

**AUTOREFERAT**

**1. Imię i nazwisko:**

**Michał Dobrakowski**

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:**

**Tytuł zawodowy lekarza** – Zabrze, 28.06.2010, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

**Doktor nauk medycznych** (rozprawa doktorska pt. „Wolnorodnikowe uszkodzenia DNA i stres oksydacyjny w leukocytach pracowników zawodowo narażonych na oddziaływanie ołowiu i jego związków”) – Zabrze, 15.01.2015, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

**3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych:**

Od 01.03.2015 – adiunkt w Katedrze i Zakładzie Biochemii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

**4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)**

**a) Wykaz publikacji będących podstawą do sformułowania wniosku o nadanie tytułu doktora habilitowanego w dziedzinie medycyny:**

**„Wpływ krótko- i długoterminowej zawodowej ekspozycji na pyły ołowiu na odpowiedź immunologiczną, elementy morfotyczne krwi, czynniki hematopoetyczne, wybrane hormony oraz mechanizmy pro- i antyoksydacyjne” – cykl pięciu publikacji o łącznej wartości IF=11,719 i KBN/MNiSW=135.**

1. **Dobrakowski M**, Boroń M, Czuba ZP, Kasperczyk A, Machoń-Grecka A, Kasperczyk S. Cytokines related to three major types of cell-mediated immunity in short- and long-term exposures to lead compounds. *J Immunotoxicol.* 2016; doi: 10.1080/1547691X.2016.1184360. **[IF 2,020, MNiSW 20]**
2. **Dobrakowski M**, Boroń M, Czuba ZP, Birkner E, Chwalba A, Hudziec E, Kasperczyk S. Blood morphology and the levels of selected cytokines related to hematopoiesis in occupational short-term exposure to lead. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016; 305:111–117. **[IF 3,847, MNiSW 40]**
3. **Dobrakowski M**, Kasperczyk A, Czuba ZP, Machoń-Grecka A, Szlacheta Z, Kasperczyk S. The influence of chronic and subacute exposure to lead on the levels of prolactin, leptin, osteopontin, and follistatin in humans. *Hum Exp Toxicol.* 2016; doi: 10.1177/0960327116658106 **[IF 1,604, MNiSW 20]**
4. **Dobrakowski M**, Kasperczyk A, Pawlas N, Birkner E, Hudziec E, Chwalińska E, Kasperczyk S. Association between subchronic and chronic lead exposure and levels of antioxidants and chemokines. *Int Arch Occup Environ Health.* 2016; 89:1077-85. **[IF 2,061, MNiSW 30]**
5. **Dobrakowski M**, Pawlas N, Hudziec E, Kozłowska A, Mikołajczyk A, Birkner E, Kasperczyk S. Glutathione, glutathione-related enzymes, and oxidative stress in individuals with subacute occupational exposure to lead. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2016; 45:235-240. **[IF 2,187, MNiSW 25]**

**b) omówienie celu naukowego/artystycznego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:**

Narażenie na ołów stanowi jedno z najistotniejszych zagrożeń spotykanych w środowisku pracy. Z uwagi na kowalność, odporność na korozję oraz niską temperaturę topnienia, metal ten stosuje się w różnych gałęziach przemysłu, takich jak produkcja i regeneracja akumulatorów czy lutownictwo. Ołów zaburza funkcję wielu narządów, co skutkuje złożonym obrazem klinicznym zatrucia tym ksenobiotykiem. W dostępnej literaturze ugruntowały się liczne hipotezy tłumaczące potencjalne mechanizmy jego toksycznego oddziaływania na organizm człowieka, wciąż nie zostały one jednak ostatecznie zweryfikowane. Z tego względu za niezbędne należy uznać przeprowadzenie dalszych badań w tym zakresie.

Udowodniono, że ołów posiada wysokie powinowactwo do grup tiolowych (sulfhydrylowych). Wiążąc się z nimi, może zaburzać funkcję wielu enzymów, w tym dehydratazy kwasu delta-aminolewulinowego (ALAD) i ferrochelatazy. Oba te enzymy biorą udział w biosyntezie hemu. Dlatego też wywołana działaniem ołowiu supresja ich aktywności prowadzi do rozwoju anemii, którą między innymi manifestuje się pełnoobjawowa postać ołowicy. Więcej kontrowersji budzi zdolność ołowiu do indukcji stresu oksydacyjnego. Postuluje się, że w obecności jonów ołowiu dochodzi do nasilenia syntezy reaktywnych form tlenu (RFT), jednakże dokładny mechanizm ich powstawania nie został określony. Lepiej natomiast poznane są interakcje ołowiu z układem antyoksydacyjnym. Metal ten osłabia działanie zarówno nieenzymatycznych antyoksydantów, jak i enzymów antyoksydacyjnych. Indukowana w ten sposób nierównowaga pomiędzy uwalnianiem reaktywnych form tlenu i ich utylizacją prowadzi do stresu oksydacyjnego, a ten z kolei – do powstawania oksydacyjnych uszkodzeń wszystkich elementów strukturalnych komórek. Inny mechanizmem toksycznego oddziaływania ołowiu na organizm człowieka wiąże się z jego zdolnością do modyfikacji funkcji układu immunologicznego. Wielu autorów podaje, że omawiany ksenobiotyk wpływa na syntezę cytokin i zaburza funkcję limfocytów. Wykazuje także zdolność do stymulowania odpowiedzi zapalnej poprzez indukcję ekspresji czynników prozapalnych, takich jak czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukina 6 (IL-6), czy IL-1 $\beta$ .

