

Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w
Warszawie
Ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Ewa Anna Długosz
(imię i nazwisko wnioskodawcy)

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych
Katedra Nauk Przedklinicznych
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

Wniosek

z dnia 15 lipca 2022r

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie **nauk rolniczych** w dyscyplinie¹ **weterynaria**

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia
doktora habilitowanego
„Określenie roli larwalnych antygenów *Toxocara canis* w przebiegu toksokarozy”

Wniosuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie
wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała
uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym**^{*2}

Zostałem poinformowany, że:

*Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w
sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej
z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).*

*Kontakt za pośrednictwem e-mail: kancelaria@rdn.gov.pl , tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu.
Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c)
Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art.
232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu
przeprowadzenia postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i
obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.*

*Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest
na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html*

.....
(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

² * Niepotrzebne skreślić.

Załącznik 1 – Dane wnioskodawcy

Załącznik 2 – Kopia dyplomu

Załącznik 3 – Autoreferat

Załącznik 4 – Wykaz osiągnięć naukowych

Załącznik 5 – Kopie artykułów jednotematycznego cyklu

Załącznik 6 – Kopie oświadczeń współautorów

Załącznik 7 – Kopie dodatkowych zaświadczeń

Załącznik 3

AUTOREFERAT

Dr inż. Ewa Długosz
Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych
Katedra Nauk Przedklinicznych,
Instytut Medycyny Weterynaryjnej,
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Warszawa, 2022

1. Imię i nazwisko

Ewa Anna Długosz

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2003 – magister inżynier biotechnologii w zakresie biotechnologii w produkcji i ochronie zdrowia zwierząt; Międzywydziałowe Studium Biotechnologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

2008. 04. 23 - doktor nauk weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Stężenia wybranych cytokin u chomików syryjskich immunizowanych metaloproteiną 7 *Ancylostoma ceylanicum* i zarażanych larwami inwazyjnymi tego nicienia”, promotor pracy: prof. dr hab. Halina Wędrychowicz, (stopień uzyskany z wyróżnieniem).

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

Od 1. 07. 2008 adiunkt w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych w Katedrze Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

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

4.1 Osiągnięcie naukowe pt. „Określenie roli larwalnych antygenów *Toxocara canis* w przebiegu toksokarozy” tworzy jednotematyczny cykl następujących publikacji oryginalnych:

- I. **Długosz E**, Wasyl K, Klockiewicz M, Wiśniewski M. *Toxocara canis* mucins among other excretory-secretory antigens induce in vitro secretion of cytokines by mouse splenocytes. *Parasitology Research*, 2015, 114:3365–3371, DOI: 10.1007/s00436-015-4561-5. (30 pkt MNiSW₂₀₁₅, IF₂₀₁₅ = 2,027)

Mój udział w powstawaniu pracy (80%) polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu większości doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

- II. **Długosz E**, Wiśniewski M. *Toxocara canis* glycans influence antigen recognition by mouse IgG1 and IgM antibodies. *Acta Parasitologica*, 2016, 61 (1):191–194. DOI: 10.1515/ap-2016-0026. (20 pkt MNiSW₂₀₁₆, IF₂₀₁₆ = 1,16)

Mój udział w powstawaniu pracy (80%) polegał na, opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu większości

doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

- III. **Długosz E**, Basałaj K, Zawistowska-Deniziak A. Cytokine production and signalling in human THP-1 macrophages is dependent on *Toxocara canis* glycans. *Parasitology Research*, 2019, 118 (10):2925-2933. DOI:10.1007/s00436-019-06405-8. (70 pkt MNiSW₂₀₁₉, IF₂₀₁₉ = 1,641)

Mój udział w powstawaniu pracy (85%) polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu większości doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

- IV. **Długosz E**, Milewska M, Bańska P. Identification of *Toxocara canis* antigen-interacting partners by yeast two-hybrid assay and a putative mechanism of these host–parasite interactions. *Pathogens*, 2021, 10 (8):949. DOI:10.3390/pathogens10080949. (100 pkt MNiSW₂₀₂₁, IF₂₀₂₁ = 4,531)

Mój udział w powstawaniu pracy (80%) polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

Łączna punktacja prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji (zgodnie z rokiem wydania):

- wg listy czasopism punktowanych MNiE: 220

- łączny współczynnik IF: 9,359

- łączna liczba cytowań (na podstawie bazy Web of Science Core Collection) - 36

Kopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie pracy znajdują się odpowiednio w załącznikach 5 i 6 do Wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

