycyny Regeneracyjnej. Pełniąc funkcję opiekuna naukowego, za główny cel postawiłam sobie kompleksowe wdrażanie uzdolnionych studentów w zaawansowane projekty badawcze z zakresu neurobiologii i biologii komórek macierzystych, ułatwiając im stawianie pierwszych kroków w międzynarodowej nauce.

O najwyższej jakości mojego mentoringu oraz ogromnym zaangażowaniu członków Koła świadczą obiektywne i wymierne sukcesy moich podopiecznych, obejmujące zdobyte granty oraz nagrody konferencyjne:

- **Pozyskanie finansowania badawczego (Minigrant Studencki WUM):** W 2026 roku wspierałam moją studentkę w przygotowaniu wniosku grantowego, który z sukcesem uzyskał finansowanie w ramach uczelnianego konkursu na Minigranty Studenckie WUM (kategoria: nauki medyczne, nr decyzji: 79/M/MG/N/26). W projekcie zatytułowanym: „Wpływ modulacji receptora purynergicznego P2X4 na procesy proliferacji oraz przeżywalność komórek glejowych w modelu uszkodzenia nerwu wzrokowego (ONC)”, w którym studentka pełni rolę Kierownika, a ja sprawuję funkcję Głównego Opiekuna Naukowego.
- **Sukcesy i nagrody na konferencjach naukowych:** Członkowie prowadzonego przeze mnie SKN regularnie prezentują wyniki swoich badań na prestiżowych forach naukowych, zdobywając wyróżnienia. Do najważniejszych wyróżnień uzyskanych przez studentów pod moją bezpośrednią opieką należą:

- **II miejsce** w sesji *PhD Basic & Preclinical Science* podczas międzynarodowej konferencji XX Warsaw International Medical Congress (WIMC, 11–13 kwietnia 2025 r.). Nagrodzona prezentacja ustna: „*Single-cell RNA sequencing of umbilical cord blood CD133+ and CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells: Insights into purinergic signaling*”.
- **Wyróżnienie** podczas XII Ogólnopolskiej Konferencji Studentów Medycyny Laboratoryjnej i Młodych Diagnostów „Wschodząca Diagnostyka” (Białystok, 18 kwietnia 2026 r.). Nagrodzona praca (wystąpienie ustne), ściśle powiązana z promowaną przeze mnie pracą magisterską: „*Analiza profilu ekspresji genów wczesnorozwojowych w populacji komórek Nectin-3⁺ na różnych etapach rozwoju siatkówki myszy*”.

4.7 Działalność recenzencka w międzynarodowych czasopismach naukowych oraz ocena międzynarodowego grantu

Uznanie dla moich kompetencji merytorycznych i doświadczenia badawczego znajduje odzwierciedlenie w regularnych zaproszeniach do pełnienia funkcji recenzenta (tzw. *peer-review*) oraz eksperta oceniającego projekty naukowe.

4.7.1 Recenzowanie publikacji w czasopismach naukowych

Jestem niezwykle aktywną recenzentką dla renomowanych czasopism naukowych o zasięgu międzynarodowym (znajdujących się w bazie JCR). Średnio wykonuję około 3 wnikliwych recenzji miesięcznie, dbając o utrzymanie wysokich standardów publikowanych badań z zakresu neurobiologii, medycyny regeneracyjnej i toksykologii. Do czasopism, dla których regularnie sporządzam recenzje, należą między innymi:

- *Biological Trace Element Research*
- *Brain Research Bulletin*
- *Experimental Eye Research*
- *Experimental Neurology*
- *Journal of Hazardous Materials*
- *Stem Cell Reviews and Reports*

4.7.2 Ocena międzynarodowych projektów grantowych

Moja ekspertyza w dziedzinie neurobiologii została doceniona na arenie międzynarodowej, czego wyrazem było zaproszenie mnie w 2023 roku do pełnienia funkcji eksperta zewnętrznego (*Invited Expert*) przez jedną z najbardziej prestiżowych agencji finansujących badania medyczne w Wielkiej Brytanii – **Medical Research Council (MRC)** działającą w ramach UK Research and Innovation (UKRI).

Na zlecenie MRC przygotowałam rzetelną, anglojęzyczną ewaluację merytoryczną zaawansowanego wniosku grantowego z pogranicza neurobiologii rozwoju oraz regulacji epigenetycznej komórek ludzkich. Udział w procesie oceny zagranicznych projektów badawczych dla tak elitarnej instytucji stanowi dla mnie istotne wyróżnienie naukowe.

