

AUTOREFERAT

Opis dorobku i osiągnięć naukowych

dr Marta Kicia

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej

Wydział Lekarski

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wrocław, 2019

Spis treści

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 ze zm.).....	4
4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego	4
4.2 Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 Ustawy (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa).....	4
4.3 Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	6
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.....	19
5.1 Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora.....	19
5.2 Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora	23
6. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy krajowej i międzynarodowej	31
6.1 Udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych.....	31
6.1.1 Udział w organizacji konferencji	35
6.2 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych.....	35
6.3 Współpraca naukowa z instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi w kraju i za granicą.....	36
6.4 Recenzowanie manuskryptów publikacji w czasopismach międzynarodowych lub krajowych	38
6.5 Kierowanie i udział w projektach badawczych	38
6.6 Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną.....	40

6.7 Działalność dydaktyczno-wychowawcza i popularnonaukowa	41
6.8 Praca na rzecz Uczelni.....	43

1. Imię i nazwisko

Marta Kicia

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania

- 2011 doktor nauk biologicznych w zakresie biotechnologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski; praca doktorska pt.: **”Strategia odwrotnej genetyki w badaniach funkcji mitochondrialnych proteaz typu AAA u *Arabidopsis thaliana*”** wykonana w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki, promotor prof. dr hab. Hanna Jańska;
- 2005 magister biotechnologii ze specjalnością biologia molekularna, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski; praca magisterska pt.: **”Przygotowanie roślin transgenicznych z wyciszonym genem jądrowym kodującym białko mitochondrialne”** wykonana w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki, promotor prof. dr hab. Hanna Jańska;
- 2003 licencjat z biotechnologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Wrocławski; praca licencjacka pt.: **”Potranskrypcyjne wyciszanie genów”** wykonana w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki, promotor prof. dr hab. Hanna Jańska.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 2014-obecnie adiunkt w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wrocław, Polska;
- 2009-2014 asystent w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wrocław, Polska;
- od 2013** kierownik Pracowni Biologii Molekularnej w Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej;
- 2005-2011 doktorantka w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski;
- 2002-2005 wolontariuszka i magistrantka w Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski.

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

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Charakterystyka pozajelitowych zarażeń mikrosporydiami u pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie i pacjentów z przewlekłym stanem zapalnym

Podstawę habilitacji stanowi cykl czterech monotematycznych prac opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR w latach 2014-2018. Łączny IF opublikowanych prac z cyklu habilitacyjnego zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **21.604**, suma punktów MNiSW/KBN za ww. publikacje zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **145**. We wszystkich pracach jestem pierwszym autorem.

Oświadczenia współautorów znajdują się w załączniku 7.

4.2 Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 Ustawy (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

[P-1] Kicia M, Wesolowska M, Jakuszko K, Kopacz Z, Sak B, Květonova D, Krajewska M, Kváč M. Concurrent infection of the urinary tract with *Encephalitozoon cuniculi* and *Enterocytozoon bieneusi* in a renal transplant recipient. **J Clin Microbiol.** 2014; 52(5): 1780-2. doi: 10.1128/JCM.03328-13.

IF: 3.993, Pkt. MNiSW/KBN: 35.00

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji pracy i zaprojektowaniu postępowania eksperymentalnego; wykonaniu charakterystyki molekularnej *Encephalitozoon* spp. oraz *Enterocytozoon bieneusi* w materiale od pacjenta (izolacja DNA, wykonanie nested-PCR, przygotowaniu materiału do sekwencjonowania); analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników; przygotowaniu manuskryptu oraz jego korekcie po recenzjach; kierowaniu projektem naukowym obejmującym badania opisane w pracy; występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 75%.

[P-2] Kicia M, Wesolowska M, Kopacz Z, Jakuszko K, Sak B, Květonová D, Krajewska M, Kváč M. Prevalence and molecular characteristics of urinary and intestinal microsporidia infections in renal transplant recipients. **Clin Microbiol Infect.** 2016; 22(5): 462.e5-9.

IF: 5.292, Pkt. MNiSW/KBN: 40.00

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji pracy i zaprojektowaniu postępowania eksperymentalnego; wykonaniu charakterystyki molekularnej *Encephalitozoon* spp. oraz *Enterocytozoon bieneusi* w materiale od pacjentów (izolacja DNA, wykonanie nested-PCR, przygotowanie materiału do sekwencjonowania); analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników (Tabele 1 i 2); przygotowaniu manuskryptu oraz jego korekcie po recenzjach; kierowaniu projektem naukowym obejmującym badania opisane w pracy; występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

[P-3] Kicia M, Szydłowicz M, Cebulski K, Jakuszko K, Piesiak P, Kowal A, Sak B, Krajewska M, Hendrich AB, Kváč M, Kopacz Ż: Symptomatic respiratory *Encephalitozoon cuniculi* infection in renal transplant recipients. **Int J Infect Dis.** 2018; DOI: 10.1016/j.ijid.2018.10.016.

IF: 3.202, Pkt. MNiSW/KBN: 25.00

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji pracy i zaprojektowaniu postępowania eksperymentalnego; wykonaniu charakterystyki molekularnej *Encephalitozoon* spp. oraz *Enterocytozoon bieneusi* w materiale od pacjentów (izolacja DNA, wykonanie nested-PCR, rozdziałów elektroforetycznych, przygotowanie materiału do sekwencjonowania); analizie mikroskopowej barwionych preparatów; analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników (Tabele 1 i 2); przygotowaniu manuskryptu oraz jego korekcie po recenzjach; kierowaniu projektem naukowym obejmującym badania opisane w pracy; występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

[P-4] Kicia M, Wesolowska M, Kopacz Z, Kváč M, Sak B, Sokulska M, Cebulski K, Hendrich AB, Pozowski A. Disseminated infection of *Encephalitozoon cuniculi* associated with osteolysis of hip periprosthetic tissue. **Clin Infect Dis.** 2018; 67(8): 1228-34.

IF: 9.117, Pkt. MNiSW/KBN: 45.00

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji pracy i zaprojektowaniu postępowania eksperymentalnego; wykonaniu charakterystyki molekularnej *Encephalitozoon* spp. w materiałach pobranych od pacjentów (izolacja DNA, wykonanie nested-PCR, rozdzielów elektroforetycznych, przygotowanie materiału do sekwencjonowania); przygotowaniu preparatów do analizy mikroskopowej (immunofluorescencja bezpośrednia); analizie, opracowaniu i przedstawieniu uzyskanych wyników (Tabela 1, Rysunek 2); przygotowaniu manuskryptu oraz jego korekcie po recenzjach; występowaniu w charakterze autora korespondencyjnego.

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

4.3 Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**Wprowadzenie i cel naukowy przeprowadzonych badań**

Mikrosporydia są grupą obligatoryjnych wewnątrzkomórkowych patogenów mogących zarażać większość gatunków bezkręgowców i kręgowców (1). W najnowszej klasyfikacji taksonomicznej, na podstawie molekularnej analizy filogenetycznej stwierdzono, że mikrosporydia są spokrewnione z grzybami (2). Występują w postaci jednokomórkowych spor, których rozmiar i kształt różnią się w zależności od gatunku (1). W drodze przystosowania do obligatoryjnego pasożytnictwa wewnątrzkomórkowego doszło u mikrosporydiów do znacznej redukcji genomu i utraty komponentów komórkowych typowych dla innych eukariontów, jak mitochondria, aparat Golgiego czy peroksosomy (3).

Ze względu na szeroki rezerwuuar zoonotyczny oraz dużą odporność na działanie czynników środowiskowych, spory tych patogenów są szeroko rozpowszechnione w środowisku. Spośród 15 gatunków inwazyjnych dla człowieka największe znaczenie kliniczne mają mikrosporydia z rodzaju *Encephalitozoon* (*E. cuniculi*, *E. hellem*, *E. intestinalis*) oraz *Enterocytozoon bieneusi*. Spory tych gatunków są wydalane wraz z kałem, moczem lub płwociną zarażonych żywicieli, dlatego też do zarażenia dochodzi na drodze pokarmowej, poprzez spożycie wody lub żywności zanieczyszczonej sporami, rzadziej poprzez inhalację spor wraz z kurzem. W pierwszej kolejności dochodzi do zarażenia enterocytów nabłonka jelita cienkiego, stąd najczęstszym objawem mikrosporydiozy jest biegunka.

U osób immunokompetentnych infekcja *Encephalitozoon* spp. i *E. bieneusi* często ogranicza się do przewodu pokarmowego i występuje w postaci łagodnej i samoograniczającej się

biegunki, lub zarażenia bezobjawowego. Ponadto, zwłaszcza w przypadku *E. cuniculi* i *E. hellem*, infekcja może obejmować również układ moczowy (4, 5). Według badań przeprowadzonych wśród osób immunokompetentnych ekspozycja na mikrosporydia jest powszechna wśród zdrowej populacji (6). Niemniej jednak, zarażenie w tej grupie najczęściej występuje w postaci asymptotycznej. Objawowe zarażenia dotyczą głównie pacjentów z zaburzeniami odporności i u tych pacjentów w mikrosporydiozie jelitowej biegunka może mieć przebieg chroniczny i prowadzić do zaburzeń wchłaniania a nawet śmierci pacjenta. Stąd mikrosporydia są uznawane za patogeny oportunistyczne. Ponadto, u tych pacjentów częściej obserwuje się zarażenia pozajelitowe i mikrosporydiozę rozsianą, zwłaszcza w przypadku gatunków z rodzaju *Encephalitozoon*. Podczas gdy infekcje *E. bienersi* najczęściej są ograniczone do przewodu pokarmowego i dróg żółciowych, gatunki z rodzaju *Encephalitozoon* wykazują tendencję do występowania w układzie moczowym, oddechowym, centralnym układzie nerwowym i gałkach ocznych (1, 4, 7). Do tej pory mikrosporydia identyfikowano w komórkach nabłonkowych, śródbłonka, fibroblastach, makrofagach i astrocytach (5). Objawy kliniczne mikrosporydiozy rozsianej są niespecyficzne i do tej pory obserwowano zapalenie rogówki i spojówki, zapalenie mózgu, zapalenie oskrzelików, zapalenie zatok, zapalenie nerek, zapalenie cewki moczowej, zapalenie wątroby i zapalenie otrzewnej (8). U pacjentów z ciężką immunosupresją w wyniku infekcji mikrosporydialnej może dojść nawet do śmierci.

Zainteresowanie tą grupą patogenów wzrosło wraz z początkiem pandemii AIDS, kiedy to biegunki związane z mikrosporydiozą dotyczyły głównie pacjentów zakażonych HIV i ta grupa pacjentów była uważana za najważniejszą grupę ryzyka zarażeń mikrosporydiami i rozwoju mikrosporydiozy. Obecnie coraz więcej notuje się przypadków zarażeń tymi patogenami wśród pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie, stąd podkreśla się, że zwłaszcza biorcy przeszczepów i pacjenci leczeni onkologicznie stanowią nową grupę ryzyka zarażeń mikrosporydiami. Ponadto, ze względu na długotrwałe przyjmowanie farmakologicznych środków o działaniu immunosupresyjnym w celu zapobiegania odrzuceniu przeszczepu, biorcy narządów są grupą szczególnie narażoną na reaktywację zarażenia latentnego i rozwój mikrosporydiozy rozsianej. Niemniej jednak, istniejące badania dotyczą głównie prevalencji mikrosporydii wśród pacjentów zakażonych HIV/chorych na AIDS lub immunokompetentnych (6, 9), brakuje natomiast doniesień charakteryzujących zarażenia u innych pacjentów z dysfunkcją układu immunologicznego. Ponadto, mikrosporydia nie są uwzględniane w rutynowej diagnostyce

pacjentów z zaburzoną odpornością, a istniejące dane dotyczące częstości zarażeń i ich charakterystyki są niedoszacowane.

Celem badań stanowiących podstawę cyklu habilitacyjnego była charakterystyka zarażeń *Encephalitozoon* spp. oraz *E. bieneusi* wśród pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie (głównie biorcy przeszczepu nerki) oraz pacjentów z przewlekłym stanem zapalnym, jako innej grupy potencjalnie narażonej na reaktywację latentnej infekcji mikrosporydialnej. Charakterystyka obejmowała zarówno ocenę prewalencji patogenów, ich analizę filogenetyczną, jak również porównanie stanu klinicznego pacjentów zarażonych i nie zarażonych. Materiał biologiczny stanowił kał, mocz, lub materiał pobrany z dróg oddechowych (popłuczyny oskrzelowe, płwocina), czy też w przypadku pacjentów z przewlekłym stanem zapalnym, tkanka okołoprotezowa lub fragmenty torebki stawowej i błony maziowej. W celu identyfikacji infekcji w każdym z materiałów biologicznych stosowano metody molekularne. Całkowite DNA izolowano za pomocą komercyjnie dostępnych zestawów odczynnikowych po uprzedniej homogenizacji mechanicznej materiału. Wyizolowane DNA przechowywano w temperaturze -20°C do czasu przeprowadzania dalszego postępowania. W nested-PCR amplifikowano fragment sekwencji genu 16S rRNA, całą sekwencję ITS (internal transcribed spacer) oraz fragment sekwencji genu 5.8S rRNA zarówno *E. bieneusi* jak i *Encephalitozoon* spp. stosując odpowiednio pary starterów EBITS3/EBITS4 lub ITS580F/ITS580R w pierwszej reakcji oraz EBITS1/EBITS2.4 lub MSP3/MSP4A w drugiej reakcji (10, 11). W każdej amplifikacji stosowano kontrolę negatywną (woda destylowana) oraz pozytywną (DNA wyizolowane ze spor *E. cuniculi* genotyp III oraz *E. bieneusi* genotyp CZ3). Produkty PCR sekwencjonowano w obu kierunkach stosując metodę sekwencjonowania Sangera. Sekwencje nukleotydowe były edytowane za pomocą programu ChromasPro 2.1.5 i porównywane ze sobą oraz z sekwencjami referencyjnymi z GenBank przy użyciu MAFFT version 7. Analizy filogenetyczne były wykonane przy użyciu oprogramowania MEGA6 a drzewa filogenetyczne konstruowano na podstawie metody największej zgodności (maximum likelihood, ML). W przypadku potwierdzonej obecności mikrosporydialnego DNA obecność spor mikrosporydiów była potwierdzana za pomocą metod mikroskopowych (barwienia za pomocą Calcofluor M2R, znakowanie przeciwciałami w bezpośredniej immunofluorescencji).