W związku z poprawą warunków pracy i działaniami profilaktycznymi pełnoobjawowa ołowica stanowi obecnie rzadkie rozpoznanie w krajach rozwiniętych. Maksymalne dopuszczalne stężenie ołowiu we krwi u pracowników płci męskiej zawodowo narażonych na ten metal wynosi aktualnie w Polsce 50 µg/dl. Przestrzeganie tej normy nie oznacza jednak eliminacji wszystkich negatywnych skutków zdrowotnych ekspozycji, gdyż według najnowszych doniesień nie istnieje wartość „bezpiecznego” stężenia ołowiu we krwi, a toksyczne oddziaływanie jego niskich dawek (<10 µg/dl) manifestuje się zaburzeniem funkcji nerek, układu krwiotwórczego, nerwowego i sercowo-naczyniowego.

W ciągu ostatnich dziesięcioleci przeprowadzono liczne analizy mające na celu określić zależność pomiędzy stopniem ekspozycji na ołów a jej skutkami zdrowotnymi u ludzi (relacja dawka-efekt). Natomiast znacznie mniej wiadomo o roli, jaką odgrywa czas trwania narażenia. Prace dotyczące ludzi zawodowo narażonych na ołów ograniczają się zazwyczaj do ekspozycji przewlekłej, gdyż pracownicy rzadko poddawani są ekspozycji krótkoterminowej. Wcześniejsze publikacje, których jestem współautorem jako członek zespołu badawczego, także traktują o przewlekłym narażeniu zawodowym. Z myślą o ich kontynuacji i rozszerzeniu podjąłem się próby oceny wybranych aspektów toksycznego oddziaływania ołowiu na organizm człowieka zarówno w narażeniu krótko- jak i długoterminowym (przewlekłym), skupiając się na skutkach narażenia krótkoterminowego. Natomiast przeprowadzona przeze mnie analiza skutków narażenia przewlekłego stanowi uzupełnienie wcześniejszych prac. Do badania włączyłem pracowników płci męskiej zatrudnionych w warunkach ekspozycji krótkoterminowej przez  $40 \pm 3$  dni (zgodnie z sugestiami recenzentów narażenie to było w poszczególnych pracach określane również jako podostre albo podprzewlekłe) oraz długoterminowej przez  $13 \pm 10$  lat (narażenie określane w opublikowanych pracach również jako przewlekłe). Analiza objęła wybrane parametry charakteryzujące odpowiedź immunologiczną, wskaźniki morfologii krwi w korelacji z czynnikami hematopoetycznymi, a także stężenia wybranych hormonów, pro- i antyoksydantów. Oznaczenia biochemiczne wykonywane były we krwi pełnej, homogenatach erytrocytów i leukocytów, a także w osoczu i surowicy.

Zakłada się, że ołów wpływa zarówno na humoralną, jak i komórkową odpowiedź immunologiczną. Limfocyty  $CD4^+$  pomocnicze ( $T_H$ ) stanowią szczególnie wrażliwą na toksyczne oddziaływanie ołowiu subpopulację komórek. Ze względu na funkcję dzieli się je na podtypy. Limfocyty  $T_H1$  odpowiadają za regulację odpowiedzi komórkowej, której