4.2 Wprowadzenie

Glista psia, *Toxocara canis* jest powszechnie występującym nicieniem pasożytującym u psów. Jaja pasożyta są inwazyjne dla wielu gatunków ssaków również dla człowieka. Toksokaroza jest chorobą odzwierzęcą rozpowszechnioną na całym świecie [1]. Według najnowszych badań globalny wskaźnik seroprevalencji szacowany jest na 19% [2]. Podczas inwazji larwy pasożyta migrują w tkankach żywiciela unikając ataku immunologicznego żywiciela przez wiele miesięcy, a nawet lat. Ich obecność w różnych tkankach, prowadzi do rozwoju zespołów klinicznych takich jak: larwa wędrująca trzewna (VLM), larwa wędrująca oczna (OLM) oraz neurotoksokaroza mózgowa (NT). Jednak najczęstszym zespołem chorobowym, a zarazem najtrudniejszym do zdiagnozowania jest toksokaroza ukryta (CT) z wieloma niespecyficznymi objawami, takimi jak bóle stawów, powiększenie węzłów chłonnych, gorączka lub bóle głowy. Larwy nicieni z rodzaju *Toxocara* przyczyniają się

również do rozwoju chorób alergicznych, w tym astmy, przewlekłej pokrzywki lub obrzęku naczynioruchowego [3]–[5].

W trakcie inwazji larwy uwalniają znaczne ilości antygenów ekskrecyjno-sekrecyjnych (TES – *T. canis* Excretory-Secretory antigens), wynoszące około 1% masy ich ciała na dobę [6]. Głównymi składnikami wydzielanych antygenów są glikoproteiny. Frakcja TES-120 zawiera O-glikozylowane mucyny [7], [8], natomiast TES-32 i TES-70 zostały zidentyfikowane jako lektyny typu C: *Tc*-CTL-1 [9] (Loukas et al., 1999) i *Tc*-CTL-4 [10] (Loukas et al., 2000), a TES-26 jako białko wiążące fosfatydyloetanolaminę [11]. Główną rolą mucyn zawartych we frakcji TES-120 jest tworzenie płaszcza powierzchniowego larw [12]. Chronią one pasożyta przed atakiem przeciwciał i eozynofili. Po związaniu tych cząsteczek przez komórki odpornościowe cały płaszcz powierzchniowy jest usuwany i zastępowany nową warstwą mucyn [13]. Prawdopodobnie w obronie pasożyta przed układem odpornościowym żywiciela bierze również udział cząsteczka *Tc*-CTL-1. Białko to jest podobne do ludzkich lektyn typu C al. receptor mannozowy czy E-selektyna, które biorą udział w odpowiedzi immunologicznej. *Tc*-CTL-1 może hamować naciek leukocytów poprzez wiązanie się do selektyn na śródbłonku naczyń krwionośnych [14] (Loukas i Maizels, 2000).

Wiele badań dotyczących interakcji pomiędzy larwami *T. canis* a układem immunologicznym żywiciela pochodzi z doświadczeń przeprowadzonych na mysim modelu toksokarozy [4], [15], [16]. Doniesienia te wskazują, że w trakcie inwazji dominuje odpowiedź typu Th2, w której dochodzi do produkcji IL-4 i IL-5, zahamowania wydzielania TNF- α oraz podwyższenia stężenia cytokin regulatorowych IL-10 i TGF- β [15], [17]. Silna odpowiedź typu Th2 ułatwia rozwój inwazji i rozprzestrzenienie larw pasożyta w różnych tkankach, ale jednocześnie chroni myszy przed rozwojem ciężkiej patologii w płucach [16].

4.3 Uzasadnienie tematyki podjętych badań

- W porównaniu do innych ważnych pasożytów, informacje na temat interakcji pomiędzy żywicielem a pasożytem w przebiegu toksokarozy są skąpe. Glista psia jest określana przez naukowców jako „enigmatyczny pasożyt” [18] (Smith et al., 2009), stąd potrzeba przeprowadzenia dogłębnych badań dotyczących tego nicienia.
- Toksokaroza stanowi rzeczywisty problem zdrowotny dotyczący ludzi na całym świecie i z tego powodu została dodana przez Centrum Kontroli i Prewencji Chorób (CDC) do listy tzw. Lekceważonych inwazji pasożytniczych.
- Pasożyty z rodzaju *Toxocara* przyczyniają się do rozwoju patologii płuc, w tym astmy oraz innych chorób o podłożu alergicznym [3]–[5], [19].
- Odpowiedź immunologiczna rozwijająca się podczas inwazji *T. canis* nie została szczegółowo scharakteryzowana.
- Szlaki sygnałowe w komórkach stymulowanych antygenami *T. canis* nie zostały opisane
- Nasze rozumienie etiologii i przebiegu choroby jest ograniczone z powodu niedostatecznego zrozumienia interakcji między żywicielem a pasożytem.