Do porównania danych jakościowych pomiędzy pacjentami pozytywnymi i negatywnymi na obecność mikrosporydiów stosowano testy zgodności chi-kwadrat lub Fishera natomiast do porównania danych ciągłych test t-Studenta.

Wyniki

W przypadku mikrosporydiozy rozsianej i infekcji pozajelitowych najczęstszym miejscem występowania mikrosporydiów, zwłaszcza z rodzaju *Encephalitozoon*, jest układ moczowy. Zidentyfikowanie zarówno *Encephalitozoon* spp. jak i *E. bieneusi* w moczu u osób immunokompetentnych sugeruje, że może dojść do rozprzestrzenienia się mikrosporydiów do układu moczowego nawet pomimo prawidłowo działającej odporności wrodzonej i nabytej (6). U pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie istnieje zatem realne ryzyko reaktywacji mikrosporydiów i rozwoju objawowej mikrosporydiozy. W przypadku biorców przeszczepu nerki może dojść wtedy do gorączki, zmniejszenie ilości wydalanego moczu, białkomoczu i mikrohematurii, a w konsekwencji do niewydolności nerek. Podobne objawy były obserwowane u pacjenta opisanego w publikacji **P-1**. Pacjent został przyjęty do Katedry i Kliniki Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej z powodu gorączki, biegunki, nudności i zmniejszenia wydalania moczu. W wyniku analizy kału i moczu pacjenta na obecność mikrosporydiów, infekcję potwierdzono jedynie w moczu, przy czym zidentyfikowano zarówno *E. cuniculi* (genotyp II), jak i *E. bieneusi* (genotyp D). Po obniżeniu dawki leków immunosupresyjnych oraz po wdrożeniu dodatkowego leczenia objawy ustąpiły, a w kontrolnym badaniu potwierdzono jedynie *E. bieneusi* (genotyp D) w osadzie moczu. Jest to pierwszy opis jednoczesnego zarażenia *E. cuniculi* (genotyp II) oraz *E. bieneusi* (genotyp D) u biorcy przeszczepu nerki.

Opisane wyniki jednoznacznie wskazywały na konieczność podjęcia nie tylko analizy prewalencji mikrosporydiów w układzie moczowym biorców przeszczepu nerki, ale również szczegółowej analizy filogenetycznej zidentyfikowanych patogenów. Jak dotąd nie ma doniesień dotyczących częstości występowania i charakterystyki mikrosporydiów w układzie moczowym w tej grupie pacjentów a nasze badania są pierwszymi tego typu.

Analizie poddano osady moczu oraz kał pobrane od 86 biorców przeszczepu nerki (**P-2**). Obecność mikrosporydialnego DNA potwierdziliśmy u 22 spośród 86 badanych pacjentów (25.5%), przy czym wyższą prewalencję zanotowano w moczu niż w kale, odpowiednio na poziomie 86% (19/22) i 45.5% (10/22). U 32% zainfekowanych pacjentów (7/22) mikrosporydia zidentyfikowano zarówno w moczu, jak i w kale (Tabela 1, **P-2**). Zgodnie z dotychczasowymi badaniami, częstość występowania mikrosporydiów w przewodzie pokarmowym wśród biorców przeszczepu nerki (12) i w innych grupach pacjentów z immunosupresją (13) wynosi odpowiednio 5.8% i 17%. W naszych badaniach prewalencja tych patogenów w kale jest porównywalna (11.6%). Wyższa prewalencja w moczu natomiast potwierdza dużą predylekcję mikrosporydiów do układu moczowego.

Większość pacjentów, 59% (13/22), było zarażonych wyłącznie przez *E. cuniculi* (genotyp II), natomiast 23% (5/22) wyłącznie przez *E. bieneusi* (genotyp D), przy czym wyższa prewalencja *E. cuniculi* dotyczyła zarówno moczu jak kału. Ponadto u 18% (4/22) pacjentów stwierdzono ko-infekcję obydwoma gatunkami (Tabela 1, **P-2**). Biorąc pod uwagę materiał badany, ko-infekcje potwierdzono tylko w moczu pacjentów (16%, 3/19).

E. cuniculi jest gatunkiem mikrosporydiów wykazującym skłonność do występowania w nerkach, co może tłumaczyć wyższą prewalencję infekcji mikrosporydialnej w moczu. Biorąc pod uwagę fakt, że u większości pacjentów z infekcją zlokalizowaną w jelicie obserwowano też infekcję w układzie moczowym, biorcy przeszczepu nerki, u których w kale zidentyfikowano mikrosporydia, zwłaszcza z rodzaju *Encephalitozoon*, powinni być poddawani bardziej szczegółowej diagnostyce, ze względu na duże ryzyko rozwoju mikrosporydiozy rozsianej. Potwierdzenie obecności mikrosporydiów u pacjentów będących nawet kilka dni po przeszczepieniu nerki sugeruje ponadto, że należy brać pod uwagę również przeniesienie patogenów wraz z przeszczepianym narządem. Transmisja mikrosporydiów wraz z przeszczepianym organem została wprost udowodniona w przypadku 3 biorców przeszczepu organów (14) i 2 dzieci po przeszczepieniu nerki (15).

Należy podkreślić, że infekcja mikrosporydialna w nerkach, nawet jeśli jest asymptotyczna, może prowadzić do białkomoczu i niewydolności nerek, zatem niezdiagnozowane infekcje u pacjentów po przeszczepieniu nerki mogą powodować upośledzenie lub nawet utratę funkcji przeszczepionego narządu.

Biorąc pod uwagę wysoką prewalencję mikrosporydiów wśród biorców przeszczepu nerki, zwłaszcza w układzie moczowym, zdecydowaliśmy się sprawdzić również występowanie tych patogenów w układzie oddechowym, gdyż jest on kolejnym, po układzie moczowym miejscem infekcji w przypadku mikrosporydiozy pozajelitowej. Wynika to z faktu, że do infekcji układu oddechowego może dojść zarówno na drodze inhalacji spor mikrosporydiów wraz z kurzem, jak i na skutek przeniesienia spor drogą hematogenną ze źródła zarażenia w innym miejscu w organizmie i rozwoju mikrosporydiozy rozsianej. Wszystkie znane dotychczas przypadki infekcji mikrosporydialnej z udziałem układu oddechowego u ludzi dotyczą pacjentów z obniżoną odpornością, zarówno na skutek infekcji HIV, jak i farmakoterapii. Do tej pory potwierdzono 5 takich przypadków u pacjentów z HIV/AIDS (16) oraz 7 u biorców przeszczepów (17–23), przy czym, jeżeli była prowadzona analiza gatunkowa/genotypowa, w pierwszej grupie pacjentów stwierdzano wyłącznie infekcje *E. bieneusi*, natomiast w drugiej niemal wyłącznie *E. cuniculi*. Jak dotąd zarażenie *E. bieneusi* w układzie oddechowym u biorcy przeszczepu zostało opisane jedynie przez nasz

Zespół u pacjentki po przeszczepie komórek hematopoetycznych (23). Wśród objawów najczęściej obserwowano duszność, postępujące skrócenie oddechu, wysięk płynu do jamy opłucnej i uporczywy kaszel, natomiast wśród zmian w obrazie radiologicznym płuc obustronne nacieki śródmiąższowe i/lub obszary zagęszczeń o typie matowej szyby oraz zmiany zapalne. Na uwagę zasługuje fakt, że u biorców przeszczepów objawy te były bardziej nasilone niż u pacjentów zakażonych HIV/chorych na AIDS a pacjenci, których nie poddano leczeniu zmarli na skutek niewydolności krążeniowej i ostrej niewydolności oddechowej. Doniesienia te wyraźnie wskazują na konieczność prowadzenia badań zmierzających do oceny częstości występowania i charakterystyki mikrosporydiów w układzie oddechowym w tej grupie pacjentów.

W naszych badaniach sprawdziliśmy obecność mikrosporydiów w płwocinie pobranej od 72 biorców przeszczepu nerki (wszyscy poddani leczeniu immunosupresyjnemu) oraz w popłuczynach oskrzelowych pobranych od 105 pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego (11 pacjentów poddanych leczeniu immunosupresyjnemu) (**P-3**). Dodatkowo, przy okazji innych badań, od dwóch biorców przeszczepu nerki pobrano popłuczyny oskrzelowe, a od jednego płyn z jamy opłucnej. Obecność mikrosporydialnego DNA potwierdziliśmy u 8.3% (6/72) biorców przeszczepu nerki oraz u 1.9% (2/105) pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego. W wyniku analizy filogenetycznej wykazano obecność *E. cuniculi* (genotyp II) u wszystkich pacjentów po przeszczepie i jednego pacjenta z chorobami układu oddechowego, natomiast u drugiego z nich potwierdzono *E. bienewsi* (genotyp D). Wśród biorców przeszczepu nerki, u których oprócz płwociny analizowano dodatkowe materiały z dróg oddechowych, u dwóch pacjentów potwierdzono obecność *E. cuniculi* – u jednego w popłuczynach oskrzelowych, a u drugiego w płynie z jamy opłucnej. Próbkę płwociny natomiast były negatywne. Żaden z pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego, u których potwierdzono mikrosporydia, nie był poddany leczeniu immunosupresyjnemu, co może wskazywać, że rodzaj i/lub czas trwania takiej terapii może mieć wpływ na rozwój mikrosporydiozy rozsianej lub zwiększenie podatności na infekcję zlokalizowaną w układzie oddechowym. Faktycznie, w przypadku pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego poddanych leczeniu immunosupresyjnemu podawano jeden rodzaj leku, natomiast wśród 95% biorców przeszczepu nerki taka terapia polegała na podawaniu kombinacji dwóch lub więcej leków (Tabele 1 i 2, **P-3**). Niemniej jednak, wyjaśnienie zaobserwowanych różnic wymaga przeprowadzenia dalszych badań z uwzględnieniem większej grupy pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego poddanych leczeniu immunosupresyjnemu.

Ponieważ w ramach naszych badań analizie poddawano jedynie materiał pobrany z dróg oddechowych, nie jest jasne, czy zarażenie nastąpiło poprzez inhalację, czy też doszło u pacjentów do rozprzestrzenienia się patogenów drogą hematogenną z innego miejsca w organizmie. U większości pacjentów potwierdziliśmy zarażenie *E. cuniculi*, zatem biorąc pod uwagę fakt, że gatunek ten występuje powszechnie wśród osób immunokompetentnych (6) oraz że w przypadku infekcji chronicznej płuca, obok nerek, są miejscem, w którym infekcja utrzymuje się najdłużej (24, 25), nie jest wykluczone, że doszło do reaktywacji i rozsiania patogenów z miejsca pierwotnej infekcji.

Jak dotąd, materiałem biologicznym, w którym identyfikowano mikrosporydia były wydzieliny z nosa, płwocina, aspirat tchawiczo-oskrzelowy, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe oraz bioptat płuca (19, 20, 22, 26). Wyniki naszych badań wskazują, że płwocina może być materiałem stosowanym w diagnostyce infekcji mikrosporydialnych u pacjentów po przeszczepie w przypadku, gdy materiał biologiczny pobierany za pomocą metod inwazyjnych, jak popłuczyny oskrzelowe, jest niedostępny. Jednakże potwierdzenie infekcji w popłuczynach oskrzelowych i płynie z jamy opłucnej u pacjentów, u których w płwocinie nie znaleziono mikrosporydiów wskazuje, że analiza płwociny może być niewystarczająca a prevalencja mikrosporydiów wśród biorców przeszczepu nerki w naszych badaniach może być niedoszacowana.

Prawidłowe zdiagnozowanie mikrosporydiozy na podstawie obserwacji objawów jest trudne, gdyż zarówno w przypadku infekcji rozsianej do różnych narządów, jak również infekcji zlokalizowanej miejscowo w układzie oddechowym, są one niespecyficzne. Z drugiej strony konieczność diagnozy podkreśla fakt, że infekcje mikrosporydialne, zwłaszcza dotyczące układu oddechowego, mogą być letalne. Do tej pory pokazano, że u biorców narządów w przypadku zarażeń zlokalizowanych w jelicie, głównym objawem jest ostra i uporczywa biegunka, natomiast w przypadku infekcji rozsianych, występuje głównie gorączka (27, 28). W naszych badaniach pokazaliśmy, że u pacjentów z infekcją mikrosporydialną zlokalizowaną w jelicie i układzie moczowym gorączka o nieznannej etiologii oraz biegunka występują statystycznie istotnie częściej niż u pacjentów nie zarażonych (Tabela 2, **P-2**). Również w przypadku układu oddechowego objawy takie jak uporczywy kaszel, duszność, postępujące skrócenie oddechu, śródmiąższowe zapalenie płuc, zespół ostrej niewydolności oddechowej i zmętnienia śródmiąższowe, jak również nacieki widoczne na zdjęciu RTG klatki piersiowej były obserwowane istotnie częściej u biorców przeszczepu nerki zarażonych niż u nie zarażonych mikrosporydiami (Tabele 1 i 2, **P-3**). Diagnostykę dodatkowo utrudnia fakt, że w układzie oddechowym mogą występować także

inne infekcje oportunistyczne, np. *Pneumocystis jirovecii*, jak to miało miejsce u jednego z naszych pacjentów.