aktywacja wymaga także udziału cytokin, takich jak interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-2 i IL-12. Odpowiedź humoralna natomiast zależy od limfocytów  $T_H2$  oraz IL-4, IL-5, and IL-13. Wyniki badań na zwierzętach oraz badań *in vitro* sugerują, że ołów hamuje proliferację limfocytów  $T_H1$  i jednocześnie aktywuje odpowiedź  $T_H2$ -zależną. Tego rodzaju zaburzenie równowagi pomiędzy oboma typami odpowiedzi immunologicznej potencjalnie obniżałoby odporność na zakażenia niektórymi patogenami, a także mogłoby stanowić czynnik spustowy dla rozwoju chorób o podłożu autoimmunologicznym i nadwrażliwości alergicznej. Przyniesione wyżej wyniki prac eksperymentalnych nie zostały jednoznacznie zweryfikowane w badaniach przeprowadzonych na ludziach. Podobnie nieznanym jest wpływ ołowiu na odpowiedź immunologiczną zależną od limfocytów  $T_H17$ , które biorą udział w obronie przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybiczej. Wobec powyższego postanowiłem zbadać, jak krótko- i długoterminowe narażenie na ołów modyfikuje stężenia cytokin powiązanych z funkcją limfocytów  $T_H1$  (INF- $\gamma$ , IL-2, IL-12),  $T_H2$  (IL-4, IL-5, IL-13) oraz  $T_H17$  (IL-17A) (*publikacja nr 1*). Przeprowadzona analiza pokazała, że krótkoterminowa ekspozycja nie wpływa na badane typy odpowiedzi immunologicznej. Natomiast długoterminowe narażenie wywołało wzrost stężeń wszystkich badanych cytokin. Obserwacje te nie potwierdzają postulowanego przez autorów badań eksperymentalnych wybiórczego działania ołowiu na poszczególne typy odpowiedzi immunologicznej u ludzi.

Ołów może modyfikować funkcję układu odpornościowego nie tylko poprzez interakcje z cytokinami, lecz także poprzez wpływ na receptory, zależne od receptorów kinazy tyrozynowej, białka G, a także enzymy uczestniczące w sygnalizacji komórkowej. Wszystkie te mechanizmy potencjalnie skutkują zaburzoną różnicowaniem się i proliferacją komórek, co może przekładać się na zmiany w obrazie morfologii krwi spowodowane zaburzoną hematopoezą. Dlatego też w kolejnej publikacji (*publikacja nr 2*) uznałem za zasadne zbadanie, w jaki sposób krótkoterminowe narażenie na ołów wpływa na parametry morfologii krwi i stężenia wybranych cytokin wpływających na hematopoezę u ludzi [IL-7, IL-9, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF), czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF), czynnik wzrostu komórek pnia (SCF), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), cząsteczka adhezyjna komórek śródbłonna i płytek krwi 1 (PECAM-1)]. Wyniki przeprowadzonych analiz pokazały, że krótkoterminowa ekspozycja na ołów skutkuje spadkiem stężenia hemoglobiny niewykraczającym poza przyjęte normy. Nie

zaobserwowałem natomiast obniżenia się liczby erytrocytów, co może wynikać ze zbyt krótkiego czasu narażenia w stosunku do średniej długości życia krwinki czerwonej. Biorąc pod uwagę, równoczesny spadek stężeń SCF, HGF, G-CSF i PDGF – czynników odpowiedzialnych między innymi za erytropoezę – należy spodziewać się, że gdyby czas obserwacji został wydłużony, oddziaływanie ołowiu na populację erytrocytów byłoby znamienne. W omawianej pracy wykazałem ponadto, że krótkoterminowe narażenie na ołów wiąże się ze wzrostem liczby białych krwinek (w granicach normy), co pośrednio przemawiałoby za jego prozapalnymi właściwościami. Oprócz wzrostu liczby leukocytów, stwierdziłem zmianę proporcji pomiędzy poszczególnymi ich rodzajami. Modyfikacje te mogą stanowić rezultat interferencji ołowiu z cytokinami, w tym G-CSF, IL-7, HGF i PECAM-1. Na podstawie przeprowadzonych analiz wykazałem również, że podniesionej liczbie białych krwinek towarzyszy wzrost liczby trombocytów. Pozostałe parametry płytkowe, takie jak rozpiętość rozkładu objętości płytek krwi (RDW), średnia objętość płytki krwi (MPV) i odsetek dużych płytek krwi (P-LCR), uległy natomiast obniżeniu, co należy uznać za charakterystyczne dla populacji starzejących się płytek krwi. Dlatego też otrzymane wyniki sugerują, że za wzrost liczby trombocytów w krótkoterminowym narażeniu na ołów odpowiada adaptacyjny spadek usuwania starzejących się płytek krwi w odpowiedzi na upośledzoną trombopoezę. Z kolei upośledzenie powstawania trombocytów może wynikać z obniżonego stężenia PDGF.