4.4 Szczegółowe cele badawcze:

1. Określenie wpływu antygenów *T. canis* na produkcję cytokin przez mysie splenocyty

2. Zbadanie roli reszt cukrowych antygenów w interakcji z przeciwciałami specyficznymi dla larwalnych antygenów
3. Określenie wpływu glikoprotein na produkcję cytokin i na przebieg szlaków sygnałowych w ludzkich makrofagach
4. Wytypowanie ludzkich białek wiążących się z antygenami pasożyta i potencjalnych mechanizmów interakcji pasożyt-żywiciel.

4.5 Syntetyczne omówienie publikacji stanowiących osiągnięcie badawcze

4.5.1 Określenie wpływu antygenów *T. canis* na produkcję cytokin przez mysie splenocyty

Zaplanowane badania przeprowadziłam z wykorzystaniem laboratoryjnego modelu toksokarozy, czyli myszy BALB/c zarażonych inwazyjnymi jajami *T. canis*. Prace badawcze rozpoczęłam od dopracowania metodyki izolacji i warunków hodowli larw L3 w celu pozyskiwania larwalnych antygenów TES. Jednocześnie sklonowałam sekwencje cDNA kodujące cztery pasożytnicze mucyny – *Tc-MUC-2*, *Tc-MUC-3*, *Tc-MUC-4* i *Tc-MUC-5* w wektorze ekspresyjnym pPICZα w celu ich ekspresji w drożdżach *Pichia pastoris*. Oczyszczone rekombinowane mucyny jak również natywne antygeny TES posłużyły do stymulacji splenocytów izolowanych z myszy BALB/c 21 dni po zrażeniu inwazyjnymi jajami *T. canis* oraz z niezarażonych myszy, które stanowiły grupę kontrolną. Stężenie wydzielonych do pożywki cytokin określiłam wykorzystując metodę ELISA.

Komórki zarażonych zwierząt wydzielają IL-4 i IL-5, cytokiny charakterystyczne dla odpowiedzi typu Th2, ale również IL-10, cytokinę o właściwościach immunoregulujących. Dodatek mitogenu do hodowli skutkował produkcją INF-γ i IL-17, która była jednak istotnie wyższa w hodowli komórek izolowanych ze zwierząt kontrolnych. Stymulacja splenocytów izolowanych z zarażonych myszy antygenami TES lub mucynami dodatkowo zwiększyła wydzielanie IL-4 i IL-5, ale również prozapalnej cytokiny IL-6 i regulatorowej TGF-β. Antygeny TES zahamowały natomiast produkcję TNF-α. Co ciekawe, komórki zwierząt kontrolnych stymulowane antygenami TES i mitogenem produkowały więcej IL-6 i IL-17 niż komórki zwierząt zarażonych.

Badania potwierdziły wcześniejsze obserwacje, które dowiodły, że w przebiegu toksokarozy dochodzi do rozwoju odpowiedzi Th2 z jednoczesną produkcją IL-10 i TGF-β [15]–[17], [20]. Ponadto, stwierdziłam, że w 21 dniu inwazji nie dochodzi do produkcji IL-17, pomimo wydzielania IL-6 i TGF-β, które są niezbędne do różnicowania limfocytów Th17 [21]. Zaobserwowałam również, że rekombinowane mucyny są w stanie stymulować produkcję cytokin przez mysie splenocyty, jednak z mniejszą efektywnością w porównaniu do antygenów TES. Antygeny TES stymulowały ponadto sekrecję cytokin przez komórki myszy niezarażonych, co świadczy o ich wysokim potencjale immunomodulacyjnym.

Przedstawione wyniki zostały opisane w pracy “*Toxocara canis* mucins among other excretory-secretory antigens induce *in vitro* secretion of cytokines by mouse splenocytes”. Długosz E, Wasyl K, Klockiewicz M, Wiśniewski M. Parasitology Research, 2015, 114:3365–3371 i były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr N N308 573540).

4.5.2 Zbadanie roli reszt cukrowych antygenów w interakcji z przeciwciałami specyficznymi dla larwalnych antygenów

Kolejnym etapem mojej pracy było zbadanie wpływu obecności reszt cukrowych glikoprotein na rozpoznawanie cząsteczek przez przeciwciała myszy BALB/c zarażonych *T. canis* oraz niezarażonych myszy kontrolnych. Analizowałam reaktywność przeciwciał klas IgM, IgE, IgG1 oraz IgG2a z antygenami TES i rekombinowanymi mucynami wyprodukowanymi w drożdżach *P. pastoris* oraz z ich deglikozylowanymi odpowiednikami. Mucyny (*Tc*-MUC-2, *Tc*-MUC-3, *Tc*-MUC-4 i *Tc*-MUC-5) były analizowane indywidualnie oraz jako mieszanina czterech cząsteczek. Żadna z analizowanych cząsteczek nie reagowała z przeciwciałami klasy IgG2a. Z kolei immunoglobuliny klasy IgE rozpoznawały wszystkie badane antygeny, niezależnie od obecności reszt glikozylowych. W przeciwieństwie do pozostałych klas, reaktywność przeciwciał IgE pochodzących od poszczególnych osobników różniła się znacznie w obrębie badanych grup.