Potwierdzone przez nas ko-infekcje dwoma różnymi rodzajami mikrosporydiów, zwłaszcza w przypadku zarażeń układu moczowego u biorców przeszczepu nerki, wyraźnie wskazują na konieczność dokładnej analizy filogenetycznej mikrosporydiów zidentyfikowanych u pacjentów. Znaczenie właściwej diagnozy dodatkowo podkreśla fakt, że leczenie infekcji mikrosporydialnych jest zależne od rodzaju zidentyfikowanych patogenów. Najwyższą kliniczną skuteczność w leczeniu zarażeń mikrosporydialnych u ludzi wykazują albendazol i fumagillina (29, 30). Albendazol jest stosowany powszechnie w leczeniu zarażeń występujących w jelicie, układzie oddechowym oraz mikrosporydiozy rozsianej spowodowanych przez *Encephalitozoon* spp., jest jednak mało skuteczny w leczeniu infekcji *E. bieneusi* (23, 29). W przypadku zarażeń *E. bieneusi* z kolei skuteczniejsze jest leczenie fumagilliną, jednak ze względu na dużą toksyczność tego leku, w wyniku leczenia może dojść do rozwoju efektów ubocznych. Ponadto, u pacjentów z ciężkim upośledzeniem odporności leki te są mało skuteczne, zarówno wobec *Encephalitozoon* spp., jak i *E. bieneusi*. W przypadku pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie polepszenie odporności w wyniku zmniejszenia dawki lub czasowego odstawienia leku immunosupresyjnego może spowodować ustąpienie objawów i eliminację patogenu (27). Taki efekt zaobserwowaliśmy w przypadku jednego z biorców przeszczepu nerki z potwierdzoną ko-infekcją *E. cuniculi* i *E. bieneusi* w moczu, u którego po zmniejszeniu dawki leku immunosupresyjnego doszło do ustąpienia objawów mikrosporydiozy i wyeliminowania jednego z patogenów (**P-1**).

Odrębną grupą pacjentów narażonych na rozwój mikrosporydiozy rozsianej mogą być osoby z przewlekłym stanem zapalnym. Biorąc pod uwagę mechanizm odpowiedzi immunologicznej na infekcję mikrosporydialną i fakt, że mikrosporydia są przenoszone w organizmie w makrofagach/monocytach, aktywność układu immunologicznego wynikająca z reakcji zapalnej może się przyczyniać do łatwiejszego rozsiania infekcji. W naszych badaniach sprawdziliśmy występowanie mikrosporydiów z rodzaju *Encephalitozoon* u pacjentów poddanych artroplastyce rewizyjnej stawu biodrowego z powodu utraty stabilności endoprotezy jako rezultat osteolizy. Osteoliza tkanki okołoprotezowej jest najczęstszą komplikacją po pierwotnej artroplastyce stawu biodrowego i może prowadzić do utraty stabilności stawu i konieczności wykonania artroplastyki rewizyjnej. Proces osteolizy jest wieloczynnikowy, istnieje zatem wiele przyczyn utraty stabilności stawu, które często nie wykluczają się wzajemnie. Najczęściej dochodzi do aseptycznych uszkodzeń mechanicznych

związanych ze zużyciem materiałów na powierzchniach trących endoprotezy. W rezultacie zostaje uruchamiana lokalna odpowiedź zapalna na cząstki ściernalne oraz reakcja alergiczna na jony metali (31–34). Ponadto, wśród czynników mających wpływ na rozwój osteolizy są infekcje, zarówno bakteryjne jak i grzybicze. Taka infekcja może być zarówno pierwotną przyczyną osteolizy, jak również może dojść do rozwoju patogenów w tkance okołoprotezowej zniszczonej na skutek procesów przebiegających w aseptycznym obluzowywaniu implantu. W proponowanych mechanizmach utraty stabilności implantu proponuje się udział drogi aktywacji odpowiedzi zapalnej przez rozpoznanie za pomocą receptorów Toll-like (TLR) cząstek ściernalnych opsonizowanych przez DAMPs (ang. danger associated molecular patterns) i/lub, w przypadku infekcji, rozpoznanie PAMPs (ang. pathogen associated molecular patterns) (34). Ze względu na trudności w diagnostyce infekcji głębokich w tkance okołoprotezowej, infekcyjne przyczyny utraty stabilności implantu są niedoszacowane a patogenezą utraty stabilności stawów biodrowych pozostaje słabo poznana. Biorąc pod uwagę mechanizm rozwoju mikrosporydiozy rozsianej, wysoką prewalencję zarażeń mikrosporydiami wśród osób immunokompetentnych oraz fakt, że infekcja *Encephalitozoon* utrzymuje się u immunokompetentnych gospodarzy i może dojść do jej reaktywacji, istnieje ryzyko rozprzestrzenienia się w miejscu odpowiedzi zapalnej mikrosporydiów, zwłaszcza z rodzaju *Encephalitozoon*. Jak pokazaliśmy w poprzednich badaniach infekcje pozajelitowe są głównie powodowane przez *E. cuniculi*, dlatego też wśród pacjentów po artroplastyce stawu biodrowego analizowano występowanie mikrosporydiów z rodzaju *Encephalitozoon*. Badania przeprowadzono w dwóch grupach pacjentów: 23 pacjentów po całkowitej artroplastyce rewizyjnej stawu biodrowego przeprowadzonej z powodu obluzowywania się endoprotezy jako rezultat okołoprotezowych zmian osteolitycznych (grupa RHA) oraz 30 pacjentów po całkowitej artroplastyce pierwotnej stawu biodrowego (grupa THA, grupa kontrolna). Od wszystkich pacjentów przebadano mocz i kał pobrane bezpośrednio w okresie pooperacyjnym. Dodatkowo, od pacjentów RHA pobrano śródoperacyjnie tkankę okołoprotezową, składającą się z konglomeratu tkanek nekrotycznych z nadmiernym przekrwieniem powstałego na skutek humoralnej odpowiedzi immunologicznej, natomiast od pacjentów THA fragmenty torebki stawowej i błony maziowej.

DNA *Encephalitozoon* spp. zidentyfikowano u 10 spośród 53 pacjentów (18.9%). Spośród nich było 9 pacjentów z grupy RHA, co stanowiło 39% (9/23) pacjentów z tej grupy (Tabela 1, **P-4**) oraz jeden z grupy THA, co stanowiło 3.3% (1/30) pacjentów z tej grupy. U wszystkich tych pacjentów potwierdzono infekcję *Encephalitozoon* w tkance,

a u większości z nich (7/9, 78%) również w moczu. Tylko u jednego pacjenta zidentyfikowano patogeny w kale. We wszystkich próbkach tkanek, w 5 z 9 próbkach moczu oraz w kale potwierdzono występowanie *E. cuniculi* (genotyp II). Dodatkowo w 2 spośród 7 próbkach moczu zidentyfikowano nowy, nieopisany do tej pory *Encephalitozoon* sp. (Rysunek 1A, P-4). Jednocześnie w tkance u tych pacjentów potwierdzono infekcję *E. cuniculi*, co może sugerować, że nowy *Encephalitozoon* sp. wykazuje predylekcję do układu moczowego, niemniej jednak, aby potwierdzić tę tezę, konieczne jest przeprowadzenie bardziej szczegółowej charakterystyki tego patogenu. We wszystkich próbkach tkanek obecność spor potwierdzono za pomocą barwień (Calcofluor M2R) oraz/lub znakowania immunofluorescencyjnego.

Potwierdzenie infekcji *E. cuniculi* w tkance okołoprotezowej u 39% pacjentów ze zdiagnozowaną aseptyczną utratą stabilności stawu biodrowego nasuwa pytanie, czy to infekcja zaindukowała rozwój osteolizy, czy też infekcja nastąpiła w wyniku odpowiedzi immunologicznej na proces aseptycznej destabilizacji implantu, a następnie przyspieszyła rozwój zmian patologicznych. Wiadomo, że odpowiedź na cząstki ścieralne i jony metali w procesie aseptycznej utraty stabilności stawu odbywa się między innymi poprzez aktywację makrofagów, dlatego bardziej prawdopodobne wydaje się, że do rozsiania *Encephalitozoon* spp. doszło na skutek odpowiedzi zapalnej na obecność biomateriałów. Obecność mikrosporydiów w postaci infekcji latentnej u osób immunokompetentnych może stanowić ciągle źródło stymulacji układu immunologicznego i przyczyniać się do rozwoju przewlekłych stanów zapalnych, postępującego niszczenia tkanek i powstania zmian martwiczych (35). W badaniach na zwierzętach pokazano, że po przedostaniu się do śledziony, płuc, nerek i wątroby w początkowej fazie infekcji, w chronicznej fazie zarażenia *E. cuniculi* pozostaje głównie w płucach i nerkach (5, 25). Biorąc pod uwagę ponadto, że wśród naszych pacjentów pomiędzy artroplastyką pierwotną a rewizyjną upłynęło od 7 do 21 lat, najprawdopodobniej doszło do przedostania się *Encephalitozoon* drogą hematogenną z innych miejsc infekcji w organizmie. Zatem obecność mikrosporydiów w tkance u pacjentów z grupy RHA może wynikać z chronicznego stanu zapalnego w tkance okołoprotezowej i ciągłego przepływu zainfekowanych makrofagów. Tak długotrwała aktywność immunologiczna może prowadzić do trwałej aktywacji utajonej infekcji *E. cuniculi*, co też może tłumaczyć, że pacjenci z grupy RHA wydalali mikrosporydia z moczem i kałem znacznie częściej niż pacjenci z grupy THA. Infekcję *Encephalitozoon* zaobserwowano statycznie częściej u kobiet niż mężczyzn co zgodnie z danymi literaturowymi (36) może wynikać z agresywniejszej reakcji układu immunologicznego

kobiet na cząstki ścieralne endoprotez i co za tym idzie łatwiejszego rozprzestrzeniania się infekcji, niemniej jednak postulat ten wymaga przeprowadzenia szerszych badań. Nie zaobserwowano natomiast żadnych korelacji pomiędzy infekcją *Encephalitozoon* a innymi parametrami u pacjentów (wiek, czynniki ryzyka utraty stabilności implantu, czas pomiędzy artroplastyką pierwotną a rewizyjną, materiał budujący implant). U żadnego z pacjentów nie zaobserwowano także objawów wskazujących na mikrosporydiozę (gorączka o nieznaną etiologię, biegunka).

W naszej pracy identyfikujemy po raz pierwszy nową niszę w organizmie gospodarza, która może być zasiedlona przez mikrosorydia z rodzaju *Encephalitozoon* w przypadku infekcji pozajelitowej. Pokazujemy również, że patogeny te powinny być brane pod uwagę obok innych znanych czynników infekcyjnych w diagnostyce u pacjentów z utratą stabilności implantu stawu biodrowego.

Powyższe badania były prowadzone we współpracy zarówno z jednostkami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (**Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej, Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc, Katedra Fizjoterapii; Poradnia Zamiejscowa Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu**) jak i we współpracy międzynarodowej (**Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Czeske Budejowice, Czech Republic**).

Część z powyższych badań było realizowanych w ramach grantu NCN SONATA, nr DEC-2012/05/D/NZ6/00615, którego byłam kierownikiem.

Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych wyników można wysunąć następujące wnioski:

- biorcy przeszczepu nerki, ze względu na długotrwałą immunosupresję indukowaną farmakologicznie, są narażeni na rozsiane infekcje mikrosporydialne, zlokalizowane zarówno w układzie moczowym, jak i oddechowym;
- pacjenci poddani długotrwałemu leczeniu immunosupresyjnemu, zwłaszcza kombinacjami więcej niż jednego leku, są podatni na infekcje mikrosporydialne, zwłaszcza z rodzaju *Encephalitozoon*, zlokalizowane w układzie oddechowym;
- zarówno infekcje mikrosporydialne w układzie moczowym jak i oddechowym u pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie wiążą się z rozwojem objawów;

- obniżenie dawki leków immunosupresyjnych, a co za tym idzie polepszenie kondycji układu immunologicznego, może przyczynić się do ustąpienia objawów i wyeliminowania części patogenów;
- u biorców przeszczepu nerki może dojść do ko-infekcji dwoma gatunkami mikrosporydiów, zwłaszcza w układzie moczowym;
- biorcy przeszczepu nerki powinni być poddani diagnostyce na obecność mikrosporydiów, zwłaszcza w przypadku pojawienia się gorączki o nieznannej etiologii lub objawów ze strony układu oddechowego;
- rozwój stanu zapalnego w tkance okołoprotezowej u pacjentów po artroplastyce stawu biodrowego może wiązać się z aktywacją zarażenia latentnego i ryzykiem rozwoju rozsianej infekcji *Encephalitozoon* spp.;
- badania w grupie pacjentów po artroplastyce stawu biodrowego pokazują po raz pierwszy nową niszę, która może być zasiedlona przez te patogeny poza jelitem;
- infekcja mikrosporydialna może mieć wpływ na rozwój osteolizy w tkance okołoprotezowej i przyczyniać się do destabilizacji implantu stawu biodrowego.

Wpływ na rozwój dyscypliny

Uzyskane przez nas wyniki dostarczają nowych informacji na temat częstości występowania i charakterystyki pozajelitowych infekcji mikrosporydialnych u pacjentów z immunosupresją indukowaną farmakologicznie i pacjentów z przewlekłym stanem zapalnym. Wskazują przede wszystkim na konieczność diagnozowania takich infekcji u biorców przeszczepu nerki, zwłaszcza w układzie moczowym oraz oddechowym, gdyż zarażenia pozajelitowe występują u tych pacjentów częściej niż zarażenia w układzie pokarmowym i mogą wiązać się z rozwojem objawów. Ponadto badania w grupie pacjentów po artroplastyce stawu biodrowego pokazują, że może to być nowa, do tej pory nie brana pod uwagę grupa ryzyka rozwoju rozsianej infekcji mikrosporydialnej. Wyniki te stanowią podstawę do dalszych badań z uwzględnieniem innych nowych grup ryzyka i/lub innych miejsc w organizmie, w których może dojść do rozwoju infekcji mikrosporydialnej.

Literatura:

1. Didier ES, Weiss LM. Microsporidiosis: current status. *Curr Opin Infect Dis*, 2006; 19(5): 485–492.
2. James TY, Pelin A, Bonen L, et al. Shared signatures of parasitism and phylogenomics unite *Cryptomycota* and microsporidia. *Curr Biol*, 2013; 23(16): 1548–1553.
3. Williams BA, Hirt RP, Lucocq JM, Embley TM. A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. *Nature*, 2002; 418: 865–869.