Indukowana przez ołów modyfikacja odpowiedzi immunologicznej może także wynikać z jego interakcji z hormonami plejotropowymi, takimi jak prolaktyna, leptyna, osteopontyna czy folistatyna, które wykazują między innymi działanie immunomodulujące. Jako że w literaturze dostępne są tylko nieliczne prace na temat wpływu ołowiu na system endokryny, uznałem za zasadne, żeby zbadać, czy istnieje związek pomiędzy krótko- i długoterminowym narażeniem na ten metal a stężeniami wymienionych wyżej hormonów (*publikacja nr 3*). Uzyskane wyniki pokazały, że krótkoterminowe narażenie na ołów nie wykazuje wpływu na badane parametry, natomiast długoterminowe narażenie skutkuje obniżeniem się stężeń prolaktyny, leptyny i osteopontyny. Z uwagi na ich wielokierunkowe działanie, ołów może w ten sposób zaburzać nie tylko odpowiedź immunologiczną, lecz także wiele innych procesów. Przykładowo, prolaktyna bierze udział w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej, wzroście, metabolizmie komórkowym, a także wpływa na pracę mózgu i płodność. Leptyna reguluje łaknienie, produkcję i zużycie zasobów energetycznych,

termogenezę, hematopoezę i angiogenezę, funkcje osteopontyny natomiast obejmują remodeling kości, kalcyfikację, włóknienie i podtrzymanie funkcji życiowych komórek.

Istnieje wiele potencjalnych mechanizmów, które mogą odpowiadać za nasilenie się stresu oksydacyjnego w wyniku zaburzonej odpowiedzi immunologicznej. Najlepiej poznane są zależności pomiędzy zwiększonymi stężeniami cytokin prozapalnych i towarzyszącymi im wzrostami wartości parametrów uszkodzeń oksydacyjnych (głównie peroksydacji lipidów). Na tej podstawie można wnioskować, że obserwowany w ekspozycji na ołów wzrost nasilenia stresu oksydacyjnego może po części wynikać z indukowanych przez ten metal zmian w stężeniach cytokin i chemokin. Wzrost ekspresji cytokin prozapalnych w wyniku toksycznego działania ołowiu należy uznać za dosyć dobrze udokumentowany, natomiast mało wiadomo na temat jego interakcji z chemokinami. Dlatego też zdecydowałem się zbadać, jak krótko- i długoterminowe narażenie na ołów wpływa na stężenie wybranych chemokin [IL-8, eotaksyna, indukowane przez interferon białko 10 kD (IP-10), białko chemotaktyczne monocytów 1 (MCP-1), białko zapalne makrofagów 1 $\beta$  (MIP-1  $\beta$ ) i RANTES (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted)]. Dodatkowo objąłem badaniem stężenia wybranych nieenzymatycznych antyoksydantów, w tym kwasu moczowego, który wykazuje właściwości prozapalne poprzez indukcję ekspresji niektórych chemokin (*publikacja nr 4*). Uzyskane wyniki potwierdziły, że za stres oksydacyjny zarówno w krótko-, jak i długoterminowym narażeniu na ołów mogą między innymi pośrednio odpowiadać chemokiny, a zwłaszcza IL-8. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdziłem ponadto, iż wpływ ołowiu na stężenia IP-10, MCP-1 i MIP-1 $\beta$  w większym stopniu zależy od czasu trwania narażenia niż od dawki pochłoniętego ołowiu. Wykazałem również, że krótkoterminowe narażenie na ołów w sposób analogiczny do narażenia długoterminowego modyfikuje stężenia kwasu moczowego, grup tiolowych, bilirubiny i albuminy. Zaobserwowany wzrost stężenia bilirubiny i kwasu moczowego można interpretować jako efekt działania obronnych mechanizmów adaptacyjnych organizmu skutkujących także wzrostem całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (TAC) osocza. Jednoczesny wzrost wartości parametrów peroksydacji lipidów i spadek stężenia grup tiolowych przemawia jednak za częściową niewydolnością tych mechanizmów, co może być związane z dwojaką rolą, jaką pełni kwas moczowy. Z jednej strony uważa się, że jest on najważniejszym nieenzymatycznym antyoksydantem osocza. Z drugiej jednak strony za dobrze udokumentowane uznaje się jego właściwości pro-oksydacyjne i prozapalne. Dlatego

rola, jaką pełni kwas moczowy w kontekście mechanizmów adaptacyjnych w warunkach ekspozycji na ołów, może zależeć od równowagi oksydo-redukcyjnej danego mikrośrodowiska.