Antygeny TES jak i wszystkie rekombinowane mucyny były w równym stopniu rozpoznawane przez przeciwciała klasy IgG1. Zaobserwowałam jednak istotną różnicę w reaktywności przeciwciał z cząsteczkami pozbawionymi reszt cukrowych. Deglikozylowane antygeny TES, mieszanina mucyn oraz *Tc*-MUC-3 były słabiej rozpoznawane przez przeciwciała tej klasy niż formy zawierające reszty cukrowe. Natomiast immunoglobuliny klasy IgM najsilniej reagowały z antygenami TES, szczególnie z resztami cukrowymi glikoprotein, gdyż deglikozylowane cząsteczki były rozpoznawane w istotnie mniejszym stopniu. Przeciwciała IgM znacznie słabiej reagowały z mucynami niż z antygenami TES, a ich reaktywność z cząsteczkami pozbawionymi reszt cukrowych była dodatkowo obniżona. *Tc*-MUC-4 była istotnie silniej rozpoznawana przez immunoglobuliny IgM niż pozostałe mucyny.

Uzyskane przeze mnie wyniki wskazują, że reszty cukrowe antygenów *T. canis* wchodzi w skład epitopów rozpoznawanych przez przeciwciała zarażonych żywicieli. Fakt ten powinien być brany pod uwagę podczas opracowywania testów immunoenzymatycznych służących do diagnostyki toksokarozy, szczególnie w przypadku testów wykorzystujących rekombinowane antygeny. Większość prac dotyczących tej tematyki opisuje wykorzystanie antygenów, które zostały wyprodukowane w systemie bakteryjnym, a zatem antygenów pozbawionych reszt glikozylowych. Zasadna będzie więc analiza przydatności antygenów, między innymi mucyn wyprodukowanych w drożdżowym systemie ekspresyjnym do diagnostyki toksokarozy.

Przedstawione wyniki zostały opisane w pracy „*Toxocara canis* glycans influence antigen recognition by mouse IgG1 and IgM antibodies”. Długosz E, Wiśniewski M. Acta Parasitologica, 2016, 61 (1):191–194 i były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr N N308 573540).

4.5.3 Określenie wpływu glikoprotein na produkcję cytokin i na przebieg szlaków sygnałowych w ludzkich makrofagach

Następny etap badań dotyczył interakcji antygenów glisty psiej z ludzkimi makrofagami. Doświadczenia przeprowadziłam z wykorzystaniem ludzkich monocytów linii THP-1, które były różnicowane in vitro do makrofagów, a następnie stymulowane antygenami

TES i rekombinowanymi mucynami oraz ich deglikozylowanymi formami. Komórki zareagowały na stymulację produkcją TNF- α , IL-1 β , IL-6 i IL-10, która była wielokrotnie wyższa w przypadku stymulacji glikozylowanymi mucynami. Po usunięciu reszt cukrowych mucyny mniej efektywnie stymulowały makrofagi, stężenia cytokin w tym przypadku były zbliżone do wartości odnotowanych po traktowaniu komórek antygenami TES. Deglikozylacja antygenów TES nie wpłynęła na ich zdolność do pobudzania produkcji cytokin. Jedynie IL-12p70 nie była wydzielana według wyżej wymienionych zależności i, co ciekawe, była wydzielana jedynie po stymulacji deglikozylowanymi mucynami.

Analizowałam również produkcję cytokin w odpowiedzi na stymulację poszczególnymi mucynami. W większości przypadków efekt stymulacji był zbliżony, produkcja cytokin była wyższa w porównaniu do kontroli, ale nie różniła się istotnie pomiędzy próbami traktowanymi konkretnymi cząsteczkami. Jedynie *Tc*-MUC-4 silniej stymulowała wydzielanie TNF- α , a deglikozylowana forma *Tc*-MUC-5 jako jedyna stymulowała sekrecję IL-12p70.