4. Matos O, Lobo ML, Xiao L. Epidemiology of *Enterocytozoon bieneusi* infection in humans. *J Parasitol Res*, 2012;2012:981424.
5. Wasson K, Peper RL. Mammalian microsporidiosis. *Vet Pathol*, 2000; 37(2): 113–28.
6. Sak B, Kváč M, Kučerová Z, Květoňová D, Saková K. Latent microsporidial infection in immunocompetent individuals - a longitudinal study. *PLoS Negl Trop Dis*, 2011; 5(5): e1162.
7. Kotkova M, Sak B, Kvetonova D, Kváč M. Latent microsporidiosis caused by *Encephalitozoon cuniculi* in immunocompetent hosts: a murine model demonstrating the ineffectiveness of the immune system and treatment with albendazole. *PLoS One*, 2013; 8(4): e60941.
8. Didier ES. Microsporidiosis: An emerging and opportunistic infection in humans and animals. *Acta Trop*, 2005; 94(1): 61–76.
9. Lobo ML, Xiao L, Antunes F, Matos O. Microsporidia as emerging pathogens and the implication for public health: a 10-year study on HIV-positive and -negative patients. *Int J Parasitol*, 2012; 42: 197–205.
10. Katzwinkel-Wladarsch S, Lieb M, Helse W, Löscher T, Rinder H. Direct amplification and species determination of microsporidian DNA from stool specimens. *Trop Med Int Health*, 1996; 1(3): 373–378.
11. Buckholt MA, Lee JH, Tzipori S. Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine: An 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. *Appl Environ Microbiol*, 2002; 68: 2595–9.
12. Ghoshal U, Khanduja S, Pant P, et al. Intestinal microsporidiosis in renal transplant recipients: Prevalence, predictors of occurrence and genetic characterization. *Indian J Med Microbiol*, 2015; 33: 357–63.
13. Bednarska M, Bajer A, Siński E, Wolska-Kuśnierz B, Samoliński B, Graczyk TK. Occurrence of intestinal microsporidia in immunodeficient patients in Poland. *Ann Agric Environ Med*, 2014; 21: 244–8.
14. Hocevar SN, Paddock CD, Spak CW, Rosenblatt R, Diaz-Luna H, Castillo I, et al. Microsporidiosis acquired through solid organ transplantation: a public health investigation. *Ann Intern Med*, 2014; 160(4): 213–20.
15. Ladapo TA, Nourse P, Pillay K, et al. Microsporidiosis in pediatric renal transplant patients in Cape Town, South Africa: two case reports. *Pediatr Transplant*, 2014; 18: E220-6.
16. Sodqi M, Brazille P, Gonzalez-Canali G, Cornet M, Piketty C, Weiss L. Unusual pulmonary *Enterocytozoon bieneusi* microsporidiosis in an AIDS patient: case report and review. *Scand J Infect Dis*, 2004; 36(3): 230–1.
17. Kelkar R, Sastry PS, Kulkarni SS, Saikia TK, Parikh PM, Advani SH. Pulmonary microsporidial infection in a patient with CML undergoing allogeneic marrow transplant. *Bone Marrow Transplant*, 1997; 19(2): 179–82.
18. Mohindra AR, Lee MW, Visvesvara G, Moura H, Parasuraman R, Leitch GJ, Xiao L, Yee J, del Busto R. Disseminated microsporidiosis in a renal transplant recipient. *Transpl Infect Dis*, 2002; 4(2): 102–7.
19. Teachey DT, Russo P, Orenstein JM, Didier ES, Bowers C, Bunin N. Pulmonary infection with microsporidia after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2004; 33(3): 299–302.
20. Orenstein JM, Russo P, Didier ES, Bowers C, Bunin N, Teachey DT. Fatal Pulmonary Microsporidiosis Due to *Encephalitozoon cuniculi* Following Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Acute Myelogenous Leukemia. *Ultrastruct Pathol*, 2005; 29(3-4): 269–76.
21. George B, Coates T, McDonald S, Russ G, Cherian S, Nolan J, Brealey J. Disseminated microsporidiosis with *Encephalitozoon* species in a renal transplant recipient, *Nephrology*, 2012; 17: 5–8.
22. Nagpal A, Pritt BS, Lorenz EC, Amer H, Nasr SH, Cornell LD, et al. Disseminated microsporidiosis in a renal transplant recipient: case report and review of the literature. *Transpl Infect Dis*, 2013; 15(5): 526–32.
23. Kicia M, Sędzimirska M, Sak B, Kváč M, Wesółowska M, Hendrich AB, Kopacz Ż. Respiratory microsporidiosis caused by *Enterocytozoon bieneusi* in a HIV-negative hematopoietic stem cell transplant recipient. *Int J Infect Dis*, 2018; doi: 10.1016/j.ijid.2018.07.021.

24. Botterel F, Minozzi C, Vittecoq D, Bourée P. Pulmonary localization of *Enterocytozoon bieneusi* in an AIDS patient: case report and review. *J Clin Microbiol*, 2002; 40: 4800–1.
25. Wagnerová P, Sak B, Květoňová D, Maršálek M, Langrová I, Kváč M. Humoral immune response and spreading of *Encephalitozoon cuniculi* infection in experimentally infected ponies. *Vet Parasitol*, 2013; 197(1-2): 1–6.
26. Özkoç S, Bayram Delibaş S, Akisü Ç. Evaluation of pulmonary microsporidiosis in iatrogenically immunosuppressed patients, *Tuberk Toraks*, 2016; 64(1): 9–16.
27. Galván AL, Sánchez AM, Valentín MA, Henriques-Gil N, Izquierdo F, Fenoy S, del Aguila C. First cases of microsporidiosis in transplant recipients in Spain and review of the literature, *J Clin Microbiol*, 2011; 49(4): 1301–6.
28. Lanternier F, Boutboul D, Menotti J, et al. Microsporidiosis in solid organ transplant recipients: two *Enterocytozoon bieneusi* cases and review. *Transpl Infect Dis*, 2009; 11: 83–8.
29. Costa SF, Weiss LM. Drug treatment of microsporidiosis. *Drug Resist Updat*, 2000; 3(6): 384–99.
30. Champion L, Durrbach A, Lang P, et al. Fumagillin for treatment of intestinal microsporidiosis in renal transplant recipients. *Am J Transplant*, 2010; 10: 1925–30.
31. Hallab NJ, Jacobs JJ. Biologic effects of implant debris. *Bull NYU Hosp Jt Dis*, 2009; 67(2): 182–8.
32. Athanasou NA. The pathobiology and pathology of aseptic implant failure. *Bone Joint Res*, 2016; 5(5): 162–8.
33. Jansen E, Kouri VP, Olkkonen J, et al. Characterization of macrophage polarizing cytokines in the aseptic loosening of total hip replacements. *J Orthop Res*, 2014; 32(9): 1241–6.
34. Konttinen YT, Pajarinen J, Takakubo Y, et al. Macrophage polarization and activation in response to implant debris: influence by “particle disease” and “ion disease”. *J Long Term Eff Med Implants*, 2014; 24(4): 267–81.
35. Yachnis AT, Berg J, Martinez-Salazar A, et al. Disseminated microsporidiosis especially infecting the brain, heart, and kidneys. Report of a newly recognized pansporoblastic species in two symptomatic AIDS patients. *Am J Clin Pathol*, 1996; 106(4): 535–43.
36. Caicedo MS, Solver E, Coleman L, Jacobs JJ, Hallab NJ. Females with Unexplained Joint Pain Following Total Joint Arthroplasty Exhibit a Higher Rate and Severity of Hypersensitivity to Implant Metals Compared with Males: Implications of Sex-Based Bioreactivity Differences. *J Bone Joint Surg Am*, 2017; 99(8): 621–28.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1 Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Pracę naukową w **Zakładzie Biologii Molekularnej Komórki na Uniwersytecie Wrocławskim** pod kierownictwem **prof. dr hab. Hanny Jańskiej** rozpoczęłam jako wolontariusz, będąc w trakcie II roku studiów na kierunku biotechnologia. Moje badania obejmowały charakterystykę funkcji zależnych od ATP mitochondrialnych proteaz typu FtsH (AAA) u *Arabidopsis thaliana*. Białka te są zakotwiczone w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i pełnią dwie przeciwstawne funkcje, zarówno proteolityczną jak i białka opiekuńczego, są zaangażowane w wybiórczą degradację proteomu mitochondrialnego. W mitochondriach *A. thaliana* zlokalizowane są cztery kompleksy proteaz typu AAA,

podzielone na dwie klasy w zależności od topologii w wewnętrznej błonie mitochondrialnej: *m*-AAA (ang. *matrix*), których centra katalityczne są skierowane do macierzy mitochondrialnej (AtFtsH3 i AtFtsH10) oraz *i*-AAA (ang. *intermembrane space*) mające centra katalityczne skierowane do przestrzeni międzybłonowej (AtFtsH4 i AtFtsH11).

W badaniach nad proteazami typu *i*-AAA zastosowałam wyselekcjonowane wcześniej linie mutantów insercyjnych. Ponieważ w przypadku proteaz typu *m*-AAA mutanty tego typu nie były dostępne, realizacja celu badań wymagała utworzenia przeze mnie roślin transgeniczných za pomocą metody interferencji RNA (ang. RNA interference, RNAi), czyli wyciszenia ekspresji genu na poziomie jego transkryptu. W strategii potranskrypcyjnego wyciszania ekspresji wykorzystuje się mechanizm odpowiedzi komórek eukariotycznych na obecność dwuniciowego RNA (ang. dsRNA), polegającą na degradacji homologicznego do niego mRNA. W procesie RNAi u roślin najbardziej efektywne są konstrukcje wektorowe umożliwiające ekspresję fragmentów RNA w postaci odwróconych powtórzeń przedzielonych intronem. W ramach pracy licencjackiej zaplanowałam i zaprojektowałam cztery takie konstrukcje wektorowe w oparciu o wektor binarny pMCG161, zawierające fragmenty sekwencji indukujących wyciszenie różniące się lokalizacją w obrębie genów *AtFtsH3* i *AtFtsH10*. W ramach pracy magisterskiej zostały one przeze mnie wykonane i wykorzystane do produkcji roślin transgeniczných. W rezultacie uzyskałam zarówno mutanty z wyciszoną selektywnie ekspresją genu *AtFtsH3* (dla konstrukcji wektorowych zawierających sekwencje fragmentów 5' i 3' UTR tego genu), jak również z obniżonym poziomem transkryptów obu proteaz *m*-AAA, *AtFtsH3* i *AtFtsH10* (dla konstrukcji wektorowych zawierających sekwencje rejonów zachowawczych obu genów). Dalsze badania pokazały jednakże, że na poziomie białka doszło w mutantach do wzajemnej kompensacji proteaz tworzących kompleks *m*-AAA. Nie zaobserwowałam też wyraźnych zmian morfologiczných ani rozwojowych w mutantach z wyciszoną ekspresją proteaz *m*-AAA w porównaniu do roślin typu dzikiego (ang. wild type, WT).

Głównym tematem badań w ramach mojej pracy doktorskiej była charakterystyka funkcji fizjologicznej proteazy AtFtsH4, jednej z kompleksów *i*-AAA, w oparciu o analizę mutantów inercyjnych *ftsh4 A. thaliana* w różnych warunkach hodowlanych i na różnych etapach wzrostu roślin. Analizy prowadziłam w warunkach fotoperiodu dnia krótkiego (ang. short day, SD/22°C) i ciągłego stresu temperatury podwyższonej do 30°C (ang. long day, LD/30°C) w porównaniu do warunków optymalnych dla wzrostu *A. thaliana*, czyli fotoperiodu dnia długiego i 22°C (LD/22°C). Badania te zmierzały głównie do scharakteryzowania zmian morfologiczných i rozwojowych mutantów *ftsh4* w warunkach

ciągłego stresu temperatury podwyższonej do 30°C jak również wyjaśnienia przyczyn molekularnych zaburzeń morfologicznych i rozwojowych roślin *ftsh4* w warunkach stresu 30°C. Ponadto, na podstawie testów i obserwacji fenotypowych, dokonałam charakterystyki termotolerancji podstawowej i nabytej mutantów. Na podstawie obserwacji procesu kiełkowania pokazałam również, że AtFtsH4 może pełnić ważne funkcje w procesie kiełkowania nasion, gdyż rośliny *ftsh4* wykazują opóźnienie w kiełkowaniu i przechodzeniu do kolejnych stadiów rozwojowych w stosunku do roślin WT, nawet w warunkach optymalnych dla wzrostu.

Przeprowadzone wcześniej przez innych członków Zespołu obserwacje roślin w warunkach SD wykazały znaczące zmiany morfologiczne u mutantów *ftsh4* w porównaniu do WT, polegające głównie na malformacji blaszek liściowych w rozetach. W swoich badaniach zaobserwowałam, że czas pojawienia się tych zmian u mutantów koreluje ze wzrostem poziomu transkryptów *AtFtsH4* u roślin typu dzikiego. Zaobserwowaliśmy ponadto zaburzenia w ultrastrukturze mitochondriów i chloroplastów w liściach roślin *ftsh4* o zmienionej morfologii. Badania te potwierdziły wniosek oparty na wynikach badań przeprowadzonych przez innych członków Zespołu, że AtFtsH4 zapobiega rozwojowi stresu oksydacyjnego pod koniec wzrostu wegetatywnego roślin hodowanych w warunkach łagodnego stresu, jakim jest fotoperiod dnia krótkiego.