W przeciwieństwie do kwasu moczowego znaczenie glutationu (GSH) jako związku o właściwościach antyoksydacyjnych nie budzi kontrowersji. Trójpeptyd ten klasyfikuje się jako jeden z najważniejszych przeciwutleniaczy ludzkiego organizmu. Posiadając grupę tiolową, może zmiatać reaktywne formy tlenu. Ponadto odgrywa rolę kofaktora enzymów antyoksydacyjnych, takich jak peroksydaza glutationowa (GPx) czy glutationo-S-transferaza (GST). Związane z działaniem ołowiu obniżenie się stężenia glutationu i modyfikacje aktywności enzymów od niego zależnych, a także towarzyszące im podwyższone wartości parametrów oksydacyjnych uszkodzeń lipidów i DNA obserwowano w badaniach eksperymentalnych i na ludziach, głównie przewlekle narażonych pracownikach. Wobec powyższego, podjąłem się próby weryfikacji, czy krótkoterminowe narażenie wywołuje analogiczne efekty (*publikacja nr 5*). Wyniki, jakie otrzymałem, potwierdzają, że krótkoterminowa ekspozycja na ołów skutkuje spadkiem stężenia glutationu i wzrostem wartości całkowitego statusu oksydacyjnego (TOS). Nie ujawnił się natomiast wzrost stężenia dialdehydu malonowego (MDA), drugorzędowego produktu peroksydacji lipidów, który uważa się za podstawowy marker tego procesu. Dane te sugerują, że wzrost wartości całkowitego statusu oksydacyjnego wynika z nagromadzenia się głównie pierwszorzędowych produktów peroksydacji lipidów. W wyniku przeprowadzonych analiz wykazałem ponadto, że badana ekspozycja na ołów nie powoduje obniżenia się wartości całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (TAC) pomimo wspomnianego spadku stężenia glutationu, co może wynikać z adaptacyjnego wzrostu stężeń innych antyoksydantów. Natomiast zaobserwowane równocześnie zmiany w aktywnościach enzymów związanych z glutationem, takich jak reduktaza glutationowa (GR), dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (G6PD) i glutationo-S-transferaza (GST), można interpretować nie tylko jako efekt adaptacji organizmu, lecz także jako efekt bezpośredniego toksycznego oddziaływania ołowiu na centra aktywne enzymów lub ich strukturę i kofaktory. W przeprowadzonym badaniu nie ujawnił się wzrost uszkodzeń DNA mierzony przy pomocy testu kometowego, co przemawiałoby za istnieniem wydolnych w tym zakresie mechanizmów obronnych, które stają się niewystarczające dopiero w narażeniu przewlekłym.



Podsumowując, przedstawiony cykl publikacji można uznać za pierwszą tak szeroką próbę analizy negatywnych skutków zdrowotnych krótkoterminowej ekspozycji na ołów u ludzi. Uzyskane wyniki potwierdzają, że taki rodzaj ekspozycji odpowiada za modyfikacje wartości parametrów morfologii krwi, stężeń cytokin odpowiedzialnych między innymi za hematopoezę, a także stężeń chemokin oraz antyoksydantów, co w konsekwencji powoduje nasilenie się stresu oksydacyjnego. Ponadto przeprowadzone przeze mnie badania pokazały różnice pomiędzy negatywnymi skutkami krótko- i długoterminowej ekspozycji na ołów, zwłaszcza w zakresie jej wpływu na odpowiedź immunologiczną, stężenia poddanych analizie hormonów i wartości parametrów oksydacyjnych uszkodzeń lipidów i DNA.

Przeprowadzone badania pokazały ponadto, że krótkoterminowe narażenie na ołów, niespełniające kryteriów ostrego zatrucia tym metalem, należy traktować jako szkodliwe dla zdrowia w nie mniejszym stopniu niż narażenie przewlekłe, zwłaszcza jeżeli eksponowani pracownicy nie przestrzegają zasad higieny i bezpieczeństwa pracy. Dlatego istotne jest zwrócenie uwagi na adekwatną edukację pracowników w kwestiach związanych z toksycznością ołowiu. Co więcej, uzyskane wyniki zachęcają do dyskusji nad rewizją obowiązujących norm narażenia i rozszerzeniem biomonitoringu osób narażonych o nowe parametry, w tym obejmujące ocenę funkcji układu odpornościowego i odzwierciedlające nasilenie stresu oksydacyjnego.

#### **5. Przebieg kształcenia i pracy zawodowej oraz omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych:**

W roku 2004 rozpocząłem studia medyczne na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. W roku 2010 ukończyłem je z wynikiem bardzo dobrym. Podczas studiów w roku 2006 uzyskałem III miejsce w Ogólnopolskim Konkursie Wiedzy Biochemicznej „Superhelisa”. Ponadto otrzymałem następujące stypendia: stypendium Województwa Śląskiego za wybitne osiągnięcia w nauce dla studentów w roku 2008, stypendium Prezydenta Miasta Gliwice dla studentów w roku 2008, oraz stypendia Ministra Zdrowia za osiągnięcia w nauce na rok akademicki 2008/2009 i 2009/2010. W latach 2006-2010 byłem członkiem Studenckiego Towarzystwa Naukowego (STN) Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, należąc do Koła Naukowego przy Zakładzie Biochemii Ogólnej Katedry Biochemii (obecnie Katedra i Zakład Biochemii) Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. W okresie tym pełniłem

funkcję zarówno Wiceprzewodniczącego Zarządu STN (2008-2009), jak i Przewodniczącego Zarządu STN (2009-2010). Ponadto, będąc współautorem doniesień zjazdowych, zdobyłem 9 nagród za najlepsze ustne prezentacje prac na studenckich konferencjach naukowych.