Z powyższych danych wynika, że tak, jak w przypadku innych pasożytów, fragmenty cukrowe glikoprotein *T. canis* pełnią ważną funkcję w interakcji z komórkami odpornościowymi żywiciela, która zachodzi poprzez receptory CLR (C-type lectin receptors). Pasożytnicze glikoproteiny są wiązane przez różne receptory CLR np. DC-SIGN (CD209), receptor mannozowy (MR, CD206) czy receptor MGL (macrophage galactose-type lectin receptor, CD301) [22]–[24]. Antygeny TES wiążą się do receptorów DC-SIGN i MGL [25], jednak nie wiadomo, czy to wiązanie pełni istotną rolę w procesie immunomodulacji.

W celu dokładniejszego opisanie roli glikoprotein *T. canis* w regulacji odpowiedzi immunologicznej żywiciela określiłam profil fosforylacji wewnątrzkomórkowych kinaz biorących udział w przekaznictwie sygnałów w komórce. W tym celu wykorzystałam komercyjny zestaw umożliwiający jednoczesną analizę fosforylacji 37 białek sygnałowych w makrofagach stymulowanych glikozylowanymi i deglikozylowanymi mucynami. Największy wzrost fosforylacji po stymulacji badanymi cząsteczkami zaobserwowałam w przypadku białka HSP27. Białko to promuje przeżycie makrofagów podczas stanu zapalnego poprzez hamowanie apoptozy [26], [27]. W stymulowanych makrofagach wzrosła również fosforylacja kinaz z rodziny MAPK takich jak p38 oraz JNK oraz czynnika transkrypcyjnego c-Jun. Białka te są zaangażowane w szlak sygnałowy płynący od receptorów TLR (Toll-like receptors), zatem receptory TLR mogą być aktywowane przez antygeny glisty psiej. Co ciekawe, fosforylacja tych białek była intensywniejsza w komórkach stymulowanych mucynami pozbawionymi reszt cukrowych w porównaniu do stymulacji pełnymi glikoproteinami, co sugeruje, że produkcja cytokin prozapalnych w tych komórkach powinna być większa, a jak wykazano wyżej, była znacznie niższa. Można to wytłumaczyć intensywniejszą fosforylacją czynnika transkrypcyjnego CREB (cAMP response element-binding protein) w tych komórkach, który to proces jest odpowiedzialny za zahamowanie aktywacji czynnika NF κ B i ograniczenie odpowiedzi prozapalnej [28].

Zaobserwowałam również różnice w fosforylacji dwóch ważnych kinaz komórkowych. AMPK (AMP-activated protein kinase) uległa silniejszej fosforylacji po traktowaniu deglikozylowanymi mucynami, natomiast kinaza AKT, również znana jako kinaza białkowa B (PKB), uległa maksymalnej aktywacji poprzez fosforylację w pozycjach S473 i T308 po

stymulacji pełnymi mucynami. Z licznych badań wynika, że kinaza AMPK stymuluje wiele czynników, które hamują sygnalizację płynącą poprzez czynnik NFkB, przez co hamuje proces zapalny i wydłuża życie wielu typów komórek [29]. Stymulacja makrofagów deglikozylowanymi mucynami indukuje zatem ścieżki sygnalizacyjne indukujące (p38, JNK, c-JUN), jak również hamujące (CREB, AMPK) proces zapalny. W efekcie produkcja cytokin przez te komórki była wyższa w porównaniu do kontroli, ale wielokrotnie niższa niż w przypadku stymulacji cząsteczkami zawierającymi reszty cukrowe. Natomiast mucyny aktywują stan zapalny w makrofagach, prawdopodobnie za pośrednictwem receptorów TLR. Świadczy o tym fosforylacja p38 i JNK, ale również kinazy AKT. Ścieżka PI3K/AKT jest aktywowana między innymi poprzez receptor TLR-4 [30] i bierze udział w regulacji procesów przeżycia, migracji, proliferacji i różnicowania makrofagów, ale również w odpowiedzi makrofagów na sygnały metaboliczne i prozapalne [31]. AKT pełni kluczową rolę w polaryzacji makrofagów w kierunku fenotypu M2 [32]. Być może właśnie mucyny są odpowiedzialne za pobudzenie różnicowania tej populacji makrofagów w trakcie toksokarozy [16].

Podsumowując wyniki uzyskane w tej części badań mogę stwierdzić, że antygeny TES, a w szczególności mucyny indukują produkcję cytokin przez ludzkie makrofagi linii THP-1. Produkcja cytokin po stymulacji mucynami była zależna od obecności reszt cukrowych, które również miały wpływ na fosforylację wewnątrzkomórkowych białek sygnałowych. Różnice dotyczyły zwłaszcza kinaz AMPK i AKT i wydaje się, że aktywacja kinazy AKT jest odpowiedzialna za intensywną produkcję cytokin prozapalnych.