W warunkach ciągłego stresu temperatury podwyższonej do 30°C zaobserwowałam u mutantów *ftsh4* podobne zmiany morfologiczne i rozwojowe jak w przypadku hodowli w warunkach SD, jednak były one bardziej nasilone. O udziale AtFtsH4 w ochronie roślin przed stresem oksydacyjnym w tych warunkach hodowlanych świadczy m. in. rosnący poziom reaktywnych form tlenu oraz pogłębianie się zmian fenotypowych i zaburzeń rozwojowych w miarę starzenia się roślin, co może wynikać z akumulacji uszkodzonych w wyniku stresu oksydacyjnego związków/polipeptydów. Efekt ten ma również wpływ na zaburzenia rozwoju w fazie generatywnej i prowadzi do zamierania merystemu kwiatostanowego. Brak AtFtsH4 jest częściowo kompensowany przez uruchomienie obrony antyoksydacyjnej zarówno w mitochondriach (wzrost poziomu transkryptów genów mitochondrialnej odpowiedzi wstecznej oraz regulonu dysfunkcji mitochondriów: *AOX1a*, *UPOX* i *Hsp23.5*) jak i poza nimi (zwiększenie aktywności cytoplazmatycznego enzymu APX), ale tylko na wczesnych etapach wzrostu roślin. W późnej fazie wegetatywnej mechanizmy kompensujące są niewystarczające a niewydolność obrony skutkuje pojawieniem się stresu oksydacyjnego, akumulacją uszkodzeń i prowadzi do dysfunkcji mitochondriów. Dysfunkcja ta wynika najprawdopodobniej z zaburzenia funkcjonowania kompleksu V łańcucha transportu

elektronów, zwłaszcza w warunkach zwiększonej konsumpcji tlenu i zwiększonego przepływu elektronów w łańcuchu w warunkach podwyższonej temperatury, na co wskazują analizy poziomu białka podjednostek wchodzących w skład tego kompleksu oraz jego aktywności. Zatem proteaza AtFtsH4 pośrednio lub bezpośrednio uczestniczy w tworzeniu lub/i stabilizacji tego kompleksu u *A. thaliana*.

Okazuje się, że brak proteazy AtFtsH4 może być kompensowany przez inne białka o aktywności opiekuńczej zlokalizowane w wewnętrznej błonie mitochondrialnej, mianowicie prohibityny (PHB). Zaobserwowaliśmy bowiem znaczny wzrost poziomu białka PHB we wszystkich stadiach rozwojowych i we wszystkich rodzajach liści. Wzrost ten może maskować dysfunkcję mitochondriów w fizjologicznych warunkach wzrostu, w których nie dochodzi do pojawiania się zaburzeń wzrostu i rozwoju *fsh4*. Niemniej jednak, obserwowane zmiany morfologiczne i rozwojowe sugerują, że w warunkach stresu kompensacja ta jest nieefektywna.

Obserwacje procesu kiełkowania w różnych warunkach stresu ciepła pokazały, że ani termotolerancja podstawowa, ani nabyta nie są zaburzone, zatem obserwowane zaburzenia fenotypowe wynikają z długotrwałego narażenia na umiarkowany stres ciepła. Również analizy poziomu białka AtFtsH4 pod wpływem zmian temperatury wskazują, że ekspresja tej proteazy nie podlega regulacji analogicznie do klasycznych białek stresu ciepła.

Okazuje się, że reakcja mutantów *fsh4* na warunki stresowe nie jest ograniczona jedynie do dysfunkcji mitochondriów, ale dotyczy też pozostałych kompartmentów komórki. Zaobserwowaliśmy bowiem zaburzenia w poziomie ekspresji cytoplazmatycznych białek stresu ciepła, m. in. obniżenie poziomu Hsp101 i wzrost poziomu Hsp70. Nasze wyniki w połączeniu z danymi literaturowymi sugerują, że zmiany te mogą mieć źródło w zaburzeniu potencjału wewnętrznej błony mitochondriów, wynikającym z zaburzeń funkcji syntazy ATP i dysfunkcji mitochondriów.

Wyniki moich badań wskazują zatem, że proteaza AtFtsH4 uczestniczy w biogenezie kompleksów łańcucha transportu elektronów oraz w utrzymaniu funkcjonalności mitochondriów *A. thaliana* w warunkach narażenia na umiarkowany czynnik powodujący zmiany metabolizmu mitochondrialnego, prowadzące do stresu oksydacyjnego i wymagające zwiększonej kontroli jakości proteomu w tych organellach.

Wyniki powyższych badań zostały opisane w mojej rozprawie doktorskiej, część z nich została również opublikowana. Część z powyższych badań była realizowana w ramach

grantów KBN (obecnie NCN) o numerach PBZ-KBN-089/P06/2003 i KBN nr: 303350433, w których byłam wykonawcą.

Większość z tych badań została opublikowana:

- Gibala M, **Kicia M**, Sakamoto W, Gola EM, Kubrakiewicz J, Smakowska E, Janska H. The lack of mitochondrial AtFtsH4 protease alters *Arabidopsis* leaf morphology at the late stage of rosette development under short-day photoperiod. *Plant J.* 2009; 59(5): 685-99.
- **Kicia M**, Gola EM, Janska H. Mitochondrial protease AtFtsH4 protects ageing *Arabidopsis* rosettes against oxidative damage under short-day photoperiod. *Plant Signal Behav.* 2010; 5(2): 126-8
- Dolzblasz A, Smakowska E, Gola EM, Sokołowska K, **Kicia M**, Janska H. The mitochondrial protease AtFtsH4 safeguards *Arabidopsis* shoot apical meristem function. *Sci Rep.* 2016; 6: 28315.

Pozostałe wyniki przedstawiono na konferencjach krajowych i zagranicznych.

5.2 Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po zakończeniu studiów doktoranckich i uzyskaniu stopnia doktora rozpoczęłam pracę w **Katedrze i Zakładzie Biologii i Parazytologii Lekarskiej na Uniwersytecie Medycznym** we Wrocławiu. Moja praca naukowo-badawcza obejmuje głównie badania z zakresu parazytologii i dotyczy m.in.:

- charakterystyki zarażeń *Encephalitozoon* spp., *E. bienersi* oraz *Cryptosporidium* spp. u osób immunokompetentnych i pacjentów z immunosupresją;
- oceny prewalencji i charakterystyki zoonotycznych protistów u zwierząt domowych i dziko żyjących;
- charakterystyki prewalencji oraz zróżnicowania genotypowego *Pneumocystis jirovecii* wśród pacjentów z immunosupresją oraz z różnymi chorobami układu oddechowego.

W latach 2010 – 2013 prowadziłam też badania nad wpływem czynników zaburzających podziały komórkowe na domeny kardiolipinowe w komórkach *E. coli*. Ponadto współpracuję z innymi członkami Zespołu Katedry Biologii i Parazytologii Lekarskiej w badaniach z zakresu mikrobiologii, dotyczących głównie porównania wpływu wybranych preparatów roślinnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym na uropatogenne szczepy *Escherichia coli*.

Charakterystyka zarażeń *Encephalitozoon spp.*, *E. bienersi* oraz *Cryptosporidium spp.* u osób immunokompetentnych i pacjentów z immunosupresją

Poza tematyką prac włączonych do cyklu habilitacyjnego badania, w których uczestniczę, dotyczą również charakterystyki występowania oportunistycznych protistów wśród grup pacjentów zarówno immunokompetentnych, jak i z immunosupresją. Jedną z grup badanych byli pacjenci zakażeni HIV/chorzy na AIDS. Badając zarówno mocz, jak i kał potwierdziliśmy w tej grupie zarażenie mikrosporydiami u 34% pacjentów, przy czym wyższą prewalencję zaobserwowaliśmy w moczu niż w kale. Zidentyfikowano dwa gatunki patogenów, *E. bienersi* i *E. cuniculi*, przy czym częstość występowania *E. bienersi* była wyższa zarówno w moczu, jak i w kale pacjentów. Ponadto, u jednej pacjentki cierpiącej z powodu chronicznej biegunki potwierdziliśmy kryptosporydiozę spowodowaną *C. meleagridis*. W wyniku badań wśród osób immunokompetentnych pokazaliśmy natomiast po raz pierwszy zarażenie *Cryptosporidium* hedgehog genotype u człowieka.

Odrębną grupę badaną stanowią dzieci, szczególnie narażone na zarażenie protistami oportunistycznymi, ze względu na ich wyjątkowy status immunologiczny, a ponadto brak prawidłowych nawyków higienicznych i ich bliski kontakt ze zwierzętami. Założenia naszych badań przewidują ocenę prewalencji mikrosporidiów (*E. bienersi*, *Encephalitozoon spp.*), *Giardia intestinalis* oraz *Cryptosporidium spp.* u dzieci nie zakażonych wirusem HIV z dysfunkcjami układu immunologicznego, w tym z pierwotnymi i nabytymi niedoborami immunologicznymi, a także szczegółową charakterystykę molekularną zidentyfikowanych gatunków i genotypów, jak również ocenę ilościową zarażenia w oparciu o metody molekularne. Analizie poddano próbki kału zebrane od pacjentów poddanych allogenicznej transplantacji komórek hematopoetycznych, dzieci z pierwotnymi niedoborami odporności oraz dzieci cierpiących na nieswoiste zapalenie jelit (ang. Inflammatory Bowel Disease, IBD) zarówno przed jak i w trakcie leczenia immunosupresyjnego. Obecność patogenów potwierdzono w materiale pochodzącym od 17.5% dzieci poddanych allogenicznej transplantacji komórek hematopoetycznych, oraz u 10% dzieci z IBD. U wszystkich pozytywnych dzieci po transplantacji oraz u 77.8% dzieci z IBD potwierdzono infekcję *E. bienersi*, natomiast u pozostałych 22.2% dzieci z IBD zidentyfikowano *C. parvum*. Dodatkowo w kale jednego dziecka z IBD zidentyfikowano nowy, nieopisany dotąd u ludzi *Cryptosporidium* horse genotype. Analiza statystyczna ujawniła istotną korelację pomiędzy stosowaniem leczenia immunosupresyjnego a zarażeniem, wskazując na leczenie

immunosupresyjne jako ważny czynnik ryzyka sprzyjający zarażeniu zarówno *E. bienusi* jak i *Cryptosporidium*.

Dodatkową częścią badań jest analiza pozajelitowych zarażeń *Cryptosporidium* spp. Wciąż bowiem niewiele wiadomo na temat kryptosporydiozy płucnej, a patogen ten nadal nie jest brany pod uwagę wśród przyczyn zarażeń układu oddechowego. W naszych badaniach sprawdziliśmy obecność *Cryptosporidium* spp. w popłuczynach oskrzelowych pobranych od pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego. W wyniku niniejszych badań potwierdziliśmy zarażenie *C. baileyi*, dotąd notowanym wyłącznie u ptaków, u immunokompetentnej kobiety z nienowotworowym (łagodnym) guzem płuca prawego. Jest to pierwszy przypadek zarażenia tym gatunkiem *Cryptosporidium* u ludzi.

Badania te były prowadzone we współpracy z jednostkami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (**Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, III Katedra i Klinika Pediatrii, Immunologii i Reumatologii Wieku Rozwojowego, II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc**) oraz współpracy międzynarodowej z **Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic**. Stanowią one podstawę pracy doktorskiej **mgr Żanety Kopacz**, której jestem promotorem pomocniczym.

Większość z tych badań została opublikowana:

- Kváč M, Saková K, Květoňová D, **Kicia M**, Wesołowska M, McEvoy J, Sak B. Gastroenteritis caused by the *Cryptosporidium* hedgehog genotype in an immunocompetent man. J Clin Microbiol. 2014; 52(1): 347-9.
- Wesołowska M, Szostakowska B, **Kicia M**, Sak B, Kvac M, Knysz B. *Cryptosporidium meleagridis* infection: the first report in Poland of its occurrence in an HIV-positive woman. Ann Parasitol. 2016; 62(3): 239-41.
- **Kicia M**, Sędzimirska M, Sak B, **Kváč M**, Wesołowska M, Hendrich AB, Kopacz Ż. Respiratory microsporidiosis caused by *Enterocytozoon bienusi* in a HIV-negative hematopoietic stem cell transplant recipient. Int J Infect Dis. 2018; pii: S1201-9712(18)34482-5.
- Wesołowska M, Rymer W, **Kicia M**, Popiołek M. Concurrent infection of a young tourist by hookworm and *Strongyloides stercoralis* during low budget travel in Southeast Asia. Helminthologia. 2018; 55(2): 166-72.

Pozostałe wyniki są w trakcie publikacji, część z nich została natomiast przedstawiona w postaci doniesień konferencyjnych.

Ocena prewalencji i charakterystyka zoonotycznych protistów u zwierząt domowych i dziko żyjących

Wiele gatunków zwierząt, zarówno domowych, jak i dziko żyjących, może być infekowanych zarówno przez mikrosporydia z rodzaju *Encephalitozoon*, *Enterocytozoon*, *Giardia intestinalis*, jak i wiele gatunków *Cryptosporidium*, stanowiąc potencjalne zagrożenie, zwłaszcza dla osób z immunosupresją. W badaniach prowadzonych we współpracy z **Katedrą Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego** oraz **Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic** pokazaliśmy, że blisko 8% psów i kotów domowych było zarażonych *E. cuniculi* lub *E. bieneusi*. Ponieważ wszystkie zidentyfikowane genotypy były wcześniej opisywane również w przypadku infekcji u człowieka, zwierzęta towarzyszące mogą być potencjalnym źródłem zarażenia tymi patogenami dla ludzi. W przypadku bezpańskich kotów, u których częstość występowania protistów była znacznie wyższa (30%), ryzyko transmisji jest jeszcze większe. Ponadto z badań środowiskowych prowadzonych we współpracy z **Zakładem Parazytologii, Instytutu Genetyki i Mikrobiologii Uniwersytetu Wrocławskiego** wynika, że również zanieczyszczenia odchodami innych zwierząt, w tym wypadku gawronów (*Corvus frugilegus*), mogą być istotnym rezerwuarem mikrosporydiów patogennych dla człowieka.