Następnie w latach 2010-2011 odbywałem staż podyplomowy w 106. Szpitalu Wojskowym z Przychodnią SP ZOZ w Gliwicach. W roku 2011 rozpocząłem specjalizację w ramach rezydentury z zakresu radiologii i diagnostyki obrazowej w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym nr 1 im. Prof. Stanisława Szyszko Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. W roku 2011 rozpocząłem również studia doktoranckie na Wydziale Lekarskim z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Ukończyłem je w styczniu 2015 obroną rozprawy doktorskiej (z wyróżnieniem) pt. „Wolnorodnikowe uszkodzenia DNA i stres oksydacyjny w leukocytach pracowników zawodowo narażonych na oddziaływanie ołowiu i jego związków”.

W roku 2015 po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych rozpocząłem pracę jako adiunkt w Katedrze i Zakładzie Biochemii Wydziału Lekarskiego z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, gdzie kontynuuję działalność naukowo-dydaktyczną.

Na mój dorobek naukowy, poza opisanym wyżej cyklem publikacji, składają się prace, które można podzielić na trzy grupy tematyczne.

#### 1) Prace dotyczące toksyczności ołowiu u ludzi.

Jako członek zespołu uczestniczyłem w szeregu badań na populacji pracowników przewlekle narażonych na oddziaływanie pyłów ołowiu. Skoncentrowałem się na stresie oksydacyjnym oraz na nowych metodach prewencji i terapii przewlekłego zatrucia ołowiem. Udowodniłem, że narażenie na ołów wywołuje wzrost wartości parametrów uszkodzenia DNA (*Olewińska E et al. Ann Agric Environ Med. 2010; 17:231-6; Dobrakowski M et al. Hum Exp Toxicol. 2016; doi: 10.1177/0960327116665674*) i peroksydacji lipidów. Zaobserwowałem ponadto, że wykazane nasilenie peroksydacji lipidów skutkuje wzrostem lepkości krwi oraz zaburzoną odkształcalnością erytrocytów i ich nieprawidłową agregacją (*Kasperczyk A et al. Clin Hemorheol Microcirc. 2014; 56:187-95*). Przeprowadzone badania pokazały również, że narażenie na ołów może przyspieszać procesy starzenia się nie tylko

poprzez nasilony stres oksydacyjny, lecz także poprzez szybsze niż fizjologiczne skracanie się telomerów (Pawlas N et al. *Toxicol Ind Health*. 2015; doi: 10.1177/0748233715601758).

Uczestniczyłem także w badaniach nad mechanizmami toksycznego działania ołowiu ze szczególnym uwzględnieniem jego zdolności pro-oksydacyjnych. Z jednej strony pokazałem, że ołów indukuje powstawanie reaktywnych form tlenu pośrednio poprzez stymulowanie wzrostu stężenia homocysteiny, która także wykazuje działania pro-oksydacyjne (Kasperczyk S et al. *Ann Agric Environ Med*. 2013; 20:721-5), oraz poprzez wzrost aktywności oksydazy ksantynowej będącej źródłem anionorodnika ponadtlenkowego (Kasperczyk S et al. *Med. Pracy*. 2013; 64:175-180). Z drugiej strony potwierdziłem zdolność ołowiu do zaburzania antyoksydacyjnych mechanizmów obronnych. Wykazałem bowiem, iż modyfikuje on ekspresję i aktywności enzymów antyoksydacyjnych, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) czy peroksydaza glutationowa (GPx), u zawodowo narażonych pracowników (Kasperczyk A et al. *Toxicology*. 2012; 301:79-84). W kolejnych pracach udało się zademonstrować niekorzystny wpływ ołowiu na nieenzymatyczne antyoksydanty (Dobrakowski et al. *Med Pracy*. 2014; 65:443-51), w tym także glutation oraz związane z nim enzymy (Kasperczyk A et al. *Toxicol Ind Health*. 2015; 31:1318-24). Stwierdziłem ponadto, że ołów może również indukować stres oksydacyjny poprzez interakcje z mikroelementami, które pełnią funkcję kofaktorów enzymów antyoksydacyjnych lub też stają się pro-oksydantami (miedź i żelazo) w zależności od warunków panujących w danym mikrośrodku (Kasperczyk A et al. *Biol Trace Elem Res*. 2012; 150:49-55; Pawlas N et al. *Biol Trace Elem Res*. 2016; 170:1-8).