Zaobserwowałam znaczne różnice w ilości cytokin wydzielanych po stymulacji antygenami TES i mucynami. Co prawda mucyny stanowią znaczną część wszystkich antygenów TES, jednak znajdują się w nich również inne cząsteczki, które najprawdopodobniej modulują efekt wywołany przez mucyny i w rezultacie produkcja cytokin nie jest tak intensywna. W celu pełniejszego zrozumienia procesów immunomodulacji zachodzących podczas inwazji larw glisty psiej należy przeanalizować mechanizmy interakcji poszczególnych cząsteczek z komórkami żywiciela. Aby choć częściowo zbadać ten problem przeprowadziłam doświadczenie, które jest opisane w następnym rozdziale.

Przedstawione wyniki zostały opisane w pracy "Cytokine production and signalling in human THP-1 macrophages is dependent on *Toxocara canis* glycans". Długosz E, Basała K, Zawistowska-Deniziak A. Parasitology Research, 2019, 118 (10):2925-2933 i były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr N N308 573540 i 2017/01/X/NZ6/00260).

4.5.4 Wytypowanie ludzkich białek wiążących się z antygenami pasożyta i przypuszczalnych mechanizmów interakcji pasożyt-żywiciel

Z badań przeprowadzonych we wcześniejszym etapie mojej pracy wynika, że różne cząsteczki zawarte w puli antygenów TES uwalnianych przez larwy glisty psiej w trakcie zarażenia mogą w różny sposób oddziaływać na komórki żywiciela. Dlatego postanowiłam wytypować ludzkie białka, które wchodzą w interakcje z różnymi antygenami pasożyta wykorzystując drożdżowy system dwuhybrydowy. Metoda ta umożliwia przeszukanie całej

puli białek kodowanych przez bibliotekę ekspresyjną, zwanych “ofiarami” pod kątem wiązania do konkretnego białka, tzw. “przynęty”. Komórki drożdży są transformowane fragmentami cDNA kodującymi “przynętę” i “ofiary”, które następnie ulegają ekspresji w tych komórkach. Następnie przeprowadzany jest etap selekcji komórek drożdżowych, w których doszło do wiązania pomiędzy “przynętą” a “ofiara”, a po nim etap weryfikacji metodą kotransformacji. Z wytypowanych w ten sposób kolonii drożdżowych izoluje się i sekwencjonuje wektor kodujący “ofiara”. W ten sposób identyfikowane jest białko wchodzące w interakcję z “przynętą”.

Wybrałam trzy białka ekskrecyjno-sekrecyjne, które posłużyły za “przynętę”. Są to cząsteczki uwalniane przez pasożyta w znacznych ilościach: mucyna - *Tc*-MUC-3, lektyna typu C – *Tc*-CTL-1 oraz białko wiążące fosfatydyloetanolaminę - *Tc*-TES-26. cDNA kodujące te białka wklonowałam w DNA wektora pGBKT7 DNA-BD. Za ofiary posłużyła komercyjna biblioteka ekspresyjna zawierająca fragmenty cDNA kodujące ludzkie białka. Po etapie selekcji i weryfikacji wyselekcjonowanych kolonii metodą kotransformacji zidentyfikowałam 16 pozytywnych interakcji: 9 białek wiążących *Tc*-MUC-3 (TSPAN13, SMIM30, POLR2G, ADGRF5, UQCRFS1, AGR3, DAZAP2, TMEM199, PP2D1), 5 białek wiążących *Tc*-CTL-1 (SLC44A1, SELENOP, JAGN1, CTSB, ANKHD1) oraz 2 białka wiążące *Tc*-TES-26 (STX-8, CRISP). Wykorzystując narzędzia bioinformatyczne wytypowałam procesy biologiczne, w które zaangażowane są zidentyfikowane “ofiary” oraz ich funkcje i lokalizacje. Są to m.in. procesy metaboliczne, odpowiedź immunologiczna, sygnalizacja komórkowa, regulacja procesów śmierci komórkowej, różnicowanie komórek oraz transport. Funkcje wytypowanych białek to wiązanie białek i kwasów nukleinowych, aktywność oksydoreduktazy, fosfatazy i peptydazy oraz aktywność receptorowa. Białka wchodzące w interakcję z antygenami *T. canis* są zlokalizowane głównie w błonie komórkowej, ale też w retikulum endoplazmatycznym, część białek ulega sekrecji. Kolejną analizą bioinformatyczną było stworzenie przewidywanych sieci interakcji białkowych między “ofiarami” i innymi białkami ludzkimi, co pomogło w wytypowaniu mechanizmów, w które prawdopodobnie zaangażowane są białka glisty psiej.