4.8 Nagrody i wyróżnienia naukowe uzyskane po obronie rozprawy doktorskiej

Moja działalność innowacyjna i wdrożeniowa, jak również osiągnięcia z okresu zagranicznego stażu podoktorskiego, zostały wielokrotnie docenione na forum międzynarodowym. Wyrazem tego są prestiżowe nagrody i wyróżnienia przyznane zarówno przez instytucje naukowe, jak i gremia oceniające potencjał technologiczny wynalazków:

- **Złoty Medal na 19. Międzynarodowych Targach Wynalazków i Innowacji INTARG® 2026 (2026 r.)** Najwyższe wyróżnienie przyznane podczas prestiżowego wydarzenia łączącego świat nauki z biznesem, objętego patronatem Ministerstwa Rozwoju i Technologii. Złoty Medal otrzymałam wspólnie z prof. dr hab. n. med. Magdaleną Kucią za wybitny potencjał wdrożeniowy naszego wspólnego projektu pt. „*Sposób identyfikacji komórek progenitorowych, komórki progenitorowe oraz ich zastosowania*”. Nagrodzone rozwiązanie to nowatorskie narzędzie badawcze pozwalające na wykorzystanie markera powierzchniowego Nectin-3⁺ do precyzyjnej izolacji rzadkich populacji komórek siatkówki (o profilu molekularnym przypominającym stan embrionalny). Innowacyjność metody polega na umożliwieniu precyzyjnej selekcji tych komórek bez konieczności stosowania skomplikowanych modyfikacji genetycznych, co otwiera nowe perspektywy w badaniach nad plastycznością układu wzrokowego.
- **Nagroda Specjalna (Special Award) Indonezyjskiego Stowarzyszenia Promocji Wynalazków i Innowacji – INNOPA (2026 r.)** Wyróżnienie o globalnym zasięgu przyznane przez *Indonesian Invention and Innovation Promotion Association* za „najwyższy standard doskonałości” (*highest standard of excellence*). Nagroda ta stanowi międzynarodowe uznanie dla doskonałości metodologicznej i ogromnego potencjału komercyjnego wspomnianej wyżej, autorskiej metody identyfikacji komórek progenitorowych z wykorzystaniem znacznika Nectin-3⁺.

- **Travel Award, Connecticut Institute for the Brain and Cognitive Sciences (USA, 2022 r.)** Prestiżowa nagroda uzyskana w trakcie mojego stażu podoktorskiego na University of Connecticut. Przyznane wyróżnienie stanowiło docenienie moich ówczesnych wyników badawczych w obszarze neurobiologii i umożliwiło mi sfinansowanie udziału w międzynarodowej wymianie myśli naukowej.

4.9 Członkostwo w krajowych i międzynarodowych towarzystwach naukowych

Istotnym elementem mojej aktywności w globalnym i krajowym środowisku akademickim, a także wyrazem integracji ze społecznością badaczy, jest przynależność do prestiżowych stowarzyszeń naukowych. Członkostwo w tych organizacjach umożliwia mi aktywny udział w międzynarodowej wymianie myśli, śledzenie najnowszych trendów w badaniach oraz budowanie sieci kontaktów eksperckich w obszarze neurobiologii i nauk pokrewnych.

Jestem (lub byłam) aktywną członkinią następujących organizacji o zasięgu krajowym i międzynarodowym:

- **Polskie Towarzystwo Badań Układu Nerwowego (PTBUN)** (Warszawa, Polska)
- **Polskie Towarzystwo Biochemiczne (PTBioch)** (Warszawa, Polska)
- **Federation of European Neuroscience Societies (FENS)** (struktura ogólnoeuropejska)
- **Society for Neuroscience (SfN)** (Waszyngton, DC, USA)

Integralną częścią mojej działalności badawczej jest regularne upowszechnianie i poddawanie weryfikacji wyników naukowych na najważniejszych, światowych forach neurobiologicznych. Prezentacja odkryć podczas wiodących kongresów (w tym prestiżowych, corocznych zjazdów Society for Neuroscience) oraz udział w międzynarodowych sympozjach tematycznych stanowią kluczowy obszar budowania sieci współpracy i dyskursu naukowego.

Zgodnie z przyjętą praktyką, poniżej przedstawiam wyłącznie wyselekcjonowane, kluczowe wystąpienia z ostatnich lat, obejmujące referaty ustne oraz prestiżowe wykłady na zaproszenie, i najważniejsze prezentacje wyników w formie plakatów, które miały fundamentalne znaczenie dla upowszechnienia moich koncepcji naukowych:

- **1 lipca 2026 r. – 3rd European Purine Meeting (Bordeaux, Francja)** Wystąpienie ustne: „*The purinergic P2X4 receptor as a regulator of retinal ganglion cell survival and axon regeneration after injury*”.
- **3 października 2024 r. – Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN (Warszawa, Polska)** Wykład plenarny na zaproszenie: „*Novel factors in axon regeneration after optic nerve crush*”.