Kolejny etap badań stanowiły prace mające na celu zbadanie, czy trzymiesięczne doustne podawanie antyoksydantów – N-acetylocysteiny (NAC),  $\beta$ -karotenu i  $\alpha$ -tokoferolu – przeciwdziała negatywnym skutkom narażenia na ołów w kontekście parametrów stresu oksydacyjnego. N-acetylocysteina podawana w trzech różnych dawkach – 200, 400 i 800 mg dziennie – obniżała wartości parametrów stresu oksydacyjnego w zależności od zastosowanej dawki, normalizowała aktywności enzymów antyoksydacyjnych we krwi (Kasperczyk S et al. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014; 37:638-47), a także regulowała metabolizm glutationu (Kasperczyk S et al. *Clin Toxicol (Phila)*. 2013; 51:480-6). Co więcej, wzrost stężenia  $\alpha$ -tokoferolu i spadek stężenia homocysteiny można uznać za kolejne korzystne efekty badanej interwencji (Kasperczyk S et al. *Ann Agric Environ Med*. 2014; 21:272-7; Kasperczyk S et al. *Toxicol Ind Health*. 2016; 32:1607-18). Podobnie jak N-acetylocysteina,  $\beta$ -karoten podawany

w dawce 10 mg na dzień wykazywał działanie antyoksydacyjne, redukował poziom homocysteiny, a także podnosił stężenie glutationu i  $\alpha$ -tokoferolu (*Kasperczyk S et al. Med Pr. 2014; 65:309-16; Kasperczyk S et al. Toxicol Appl Pharmacol. 2014; 280:36-41*). Natomiast podawanie  $\alpha$ -tokoferolu w dawce 200 mg dziennie nie potwierdziło jej działania protekcyjnego postulowanego przez autorów badań eksperymentalnych (*Kasperczyk S et al. Environ Toxicol Pharmacol. 2016; 43:175-81; Kasperczyk S et al. Arch Environ Occup Health. 2016; 27:1-6*).

2) Prace dotyczące roli błony maziowej w patogenezie choroby zwyrodnieniowej stawów (OA) oraz reumatoidalnego zapalenia stawów (RA).

W dostępnej literaturze brakuje prac na temat potencjalnej roli, jaką może odgrywać błona maziowa w rozwoju chorób układu ruchu. Dlatego też – pracując w zespole – za przedmiot badań obrałem błonę maziową pobraną od pacjentów chorych na chorobę zwyrodnieniową stawów i reumatoidalne zapalenie stawów podczas zabiegu endoprotezoplastyki stawu biodrowego lub kolanowego. Pierwszy etap prac stanowiło opracowanie oryginalnej metodyki przygotowania błony maziowej do badań biochemicznych (*Dobrakowski M et al. Chirurgia Kolana, Artroskopia, Traumatologia Sportowa. 2009; 6:21-28*). Następnie wykazałem, że aktywność metaboliczna błony maziowej jest niższa niż narządów mięsnych, takich jak wątroba czy nerka (*Dobrakowski M et al. Chirurgia Kolana, Artroskopia, Traumatologia Sportowa. 2010; 7: 33-38*). Dalsze badania pokazały, że zarówno choroba zwyrodnieniowa stawów, jak i reumatoidalne zapalenie stawów skutkują modyfikacjami aktywności enzymów antyoksydacyjnych w poddanych analizie homogenatach błon maziowych. Obserwacja ta pośrednio potwierdza udział stresu oksydacyjnego w patomechanizmach obu schorzeń. Uzyskane wyniki sugerują ponadto znacznie przyspieszony obrót białkowy w błonach maziowych pobranych od pacjentów chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (*Fitowska A et al. Pol Orthop Traumatol. 2012; 77:21-26; Hapeta B et al. Pol Orthop Traumatol. 2012; 77:53-58*). Przeprowadzone analizy wskazują na znaczącą rolę błony maziowej w rozwoju zarówno choroby zwyrodnieniowej stawów oraz reumatoidalnego zapalenia stawów i stanowią punkt wyjścia do dalszych badań w tym zakresie.

3) Prace dotyczące wpływu wybranych metali na jakość nasienia u mężczyzn.