Po pierwsze, dwa białka: ADGRF5 i AGR3 wchodzące w interakcje z mucyną *Tc*-MUC-3 są zaangażowane w funkcjonowanie dróg oddechowych. Receptor ADGRF5 odpowiada za homeostazę w pęcherzykach płucnych i reguluje produkcję i wydzielanie surfaktantu [33], a białko AGR3 jest niezbędne do prawidłowej pracy komórek nabłonka rzęskowego w płucach [34]. Wiadomo, że funkcjonowanie płuc w trakcie toksokarozy jest upośledzone, a inwazja wywołuje objawy przypominające astmę. Być może jest to wynikiem zaburzenia funkcjonowania tych dwóch białek przez mucyny pasożyta.

Kolejne białka “ofiary” są zaangażowane w przekaznictwo sygnałów. DAZAP2 reguluje sygnalizację poprzez receptor IL-25 [35], ANKHD1 bierze udział w szlaku JAK/STAT i w sygnalizacji poprzez receptory NOD [36], [37], białko SMIM30 uczestniczy w aktywacji ścieżki kinaz MAP [38], a CTSB jest zaangażowane w produkcję cytokin prozapalnych [39]. Można zatem stwierdzić, że poprzez wiązanie do wyżej wymienionych cząsteczek, białka *T. canis* ingerują w przebieg wielu szlaków sygnałowych i w ten sposób modulują odpowiedź immunologiczną żywiciela.

Inny mechanizm, który prawdopodobnie jest zaburzany przez antygeny glisty psiej to degranulacja komórek odpornościowych, przede wszystkim neutrofilów. Już w 1990 roku Lombardi i wsp. [40] udowodnili, że neutrofile przylegają do larw *T. canis*, ale nie ulegają degranulacji, nie dochodzi więc do uszkodzenia powierzchni pasożyta. Trzy białka “ofiary”: CTSB, JAGN1 i STX8 są zaangażowane w proces egzocytozy i degranulacji [41], [42]. Związanie antygenów pasożyta do tych białek, zwłaszcza do białka JAGN1, może negatywnie wpływać na różnicowanie i prawidłowe funkcjonowanie neutrofilów.

Ostatni związek jaki zaobserwowałam, to udział białek “ofiary” w procesach neurodegeneracyjnych, które są obserwowane w przebiegu neurotoksokarozy. Obecność larw glisty psiej w mózgu wpływa negatywnie na funkcje poznawcze [43], indukuje akumulację β -amyloidu w komórkach nerwowych [44] i obniża intensywność autofagii na korzyść apoptozy [45]. Wiązanie białek pasożyta z TSPAN13 może wpływać na funkcjonowanie kanałów jonowych, a przez to na wydzielanie neurotransmiterów [46]. Interakcja z białkiem UQCRFS1 może zaburzać przebieg procesu fosforylacji oksydacyjnej i skutkować zwiększoną ilością wolnych rodników tlenowych w komórce [47], co również związane jest z rozwojem zmian neurodegeneracyjnych. Natomiast białko STX-8 jest powiązane z wieloma cząsteczkami odpowiedzialnymi za regulację procesu autofagii [48].

Wyniki uzyskane w ramach pracy umożliwiły mi wytypowanie kilku mechanizmów interakcji białkowych między cząsteczkami pasożyta i żywiciela. Analiza literatury naukowej dotyczącej białek “ofiary” umożliwiła określenie potencjalnego wpływu tych interakcji na przebieg wielu procesów w organizmie żywiciela. Niektóre interakcje, zdają się choć częściowo wyjaśniać molekularne podłoże zmian obserwowanych w trakcie przebiegu toksokarozy. Jednak, należy pamiętać, że interakcje wytypowane z wykorzystaniem drożdżowego systemu dwuhybrydowego muszą być potwierdzone eksperymentalnie. Dopiero wtedy możliwe będzie pełniejsze zrozumienie procesów zachodzących w organizmie żywiciela podczas inwazji glisty psiej.

Przedstawione wyniki zostały opisane w pracy “Identification of *Toxocara canis* antigen-interacting partners by Yeast Two-Hybrid Assay and a putative mechanism of these host – parasite interactions”. Długosz E, Milewska M, Baska P. Pathogens, 2021, 10 (8):949. DOI:10.3390/pathogens10080949 i były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki (projekt nr 2017/01/X/NZ6/00895) i Narodowe Centrum Wymiany Akademickiej (projekt nr PPN/BIL/2018/1/00135).