Część rezultatów została opublikowana w następujących pracach:

- Kvac M, Hofmannova L, Ortega Y, Holubova N, Horcickova M, **Kicia M**, Hlaskova L, Kvetonova D, Sak B, McEvoy J. Stray cats are more frequently infected with zoonotic protists than pet cats. *Folia Parasitol (Praha)*. 2017; 64. pii: 2017.034.
- Piekarska J, **Kicia M**, Wesołowska M, Kopacz Ż, Gorczykowski M, Szczepankiewicz B, Kváč M, Sak B. Zoonotic microsporidia in dogs and cats in Poland. *Vet Parasitol*. 2017; 246: 108-11.
- Perec-Matysiak A, Wesołowska M, Leśniańska K, Buńkowska-Gawlik K, Hildebrand J, **Kicia M**. Survey for zoonotic microsporidian pathogens in wild living urban rooks (*Corvus frugilegus*). *J Eukaryot Microbiol*. 2017; 64(5): 721-24.

Charakterystyka prewalencji oraz zróżnicowania genotypowego *Pneumocystis jirovecii* wśród pacjentów z immunosupresją oraz z różnymi chorobami układu oddechowego

Pneumocystis jirovecii jest jednokomórkowym grzybem lokalizującym się na powierzchni nabłonka płuc u człowieka. Jego obecność u osób z immunosupresją może doprowadzić do rozwoju oportunistycznej choroby, jaką jest pneumocystozowe zapalenie płuc (ang. *Pneumocystis pneumonia*, PcP). Ponadto, u osób immunokompetentnych obserwuje się zakażenia w postaci kolonizacji, które mogą prowadzić do zmian zapalnych, a w konsekwencji do rozwoju chorób płuc. Ponadto zjawisko kolonizacji ułatwia wyodrębnianie się wariantów *Pneumocystis* opornych na farmakologiczne środki profilaktyczne i stanowi rezerwuar grzyba dla osób podatnych na zarażenie. Dlatego też ocenę prevalencji i charakterystykę różnorodności genotypowej *P. jirovecii* prowadzimy w dwóch grupach ryzyka: biorców przeszczepu nerki oraz pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego. W przypadku biorców przeszczepu nerki ryzyko zarażenia wiąże się z długotrwałym przyjmowaniem leków o działaniu immunosupresyjnym, natomiast niektóre choroby płuc wśród pacjentów z drugiej grupy mogą być związane z większym ryzykiem występowania kolonizacji *Pneumocystis*. W wyniku analizy obecności *mtLSU* rRNA *P. jirovecii* w materiałach z dróg oddechowych (popłuczyny oskrzelowe, płwocina) stwierdzono infekcję u 16,2% pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego oraz u 11,1% biorców przeszczepu nerki. Ponadto, stosując metody mikroskopowe z wykorzystaniem znakowania immunofluorescencyjnego, obecność cyst *Pneumocystis* potwierdzono u 8 pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego oraz 3 biorców przeszczepu nerki. Biorąc pod uwagę kryteria ilościowe (liczba obserwowanych cyst) jak i obecność objawów, PcP zaobserwowano tylko u jednego biorcy przeszczepu nerki.

W wyniku analizy czynników ryzyka zarażenia pokazano, że w grupie pacjentów z różnymi chorobami układu oddechowego występuje istotna korelacja pomiędzy stosowaniem leczenia immunosupresyjnego a kolonizacją, natomiast wśród biorców przeszczepu nerki pomiędzy zastosowaniem kombinacji dwóch leków w leczeniu immunosupresyjnym (inhibitorów kalcyneuryny i prednizonu) a kolonizacją. Innym parametrem, który korelował z obecnością *Pneumocystis* u biorców przeszczepu nerki był niższy średni poziom eozynofili, co może świadczyć o tym, że jest to kolejny czynnik ryzyka infekcji tym patogenem.

Charakterystykę różnorodności genotypowej prowadzimy w oparciu o analizę polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (ang. single nucleotide polymorphisms, SNPs) w obrębie wybranych genów: *mtLSU* rRNA, *CYB*, *SOD* i *DHPS*. W obu badanych grupach zidentyfikowano genotypy: a) *mtLSU* rRNA – 1, 2 i 3; b) *CYB* – *CYB* 1, 2, 5, 6, 7 i 8; c) *DHPS* – genotyp 1; d) *SOD* – *SOD* 1 i 2. Korelacja występowania niektórych z tych genotypów z parametrami takimi jak obraz kliniczny pacjenta, czy stosowane leczenie

sugeruje, że pacjenci o szczególnych cechach mogą być bardziej podatni na zarażenie określonymi genotypami *Pneumocystis*, lub też takie szczególne warunki mogą promować powstawanie określonych genotypów grzyba.

Badania te są prowadzone we współpracy z jednostkami **Uniwersytetu Medycznego (Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc, Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej)** oraz we współpracy międzynarodowej z **Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), Universidade Nova de Lisboa w Lizbonie (Portugalia)**. Stanowią one podstawę rozprawy doktorskiej **mgr Magdaleny Szydłowicz (Sokulskiej)**, której jestem promotorem pomocniczym.

Rezultaty powyższych badań zostały opublikowane w pracach:

- Alanio A, Gits-Muselli M, Guigue N, Desnos-Ollivier M, Calderon EJ, Di Cave D, Dupont D, Hamprecht A, Hauser PM, Helweg-Larsen J, **Kicia M**, Lagrou K, Lengerova M, Matos O, Melchers WJG, Morio F, Nevez G, Totet A, White LP, Bretagne S. Diversity of *Pneumocystis jirovecii* Across Europe: A Multicentre Observational Study. EBioMedicine. 2017; 22: 155-63.
- Sokulska M, **Kicia M**, Wesolowska M, Piesiak P, Kowal A, Lobo ML, Kopacz Z, Hendrich AB, Matos O. Genotyping of *Pneumocystis jirovecii* in colonized patients with various pulmonary diseases. Med Mycol. 2017; doi: 10.1093/mmy/myx121.
- Szydłowicz M, Jakuszko K, Szymczak A, Piesiak P, Kowal A, Kopacz Ż, Wesolowska M, Lobo ML, Matos O, Hendrich AB, **Kicia M**. Prevalence and genotyping of *Pneumocystis jirovecii* in renal transplant recipients – preliminary report. Parasitol.Res. 2018. DOI: 10. 1007/s00436-018-6131-0.

Porównanie wpływu wybranych czynników zaburzających podziały komórkowe oraz preparatów roślinnych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym na uropatogenne szczepy *Escherichia coli*

W swoich badaniach z zakresu mikrobiologii sprawdzałam wpływ czynników zaburzających podziały komórkowe, ciprofloksacyny (CIP) i kolistyny, na dystrybucję i morfologię domen kardiolipinowych w błonach komórek *E. coli*. Kardiolipina jest fosfolipidem występującym w błonach mitochondrialnych komórek eukariotycznych i w błonach bakteryjnych. Domeny kardiolipinowe pełnią kluczową funkcję w organizacji błon bakteryjnych, szczególnie w wiązaniu kompleksów białkowych zaangażowanych w procesy komórkowe, takie jak podział komórki lub transport przez błony. W badaniach

wykorzystywałam metodę znakowania lipidów anionowych znacznikiem fluorescencyjnym NAO (10-N-nonyl acridine orange), należącym do grupy barwników akrydynowych. Działanie bakteriobójcze ciprofloksacyny (fluorochinolon) polega na inhibicji bakteryjnych topoiizomeraz, gyrazy DNA i topoiizomerazy IV, a ekspozycja na subinhibicyjne dawki CIP powoduje powstawanie komórek typu filamentów. Kolistyna natomiast (polimyksyna E) indukuje permeabilizację błony bakteryjnej poprzez destabilizację dwu-warstwy lipidowej. W naszych badaniach, wśród bakterii będących pod wpływem działania subinhibicyjnych dawek CIP zaobserwowaliśmy wyraźne perturbacje i/lub nietypowy rozkład domen kardiolipinowych w komórkach typu filamentów. Nie zanotowano natomiast podobnych zmian wśród bakterii traktowanych subinhibicyjnymi dawkami kolistyny, co może świadczyć o tym, że zaburzenia w strukturze błony komórkowej *E. coli* indukowane przez kolistynę mają charakter lokalny i lek ten nie powoduje zmian na poziome domen lipidowych. Badania te były wykonywane w ramach Projektu dla Młodych Naukowców (nr Pbm4) Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, którego byłam kierownikiem.

Celem badań prowadzonych przez innych członków Zespołu, w których uczestniczyłam, było określenie wpływu związków pochodzenia roślinnego na przeżywalność, czynniki wirulencji oraz formowanie biofilmu przez uropatogenny szczep *Escherichia coli*. Analizie poddawano m. in. działanie ekstraktów roślinnych z liści brzozy brodawkowatej (*Betula pendula*), liści pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica*), liści borówki brusznicy (*Vaccinium vitis-idaea*), ziela skrzypu polnego (*Equisetum arvense*), ziela połonicznika nagiego (*Herniaria glabra*) oraz ziela marzanki wonnej (*Galium odoratum*). Inną grupą testowanych związków były triterpeny pentacykliczne - kwasu asjatowy i kwasu ursolowy. W wyniku tych badań pokazano, że zalecane preparaty roślinne w profilaktyce zakażeń układu moczowego zmieniają cechy wirulencji uropatogennych szczepów, w wyniku czego drobnoustroje stają się mniej patogenne. Pokazano, że wybrane triterpeny pentacykliczne posiadają działanie antybakteryjne i co więcej działają synergistycznie z CIP hamując proces tworzenia biofilmu lub ułatwiając jego eradykację z powierzchni cewników.

Część rezultatów została opublikowana w następujących pracach:

- **Kicia M**, Janeczko N, Lewicka J, Hendrich AB. Comparison of the effects of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin and colistin on the morphology of cardiolipin domains in *Escherichia coli* membranes. J Med Microbiol. 2012; 61(Pt4): 520-4.

- Wojnicz D, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, **Kicia M**, Tichaczek-Goska D. Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. Urol Res. 2012; 40(6): 683-97.
- Wojnicz D, **Kicia M**, Tichaczek-Goska D. Effect of asiatic and ursolic acids on morphology, hydrophobicity, and adhesion of UPECs to uroepithelial cells. Folia Microbiol (Praha). 2013; 58(3): 245-52.
- Wojnicz D, Tichaczek-Goska D, **Kicia M**. Pentacyclic triterpenes combined with ciprofloxacin help to eradicate the biofilm formed in vitro by *Escherichia coli*. Indian J Med Res. 2015; 141(3): 343-53.
- Wojnicz D, Tichaczek-Goska D, Korzekwa K, **Kicia M**, Hendrich AB. Study of the impact of cranberry extract on the virulence factors and biofilm formation by *Enterococcus faecalis* strains isolated from urinary tract infections. Int J Food Sci Nutr. 2016; 67(8): 1005-16.
- Wojnicz D, Tichaczek-Goska D, Korzekwa K, **Kicia M**, Hendrich A. Anti-enterococcal activities of pentacyclic triterpenes. Adv Clin Exp Med. 2017; 26(3): 483-90.

Plany przyszłych badań

W swojej dalszej pracy naukowej zamierzam kontynuować badania głównie z zakresu parazytologii, zmierzające do charakterystyki infekcji oportunistycznych w innych grupach ryzyka. Jednym z kierunków tych badań jest charakterystyka infekcji *Pneumocystis* u niemowląt. W ramach tych badań podjęłam współpracę z jednostkami Uniwersytetu medycznego we Wrocławiu oraz ośrodkami w Europie i Ameryce Południowej. Ponadto moim celem jest przeprowadzenie badań zmierzających do wyjaśnienia oddziaływań pomiędzy patogenem, zwłaszcza mikrosporydiami i *Cryptosporidium*, a gospodarzem w szczególności wykorzystując hodowle komórkowe.

Podsumowanie bibliometryczne osiągnięć naukowo-badawczych:

Na mój dorobek naukowy składa się łącznie:

- 26 pełnotekstowych prac naukowych opublikowanych w recenzowanych czasopismach a wśród nich:
 - 19 prac oryginalnych, w tym 18 w czasopismach z IF,
 - 5 opisów przypadków, w tym 4 w czasopismach z IF,
 - 2 prace poglądowe, w tym 1 w czasopiśmie z IF.
- 40 streszczeń konferencyjnych a wśród nich:
 - 24 streszczenia ze zjazdów międzynarodowych,

- 16 streszczeń ze zjazdów krajowych.

W 8 publikacjach pełnotekstowych jestem pierwszym autorem, w 5 drugim autorem, natomiast w 4 ostatnim. Ogólnie w 6 publikacjach jestem autorem korespondencyjnym.

Po wyłączeniu prac składających się na cykl habilitacyjny, **sumaryczny IF** opublikowanych prac pełnotekstowych wynosi **49.249**, natomiast suma punktów **MNiSW/KBN** wynosi **479**.

Zgodnie z rokiem opublikowania, **sumaryczny IF** wszystkich opublikowanych prac wynosi **70.853**, a suma punktów **MNiSW/KBN** wynosi **624**.

Liczba cytowań ogółem wynosi **163**, bez autocytowań **150**, natomiast h-indeks wynosi **7**.

6. Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski oraz informacja o współpracy krajowej i międzynarodowej

6.1 Udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych

Konferencje międzynarodowe:

2007

Paprocka (Kicia) M., Gibala M., Janska H.: RNA silencing of selected members in FtsH proteases gene family in *Arabidopsis thaliana*. FEBS J. 2007 Vol.274 suppl.1; s.83 poz.A4-1. 32nd FEBS Congress "Molecular machines", Vienna, Austria, July, 7-12, 2007.

2010

Smakowska E., **Kicia M.**, Gibala M., Janska H.: Mitochondrial protease, ATFTSH4, is required for arabidopsis growth and development under continual moderate heat stress. FESPB 2010 - XVIII Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology, Valencia, Spain, July 4-9, 2010.

Kicia M., Janeczko N, Lewicka J, Hendrich AB: Unusual antibiotic actions on *E. coli* membrane domains. EMBO Meeting: At the joint edge of cellular microbiology & cell biology. Kraków, Poland, October 09-14, 2010.

2011

Kicia M., Dorota Wojnicz, Zuzanna Sycz, Andrzej B. Hendrich.: The effect of Żuravit SOS on virulence factors and cardiolipin domains morphology of uropathogenic *Escherichia coli* strains. Sepsis 2011 T.4 nr 1; s.112-113; Polish-Ukrainian Weigl Conference "From microbiology to synthetic biology", Wrocław, Poland, May 18-20, 2011.