- **Listopad 2023 r. – Neuroscience 2023, SfN Annual Meeting (Waszyngton, DC, USA)** Prezentacja wyników: „*MicroRNAs associated with maturation of retinal ganglion cells regulate survival and long-distance axon regeneration after optic nerve injury*”.
- **Listopad 2022 r. – Neuroscience 2022, SfN Annual Meeting (San Diego, CA, USA)** Prezentacja wyników: „*Developmentally regulated microRNAs play a role in retinal ganglion cell survival and axon regeneration after optic nerve injury*”.
- **Październik 2019 r. – Neuroscience 2019, SfN Annual Meeting (Chicago, IL, USA)** Prezentacja wyników: „*Somatostatin Receptors on inhibitory SST, VIP, and PV interneurons in the barrel cortex*”.

4.10 Działalność organizacyjna i leaderska w konsorcjum międzynarodowym

Ważnym etapem mojego rozwoju w obszarze zarządzania nauką i budowania międzynarodowego potencjału uczelni było powierzenie mi w 2026 roku zaszczytnej funkcji **Lidera ds. Infrastruktury Badawczej EUniWell** (*European University for Well-Being*) z ramienia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

EUniWell to prestiżowy sojusz dwunastu wiodących europejskich uniwersytetów, finansowany bezpośrednio przez Komisję Europejską w ramach programów Erasmus+ oraz Horyzont 2020. Misją konsorcjum jest poprawa dobrostanu i jakości życia obywateli Europy poprzez zintegrowane, transdyscyplinarne działania w obszarach kształcenia, badań naukowych i zaangażowania społecznego.

W ramach mojej funkcji leaderskiej jestem bezpośrednio zaangażowana w realizację kluczowego filaru programu – **EUniWell #Research**. Moje działania organizacyjne i strategiczne koncentrują się na:

- **Tworzeniu wspólnej agendy badawczej i strategii R&I (Research & Innovation):** Odpowiadam za kluczowe ramy strategiczne, ze szczególnym naciskiem na inwentaryzację potencjału badawczego, mapowanie specjalistycznej infrastruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz integrowanie jej z sieciami współpracy wewnątrz sojuszu. Moim celem jest zapewnienie pełnej spójności tych działań z wizją Europejskiej Przestrzeni Badawczej (ERA).
- **Wspieraniu rozwoju karier naukowych i otwartej nauki:** Poprzez moją rolę wspieram wdrażanie kultury *Open Science* na macierzystej uczelni, dbając o to, by infrastruktura badawcza WUM była odpowiednio wyeksponowana i dostępna w ramach sieci europejskiej.
- **Promowaniu instrumentu *Well-Being Research Incubator*:** Aktywnie wspieram mechanizmy inkubowania międzyinstytucjonalnej współpracy naukowej, promując inicjatywy badawcze łączące zespoły z różnych krajów i dyscyplin, od diagnostyki molekularnej po szeroko pojęty dobrostan i zdrowie publiczne.

Pełnienie tej funkcji pozwala mi na realne kształtowanie polityki naukowej oraz wzmacnianie międzynarodowej pozycji Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w elitarnej sieci europejskich uczelni badawczych.

5. Podsumowanie danych bibliometrycznych

Podsumowując dorobek naukowy, na moją całkowitą aktywność publikacyjną składa się wielowątkowe główne osiągnięcie naukowe o łącznym współczynniku oddziaływania Impact Factor (IF) wynoszącym 27,1 oraz punktacji MEiN na poziomie 840 pkt, a także pozostały dorobek naukowy (powstały przed i po uzyskaniu stopnia doktora), który generuje dodatkowe 133,527 punktów IF oraz 3125 punktów MEiN.

Mój całościowy dorobek spotkał się z szerokim uznaniem międzynarodowej społeczności naukowej, czego odzwierciedleniem jest 682 cytowania w bazie Web of Science (607 bez autocytowań; indeks Hirscha: 15) oraz 791 cytowań w bazie Scopus (716 bez autocytowań; indeks Hirscha: 16). Przedstawione wskaźniki bibliometryczne stanowią obiektywne potwierdzenie wysokiej jakości, merytorycznej dojrzałości oraz trwałego wkładu realizowanych przeze mnie badań w rozwój współczesnej neurobiologii i medycyny regeneracyjnej.



Podpis wnioskodawcy