Niepłodność męską uznaje się za narastający problem społeczny. Istnieje wiele czynników, które potencjalnie zaburzają płodność mężczyzn, w tym stres oksydacyjny. Z jednej strony metale przejściowe, takie jak miedź czy żelazo, odpowiadają za jej utrzymanie. Z drugiej jednak strony mogą także stanowić źródło reaktywnych form tlenu i generować stres oksydacyjny, podobnie jak metale ciężkie, a w tym ołów. Ksenobiotyki te wpływają ponadto na funkcję układu odpornościowego, zaburzają wiele procesów enzymatycznych i wchodzi w interakcje z makro- i mikroelementami. Jako że opublikowano niewiele prac na temat wpływu metali na płodność mężczyzn, zespół badawczy, którego jestem członkiem, podjął się próby jej analizy w korelacji z wybranymi parametrami biochemicznymi plazmy nasienia. Badanie objęło stężenia makro- i mikroelementów, aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz stężenia parametrów peroksydacji lipidów i interleukin. Grupę badaną stanowili pacjenci poradni andrologicznej bez zdiagnozowanych zaburzeń płodności. Uzyskane wyniki sugerują, że wyższe poziomy makro- i mikroelementów, a zwłaszcza żelaza, w plazmie nasienia mogą skutkować obniżoną ruchliwością plemników, wzrostem stresu oksydacyjnego, obniżeniem się aktywności enzymów antyoksydacyjnych, a także wzrostem stężeń cytokin prozapalnych (*Kasperczyk A et al. J Trace Elem Med Biol. 2015; 30:153-9; Kasperczyk A et al. Ann Agric Environ Med. 2016; 23:292-6*). Z drugiej strony, przeprowadzone analizy pokazały, że cynk i wapń wpływają korzystnie na ruchliwość plemników, regulując równowagę oksydo-redukcyjną oraz odpowiedź immunologiczną (*Kasperczyk A et al. Environ Med. 2014; 17:34-40; Kasperczyk A et al. Ann Agric Environ Med. 2016; 23:138-43*). Wyniki badań nie potwierdziły natomiast zależności pomiędzy stężeniem magnezu a spermogramem u płodnych mężczyzn (*Kasperczyk A et al. Magnes Res. 2015; 28:14-22*). Podobnie środowiskowe narażenie na ołów nie modyfikowało standardowych parametrów nasienia. Okazało się jednak wystarczające, ażeby wywołać znamienne wzrost stresu oksydacyjnego i wpłynąć na parametry odzwierciedlające funkcję mechanizmów obrony antyoksydacyjnej (*Kasperczyk A et al. Toxicol Appl Pharmacol. 2015; 284:339-44*).

Podsumowując, jestem współautorem publikacji o łącznym współczynniku oddziaływania IF=55.887 według listy Journal Citation Reports (liczba cytowań moich publikacji według bazy Web of Science: 87; Indeks Hirscha według bazy Web of Science: 6).

Dane dotyczące publikacji zestawilem w dwóch tabelach.

**Zestawienie dorobku naukowego:**

	Cykl publikacji (osiągnięcie naukowe)			Pozostały dorobek			Łączny dorobek		
	liczba prac	IF	KBN/MNiSW	liczba prac	IF	KBN/MNiSW	liczba prac	IF	KBN/MNiSW
I.A. Artykuły oryginalne opublikowane w recenzowanych czasopismach posiadających "impact factor"	5	11,719	135	24	44,168	537	29	55,887	672
I.B. Artykuły oryginalne opublikowane w recenzowanych czasopismach bez "impact factor"				7	0	53	7	0	53
III.B. Prace poglądowe w czasopismach bez "impact factor"				1	0	5	1	0	5
SUMA	5	11,719	135	32	44,168	575	37	55,887	730

**Kolejność współautorstwa publikacji artykułów oryginalnych (bez suplementów):**

	Pierwszy lub jedyny autor	Drugi autor	Pozostałe miejsce
Cykl publikacji (osiągnięcie naukowe)	5	0	0
Pozostały dorobek	5	17	10
<b>Łączny dorobek</b>	<b>10</b>	<b>17</b>	<b>10</b>
Łącznie - tylko artykuły oryginalne z "impact factor" wg punktu I.A.	7	16	6

**Zestawienie dorobku przed i po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych:**

	Dorobek przed uzyskaniem stopnia doktora	Dorobek po uzyskaniu stopnia doktora
Liczba prac	20	17
Wartość "impact factor"	21,487	34,4
KBN/MNiSW	315	415

Za osiągnięcia naukowe trzykrotnie otrzymałem nagrodę Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego (2013, 2014, 2015).

Jestem promotorem pomocniczym wszczętego przewodu doktorskiego w roku 2015 mgr Anny Machoń-Greckiej o tytule: „Cytokiny i czynniki proangiogenne u pracowników zawodowo narażonych na oddziaływanie ołowiu i jego związków”

Dnia, 06.09.2016