2012

Kicia M., Kaczmarek M., Kurago J., Hendich AB.: The influence of various agents disturbing cell division process on lipid domains morphology in *Escherichia coli* filamentous cells. FEBS J. 2012

Vol.279 suppl.1; s.570 poz.P27-106; 22nd IUBMB and 37th FEBS Congress. Seville, Spain, September 4-9, 2012.

2014

Wesołowska M., **Kicia M.**, Szetela B., Kopacz Z, Sak B., Rymer W., Szymczak A., Kvetonova D., Bludzin W., Kvac M.: High prevalence of *Encephalitozoon cuniculi* and *Enterocytozoon bieneusi* in stool and urine samples in HIV-positive patients in Lower Silesia Region, Poland. XIII International Workshops on Opportunistic Protists (IWOP-13) & II Conferencia Iberoamericana Sobre Pneumocystosis, Seville, Spain, November 13-15, 2014.

Kicia M., Wesołowska M., Kopacz Z., Sak B., Jakuszko K., Krajewska M., Kvac M.: Microsporidia infection in renal transplant recipients in Poland. XIII International Workshops on Opportunistic Protists (IWOP-13) & II Conferencia Iberoamericana Sobre Pneumocystosis, Seville, Spain, November 13-15, 2014.

2016

Kicia M., Wesołowska M., Kopacz Z., Sak B., Kvetonova D, Jakuszko K., Krajewska M., Kvac M.: Urinary and intestinal microsporidial infections in renal transplant recipients. The 12th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP XII), Turku, Finland, July 20-24, 2016.

Kicia M., Wesołowska M., Kopacz Z., Pozowski A., Sokulska M., Sak B., Kvac M.: Unusual *Encephalitozoon cuniculi* human infection. The 12th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP XII), Turku, Finland, July 20-24, 2016.

Kopacz Z., **Kicia M.**, Wesołowska M., Piesiak P. Sokulska M., Sak B., Kvac M.: Human pulmonary infection caused by *Cryptosporidium baileyi* – case report. The 12th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP XII), Turku, Finland, July 20-24, 2016.

Wesołowska M., **Kicia M.**, Szetela B., Kopacz Z., Sak B., Rymer W., Szymczak A., Kvac M.: *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon cuniculi* co-infection in HIVpositive patients: case report. The 12th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP XII), Turku, Finland, July 20-24, 2016.

Wesołowska M., **Kicia M.**, Szetela B., Kopacz Z., Salamatin R., Rymer W., Szymczak A., Knysz B.: Prevalence of *Blastocystis hominis* among HIV-positive and HIV-negative patients in Poland. The 12th European Multicolloquium of Parasitology (EMOP XII), Turku, Finland, July 20-24, 2016.

Dolzblasz A., Smakowska E., Gola EM., Sokołowska K., **Kicia M.**, Janska H.: What triggers SAM arrest in the *ftsh4* mutants during growth in mildly elevated temperature. Acta Biochim.Pol. 2016 Vol.63 suppl.2; s.60 poz.P7.3. BIO 2016 Congress. Wrocław, Poland, September 13-16, 2016.

Sokulska M., **Kicia M.**, Wesołowska M., Piesiak P., Matos O., Lobo ML., Kopacz Z., Hendrich AB.: *Pneumocystis jirovecii*: a threat for patients with respiratory diseases. XII International Conference "Advances in pneumology". Warsaw, Poland, October 7-8, 2016.

2017

Wesołowska M., Janicki P., Frączkowski M, **Kicia M.**, Kopacz Z., Poniewierka E., Szetela B., Salamatin R.: Diagnosis and subtype analysis of *Blastocystis* isolates from symptomatic and asymptomatic patients in Lower Silesia, Poland. The International Workshops on Opportunistic Protists (IWOP -2017), Cincinnati, Ohio, USA, August 10-12, 2017.

Sokulska M., **Kicia M.**, Wesolowska M., Piesiak P., Kowal A., Matos O., Lobo ML., Kopacz Ż., Hendrich AB.: Prevalence and genotypic characterization of *Pneumocystis jirovecii* among patients with various respiratory diseases in Poland. The International Workshops on Opportunistic Protists (IWOP -2017), Cincinnati, Ohio, USA, August 10-12, 2017.

Kopacz Ż., Wesolowska M., Akutko K., Iwanczak B., Lewandowicz-Uszynska A., Kalwak K., Kvac M., Sak B., Sokulska M., Hendrich AB., **Kicia M.**: Prevalence of microsporidia, *Cryptosporidium* spp. and *Giardia intestinalis* in children with gastrointestinal diseases and different immunological status. The International Workshops on Opportunistic Protists (IWOP -2017), Cincinnati, Ohio, USA, August 10-12, 2017.

Kicia M., Kopacz Ż., Wesolowska M., Kvac M., Sak M., Sokulska M., Cebulski K., Hendrich AB., Pozowski A.: The Disseminated *Encephalitozoon cuniculi* infection in patients with hip implant loosening. The International Workshops on Opportunistic Protists (IWOP -2017), Cincinnati, Ohio, USA, August 10-12, 2017.

2018

Wesolowska M., **Kicia M.**, Kalwak K., Kopacz Ż., Michrowska A., Ussowicz M.: Immunological analysis of Microsporidia infections in children undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation in Poland. 14th International Congress of Parastiology (ICOPA 2018), "Parasites: harms & benefits to animals and humans". Daegu, Korea, August 19-24, 2018.

Kicia M., Szydłowicz M., Wesolowska M., Piesiak P., Kowal A., Lobo ML., Kopacz Ż., Jakuszko K., Szymczak A., Hendrich AB., Matos O.: Prevalence and genetic diversity of *Pneumocystis jirovecii* in different risk groups in Poland. 14th International Congress of Parastiology (ICOPA 2018), "Parasites: harms & benefits to animals and humans". Daegu, Korea, August 19-24, 2018.

Kicia M., Szydłowicz M., Cebulski K., Sak B., Piesiak P., Kowal A., Jakuszko K., Krajewska M., Kváč M., Kopacz Ż.: Microsporidial respiratory tract infections in renal transplant recipients and patients with various respiratory diseases. 14th International Congress of Parastiology (ICOPA 2018), "Parasites: harms & benefits to animals and humans". Daegu, Korea, August 19-24, 2018.

Kopacz Ż., Kváč M., Karpiński P., Sąsiadek MM., Sak B., Leszczyński P., Hendrich AB., **Kicia M.**: *Cryptosporidium meleagridis* infection in colon tissue of patient with adenocarcinoma – first report. 14th International Congress of Parastiology (ICOPA 2018), "Parasites: harms & benefits to animals and humans". Daegu, Korea, August 19-24, 2018.

Kopacz Ż., Akutko K., Iwanczak B., Hendrich AB., Kváč M., Sak B., Wesolowska M., Květoňová D., **Kicia M.**: Prevalence and molecular characteristic of intestinal protists infection among children with Inflammatory Bowel Diseases. 14th International Congress of Parastiology (ICOPA 2018), "Parasites: harms & benefits to animals and humans". Daegu, Korea, August 19-24, 2018.

Konferencje krajowe:

2010

Hendrich AB., **Kicia M.**, Wesolowska O.: Do lipid rafts mediate the drug actions? Curr.Top.Biophys. 2010 Vol.33 suppl.B; s.9-10. XIV Conference of Polish Biophysical Society. Łódź, Poland, September 28-30, 2010.

2012

Wesolowska M., Kalwak K., Gorczyńska A., **Kicia M.**, Dyla A., Kvac M., Sak B.: Analiza immunologiczna przebiegu infekcji pasożytniczych u dzieci poddanych allogeniczej

transplantacji komórek hematopoetycznych. XX Wroclawska Konferencja Parazytologiczna "Specyficzność pasożytów a środowisko", Wrocław - Karpacz, Poland, June 21-23, 2012.

Tichaczek-Goska D., Wojnicz D., **Kicia M.**: Wpływ wyciągów roślinnych stosowanych w polskiej medycynie ludowej na czynniki wirulencji i formowanie biofilmu przez uropatogenny szczep *Escherichia coli*. XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów "Drobnoustroje bez granic". Lublin, Poland, September 5-8, 2012.

2013

Wesołowska M., **Kicia M.**, Misiuk-Hojło M.: Microsporidiosis as a cause of keratoconjunctivitis. Cornea 2013 - V Międzynarodowe Sympozjum "Postępy w diagnostyce i terapii schorzeń rogówki", Wisła, Poland, March 7-9, 2013.

Wesołowska M., Rostkowska K., **Kicia M.**, Kopacz Z., Simon K.: Case of ancylostomiasis in traveller coming from endemic areas. Ann.Parasitol. 2013 Vol.59 suppl.; s.74. The XXIIIth Congress of the Polish Parasitological Society, Szklarska Poręba - Piechowice, September 4-7, 2013.

Wesołowska M., **Kicia M.**, Knysz B., Czajka M., Szetela B., Kopacz Z., Kvač M., Sak B.: Microsporidiosis in HIV-positive patients in Poland. Ann.Parasitol. 2013 Vol.59 suppl.; s.164. The XXIIIth Congress of the Polish Parasitological Society, Szklarska Poręba - Piechowice, September 4-7, 2013.

Kicia M., Kopacz Z., Wesołowska M., Jakuszko K., Kałwak K., Krajewska M., Sak B., Kvetonova D., Kvač M.: The identification of Microsporidia in patients with immunosuppression. Ann.Parasitol. 2013 Vol.59 suppl.; s.159. The XXIIIth Congress of the Polish Parasitological Society, Szklarska Poręba - Piechowice, September 4-7, 2013.

2014

Wesołowska M., **Kicia M.**, Kopacz Z., Szetela B., Sak B., Rymer W., Szymczak A., Błudzin W., Mozer-Lisewska I., Slynko O., Kvac M.: Charakterystyka molekularna mikrosporydiozy u pacjentów żyjących z HIV w populacji dolnośląskiej. VIII Zjazd PTN AIDS, Kraków, Poland, June 12-14, 2014.

Wesołowska M., **Kicia M.**, Kopacz Z., Szetela B., Sak B., Rymer W., Szymczak A., Błudzin W., Mozer-Lisewska I., Slynko O., Kvac M.: Częstość występowania oraz skutki kliniczne infekcji *Blastocystis hominis* u pacjentów zakażonych HIV i chorych na AIDS - analiza wstępna. VIII Zjazd PTN AIDS, Kraków, Poland, June 12-14, 2014.

2016

Sokulska M., **Kicia M.**, Piesiak P., Matos O., Lobo M. L., Kopacz Ż., Wesołowska M.: Evaluation of the prevalence and molecular characterization of *Pneumocystis jirovecii* in patients with a variety of respiratory diseases. Ann. Parasitol. 2016 Vol.62 suppl.; s.175. The XXIVth Congress of the Polish Parasitological Society, Krakow, Poland, September 5-8, 2016.

Piekarska J., **Kicia M.**, Wesołowska M., Kopacz Ż., Gorczykowski M., Sobieraj B., Kvac M., Sak B.: Human-pathogenic microsporidia in household dogs and cats in Wrocław (Poland). Ann. Parasitol. 2016 Vol.62 suppl.; s.124. The XXIVth Congress of the Polish Parasitological Society, Krakow, Poland, September 5-8, 2016.

Wesołowska M., Szetela B., **Kicia M.**, Kopacz Ż., Szymczak A., Sak B., Błudzin W., Mozer-Lisewska I., Slynko O., Kvac M.: Microsporidia prevalence among HIV/AIDS patients in Lower

Silesia, Poland. Ann. Parasitol. 2016 Vol.62 suppl.; s.95. The XXIVth Congress of the Polish Parasitological Society, Krakow, Poland, September 5-8, 2016.

Kicia M., Wesołowska M., Kopacz Ż., Jakuszko K., Krajewska M., Sak B., Kvetonova D, Kvac M.: Occurrence of microsporidial co-infection in renal transplant recipients. Ann. Parasitol. 2016 Vol.62 suppl.; s.82. The XXIVth Congress of the Polish Parasitological Society, Krakow, Poland, September 5-8, 2016.

Kopacz Ż., **Kicia M.**, Wesołowska M., Jakuszko K., Krajewska M., Sak B., Kvetonova D., Kvac M.: The importance of diagnosis of microsporidial infection in the urine of renal transplant recipients. Ann. Parasitol. 2016 Vol.62 suppl.; s.86. The XXIVth Congress of the Polish Parasitological Society, Krakow, Poland, September 5-8, 2016.

Sobieraj B., Piekarska J., **Kicia M.**, Wesołowska M., Kopacz Ż., Gorczykowski M., Sławuta P.: Mikrosporydia u kotów z przewlekłą niewydolnością nerek. XV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych "Per scientiam ad salutem animalium et hominum", Lublin, Poland, September, 22-24, 2016.

2018

Wesołowska M., Frączkowski M., Janicki P., Michrowska A., Poniewierka E., Kopacz Ż., **Kicia M.**, Sałamatin R.: Prevalence of *Blastocystis hominis* in symptomatic and asymptomatic patients in Lower Silesia, Poland. Przegl. Gastroenterol. 2018 Vol.13 supl.1; s.94. XVIII Kongres Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Warszawa, Poland, September 20-22, 2018.

6.1.1 Udział w organizacji konferencji międzynarodowych

- | | |
|------|--|
| 2018 | 4 th International Forum on Medical and Veterinary Parasitology, Wrocław, Poland, October 26-27; |
| 2016 | 3 rd International Forum on Medical and Veterinary Parasitology, Wrocław, Poland, November 18-19; |
| 2015 | 2 nd International Forum on Medical and Veterinary Parasitology, Wrocław, Poland, October 16-17; |
| 2014 | 1 st International Forum on Medical Parasitology, Wrocław, Poland, December 2. |

6.2 Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

2013-obecnie Polskie Towarzystwo Parazytologiczne;

2013-obecnie Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS;

2007-obecnie Polskie Towarzystwo Biochemiczne.

6.3 Współpraca naukowa z instytucjami, organizacjami i towarzystwami naukowymi w kraju i za granicą

Efektem współpracy z jednostkami zagranicznymi i krajowymi są publikacje, projekty i doniesienia konferencyjne zamieszczone w niniejszym autoreferacie.

Współpraca międzynarodowa

- 2018 – obecnie Respiratory Clinical Research Group and Pneumocystis Research Laboratory, University of Chile School of Medicine, **Santiago, Chile**, head prof. Sergio Vargas, MD;
- 2014 – obecnie Group of Opportunistic Protozoa/HIV and Other Protozoa, Unit of Medical Parasitology, Centre for Malaria and Other Tropical Diseases (CMDT), Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), Universidade Nova de Lisboa, **Lizbon, Portugal**, head prof. Olga Matos, MD;
- 2012 – obecnie Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, **Czeske Budejowice, Czech Republic**, head prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.

Współpraca krajowa

Jednostki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu:

Katedra i Klinika Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej; II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia; Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej; III Katedra i Klinika Pediatrii, Immunologii i Reumatologii Wieku Rozwojowego; Katedra i Klinika Pulmonologii i Nowotworów Płuc; Katedra Fizjoterapii; Poradnia Zamiejscowa Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu; Katedra i Klinika Neonatologii;

Inne jednostki:

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu;

Zakład Parazytologii, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski;

Stáže, praktyki, kursy, szkolenia i spotkania

Staże, praktyki i spotkania międzynarodowe:

- 2018 spotkanie zamykające w ramach projektu ERANet LAC Project ELAC2014 HID 0254: „Characterization of the Primary Infection by *Pneumocystis*: A silent threat to Public Health”. Lima, **Peru** (12-15 grudnia); (tytuł prezentacji: Characterisation of *Pneumocystis jirovecii* infections in immunocompetent and immunosuppressed patients at risk in Poland);
- 2018 Erasmus+ (teaching programme) w Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lizbon, **Portugalia** (10-14 września);
- 2018 staż w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (22-26 stycznia);
- 2017 Erasmus+ (teaching programme) w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (3-9 kwietnia);
- 2016 Erasmus+ (teaching programme) w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (9-13 maja);
- 2015 Erasmus+ (training programme) w Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lizbon, **Portugalia** (8-12 czerwca);
- 2015 Erasmus+ (teaching programme) w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (11-15 maja);
- 2014 Erasmus programme, staż w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (8-12 września);
- 2014 **EU-WMU-New Possibilities Lifelong Learning Programme-Leonardo da Vinci**: staż w Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lizbon, **Portugalia** (19 maja - 14 czerwca);
- 2013 Erasmus programme, staż w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (9-13 września);
- 2013 staż w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (3-18 kwietnia);
- 2012 staż w Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre, Academy of Science of the Czech Republic, Ceske Budejovice, **Republika Czeska** (12-25 kwietnia);

Staże i praktyki krajowe:

- 2012 staż w Zakładzie Parazytologii Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdynia, Polska (21-25 maja);
- 2004 staż w Zakładzie Inżynierii Komórkowej i Transformacji, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin (IHAR), Radzików, Polska (1-17 września);

Kursy i szkolenia:

- 2017 I Naukowo-Szkoleniowa Krajowa Konferencja Biobanków Polskich organizowana przez Konsorcjum BBMRI.PL; Wrocław, Polska (13-14 października);
- 2016 szkolenie First Team, Homing, Returns, Fundacji Nauki Polskiej, Warszawa, Polska (15 września);
- 2012-2013 "Naukowiec w biznesie" – cykl szkoleniowo-warsztatowy dla pracowników sektora B+R, prowadzonych przez INVESTIN Sp.z.o.o. we współpracy z Assign Clinical Research Sp. z o. o., Wrocław, Polska (8-9 grudnia 2012, 26-27 stycznia 2013, 23-24 lutego 2013);
- 2012 Szkolenie “Skuteczne zarządzanie i rozliczanie projektów badawczych” w ramach projektu Komercjalizacja drogą do sukcesu, współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, Wrocław, Polska (24-26 września);

6.4 Recenzowanie manuskryptów publikacji w czasopismach międzynarodowych lub krajowych

Scientific Reports - manuskrypt nr SREP-18-02647;

Emerging Microbes & Infection – manuskrypt nr EMI12018091;

Transplant Infectious Disease – manuskrypt nr TID-17-C-018;

Parasite – manuskrypt nr parasite160029.

6.5 Kierowanie i udział w projektach badawczych

Kierowanie projektami badawczymi:

- 2013-2017
- tytuł :** Zastosowanie metod molekularnych w celu identyfikacji i charakterystyki mikrosporydiów u pacjentów immunokompetentnych i leczonych immunosupresyjnie z chorobami nerek oraz oceny wpływu wybranych leków na proces inwazji mikrosporydiów w badaniach *in vitro*.
- źródło:** Narodowe Centrum Nauki
- rodzaj:** SONATA
- numer:** DEC-2012/05/D/NZ6/00615

- miejsce wykonywania:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
- 2015-2017 **tytuł:** Identyfikacja i charakterystyka pasożytów z grupy *Microsporidium* oraz profil molekularny i skutki kliniczne mikrosporydiozy w kontekście aktywności klinicznej oraz leczenia immunosupresyjnego choroby Leśniowskiego-Crohna u dzieci.
- źródło:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
- rodzaj:** Projekty dla Młodych Naukowców
numer: PbmN 191
- miejsce wykonywania:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
- 2011-2013 **tytuł:** Analiza wpływu czynników zaburzających podziały komórkowe na domeny kardiolipinowe w komórkach bakterii *E. coli* oraz ich udział w powstawaniu odpowiedzi SOS i komórek typu *persisters*.
- źródło:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
- rodzaj:** Projekty dla Młodych Naukowców
numer: PbmN 4
- miejsce wykonywania:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Udział w projektach badawczych jako wykonawca:

- 2013-2015 **tytuł :** Profil kliniczny, immunologiczny oraz molekularny mikrosporydiozy i kryptosporidiozy u pacjentów żyjących z HIV.
- źródło:** Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS
- rodzaj:** N/A
numer: N/A
- miejsce wykonywania:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
kierownik: dr Maria Wesołowska
- 2013-2014 **tytuł:** Częstość występowania, charakterystyka genotypowa oraz skutki kliniczne wywoływane przez *Blastocystis hominis* u pacjentów zakażonych HIV i chorych na AIDS.
- źródło:** Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS
- rodzaj:** N/A
numer: N/A
- miejsce wykonywania:** Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
kierownik: prof. dr hab. Andrzej B. Hendrich
- 2007-2009 **tytuł:** Fizjologiczne i molekularne konsekwencje braku ekspresji mitochondrialnej AtFtsH4 proteazy u *Arabidopsis*.

	źródło: Komitet Badań Naukowych (obecnie NCN)
	rodzaj: N/A
	numer: KBN nr: 303350433
	miejsce wykonywania: Uniwersytet Wrocławski
	kierownik: prof. dr hab. Hanna Jańska
2004-2007	tytuł: Wykorzystanie RNAi w genomice funkcjonalnej i biotechnologii roślin uprawnych.
	źródło: Komitet Badań Naukowych (obecnie NCN)
	rodzaj: Projekt Badawczy Zamawiany
	numer: PBZ-KBN-089/P06/2003
	miejsce wykonywania: Uniwersytet Wrocławski
	kierownik: prof. dr hab. Hanna Jańska

6.6 Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną

2018	nagroda indywidualna (II stopnia) JM Rektora Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu za ważne osiągnięcia w pracy naukowej;
2017	nagroda indywidualna (I stopnia) JM Rektora Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu za ważne osiągnięcia w pracy naukowej;
2015	nagroda zespołowa JM Rektora Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu za ważne osiągnięcia w pracy naukowej;
2015	nagroda indywidualna JM Rektora Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu , za zajęcie pierwszego miejsca w okresowej ocenie niesamodzielnych pracowników naukowych;
2014	pierwsza nagroda dla pracy magisterskiej mgr Kingi Kubiak pt. "Charakterystyka molekularna mikrosporydiozy u pacjentów z immunosupresją" w konkursie na najlepsze prace magisterskie z zakresu medycznej diagnostyki laboratoryjnej napisane i obronione w latach 2012-2013, ogłoszony przez Fundację Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej w Krakowie oraz Izbę Producentów i Dystrybutorów Diagnostyki Laboratoryjnej (promotor pracy);
2012	stypendium IUBMB/FEBS/SEBBM for 22nd IUBMB & 37th FEBS Congress: "From Single Molecules to Systems Biology", Sevilla, Hiszpania, 4-9 września 2012;
2007	stypendium FEBS Students fellowship for 32nd FEBS Congress, Molecular Machines, Wiedeń, Austria, 7-12 lipca 2007;
2004-2005	stypendium Ministra Edukacji Narodowej i Sportu za osiągnięcia naukowe;

2003 wyróżnienie w konkursie prac naukowych na V Ogólnopolskim Zjeździe Kół Naukowych Biotechnologii, Olsztyn, Polska (28-29 listopada).

6.7 Działalność dydaktyczno-wychowawcza i popularnonaukowa

Prowadzenie zajęć dydaktycznych (seminaria, ćwiczenia, wykłady) dla studentów Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na studiach stacjonarnych na Wydziale Lekarskim, Lekarsko-Stomatologicznym, Nauk o Zdrowiu:

1. Wydział Lekarski – kierunek lekarski – I rok – przedmiot: Biologia Molekularna; IV rok – przedmiot: Choroby Zakaźne - Parazytologia;
2. Wydział Lekarsko-Stomatologiczny – kierunek lekarsko-stomatologiczny – I rok – przedmiot: Biologia Molekularna, Genetyka;
3. Wydział Nauk o Zdrowiu – kierunek Dietetyka – I rok – przedmiot: Biologia Medyczna (lata 2009 – 2014).

Promotor pomocniczy prac doktorskich

- 2017 – obecnie mgr Magdalena Szydłowicz (Sokulska), „Zastosowanie metod molekularnych w ocenie prewalencji oraz wariantów genotypowych *Pneumocystis jirovecii* u pacjentów z wybranymi grupami ryzyka.”
- 2017 – obecnie mgr Żaneta Kopacz, „Zarażenia *Cryptosporidium* u dzieci z chorobami układu pokarmowego z pierwotnymi i nabytymi niedoborami immunologicznymi – charakterystyka molekularna i epidemiologiczna.”

Promotor prac magisterskich

- 2017 Adrianna Boińska, „Porównanie skuteczności metod molekularnych stosowanych w identyfikacji i charakterystyce mikrosporydiów.”
- 2013 Kinga Kubiak, „Charakterystyka molekularna mikrosporydiozy u pacjentów z immunosupresją.”

Opiekun naukowy prac magisterskich

- 2017 Przemysław Janicki, „Określenie częstości występowania *Blastocystis hominis* w dolnośląskiej populacji pacjentów z zastosowaniem metod konwencjonalnych oraz technik molekularnych.”
- 2015 Marcin Stelmach, „Zastosowanie metod konwencjonalnych oraz technik molekularnych w diagnostyce kryptosporidiozy.”

- 2013 Magdalena Czajka, „Zastosowanie technik molekularnych w diagnostyce mikrosporydiów u pacjentów z immunosupresją.”
- 2012 Paulina Kucharczyk, „Molekularna charakterystyka szczepów *Escherichia coli* izolowanych z moczu pod względem możliwości tworzenia biofilmu.”
- 2012 Agnieszka Nowakowska, „Mikrosporydia jelitowe w dolnośląskiej populacji pacjentów – aspekty diagnostyczne oraz epidemiologiczne z wykorzystaniem technik molekularnych.”
- 2011 Martyna Kaczmarek, „Fluorescencyjne badanie wpływu czynników filamentujących, ciprofloksacyny i chlorpromazyny, na proces replikacji DNA w komórkach *Escherichia coli*.”
- 2011 Judyta Kurago, „Określenie roli czynników filamentujących: berberyny i aldehydu cynamonowego w ograniczeniu podziałów komórkowych u *Escherichia coli* poprzez działanie na domeny błonowe i białko FtsZ.”
- 2010 Jagoda Lewicka, „Wpływ ciprofloksacyny na stan błony komórkowej *Escherichia coli*.”
- 2010 Natalia Janeczko, „Zastosowanie mikroskopii fluorescencyjnej do obrazowania wpływu kolistyny na błony bakteryjne.”

Recenzent prac magisterskich

- 2016 Barbara Bosiak, „Badania metylacji DNA w kontekście uczulenia na jad owadów błonkoskrzydłych.” Promotor pracy: dr Paweł Karpiński;
- 2013 Joanna Szeluch-Włochal, „Badanie polimorfizmu 2R/3R genu kodującego syntetazę tymidylanową we krwi oraz w guzach pacjentów chorych na raka jelita grubego.” Promotor pracy: dr Paweł Karpiński;

Opiekun studentów w ramach Indywidualnego Toku Studiów

- 2016 – 2018 Justyna Kuźmińska, studentka Wydziału Lekarskiego;
- 2016 – 2018 Kamil Cebulski, student Wydziału Lekarskiego;

Opiekun praktyk studenckich

- 2017 Nikola Holubová z Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Ceskie Budejovice, Republika Czeska (1 miesiąc);
- 2015 Michaela Horčíčková z Laboratory of Veterinary and Medical Protistology, Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Ceskie Budejovice, Republika Czeska (1 miesiąc);

Inne

- 2014 – obecnie koordynator zajęć fakultatywnych, „Molekularne podstawy diagnostyki parazytologicznej.”

2013 – obecnie opiekun Studenckiego Koła Naukowego Parazytologii Lekarskiej;

Działalność popularyzująca naukę:

2010 – 2017 czynny udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki pod patronatem Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (DFN);

6.8 Praca na rzecz Uczelni

2012 – obecnie funkcja sekretarza publicznych obron doktorskich przeprowadzanych na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (dwie kadencje);

2012 – obecnie funkcja sekretarza w Komisji Do Spraw Zatrudnienia Nauczycieli Akademickich na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (dwie kadencje).



Podpis Wnioskodawcy