4.5.5 Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych przez mnie badań opublikowanych w czterech artykułach naukowych stanowiących osiągnięcie naukowe pt. „Określenie roli larwalnych antygenów *Toxocara canis* w przebiegu toksokarozy” potwierdzają realizację szczegółowych celów badawczych. W trakcie badań ustaliłam, że zarówno natywne antygeny *T. canis* jak i rekombinowane glikoproteiny pasożyta stymulują produkcję cytokin typu Th2 przez mysie splenocyty i równocześnie hamują sekrecję prozapalnej cytokiny TNF- α . Cząsteczki TES stymulowały ponadto sekrecję cytokin przez komórki myszy niezarażonych, co świadczy o ich wysokim potencjale immunomodulacyjnym. Ponadto stwierdziłam, że obecność reszt

cukrowych na antygenach *T. canis* zwiększa ich reaktywność z przeciwciałami klasy IgG1 i IgM zarażonych myszy, a nie ma wpływu na ich rozpoznawanie przez przeciwciała klasy IgE. Glikozylacja antygenów ma również wpływ na przebieg szlaków sygnałowych w komórce i na pobudzanie produkcji cytokin przez stymulowane mucynami makrofagi. Wytypowałam również kilkanaście ludzkich białek, które wiążą się z antygenami glisty psiej. Te interakcje wpływają prawdopodobnie na przebieg szlaków sygnalizacyjnych wiodących od receptorów cytokin, zaburzają funkcjonowanie i degranulację neutrofilów oraz zakłócają proces autofagii w komórkach żywiciela. Uzyskane przez mnie wyniki i wnioski wyciągnięte z badań poszerzyły znacząco dotychczasową wiedzę na temat interakcji pasożyt-żywiciel w przebiegu toksokarozy.

Piśmiennictwo

- [1] D. D., "Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 16, no. 2, pp. 265–272, 2003, doi: 10.1128/CMR.16.2.265.
- [2] A. Rostami *et al.*, "Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis," *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 13, no. 12, p. e0007809, 2019, doi: 10.1371/journal.pntd.0007809.
- [3] J. F. Magnaval, L. T. Glickman, P. Dorchie, and B. Morassin, "Highlights of human toxocariasis," *Korean J. Parasitol.*, vol. 39, no. 1, pp. 1–11, 2001, doi: 10.3347/kjp.2001.39.1.1.
- [4] E. Pinelli, S. Brandes, J. Dormans, E. Gremmer, and H. Van Loveren, "Infection with the roundworm *Toxocara canis* leads to exacerbation of experimental allergic airway inflammation," *Clin. Exp. Allergy*, vol. 38, no. 4, pp. 649–658, 2008, doi: 10.1111/j.1365-2222.2007.02908.x.
- [5] S. Aghaei *et al.*, "Toxocara spp. infection and risk of childhood asthma: A systematic review and meta-analysis," *Acta Trop.*, vol. 182, no. March, pp. 298–304, 2018, doi: 10.1016/j.actatropica.2018.03.022.
- [6] M. Meghji and R. M. Maizels, "Biochemical properties of larval excretory-secretory glycoproteins of the parasitic nematode *Toxocara canis*," *Mol. Biochem. Parasitol.*, vol. 18, pp. 155–170, 1986, doi: [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(86\)90035-6](https://doi.org/10.1016/0166-6851(86)90035-6).
- [7] D. Gems and R. M. Maizels, "An abundantly expressed mucin-like protein from *Toxocara canis* infective larvae: The precursor of the larval surface coat glycoproteins," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 93, no. 4, pp. 1665–1670, 1996, doi: 10.1073/pnas.93.4.1665.
- [8] A. Loukas *et al.*, "A family of secreted mucins from the parasitic nematode *Toxocara canis* bears diverse mucin domains but shares similar flanking six-cysteine repeat motifs," *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 50, pp. 39600–39607, 2000, doi: 10.1074/jbc.M005632200.
- [9] A. Loukas, N. P. Mullin, K. K. A. Tetteh, L. Moens, and R. M. Maizels, "A novel C-type lectin secreted by a tissue-dwelling parasitic nematode," *Curr. Biol.*, vol. 9, no. 15, pp. 825–828, 1999, doi: 10.1016/S0960-9822(99)80366-2.
- [10] A. Loukas, A. Doedens, M. Hintz, and R. M. Maizels, "Identification of a new C-type lectin, TES-70, secreted by infective larvae of *Toxocara canis*, which binds to host ligands," *Parasitology*, vol. 121, no. 5, pp. 545–554, 2000, doi: 10.1017/S0031182099006721.
- [11] D. Gems *et al.*, "An abundant, trans-spliced mRNA from *Toxocara canis* infective larvae encodes a 26-kDa protein with homology to phosphatidylethanolamine-binding proteins," *J. Biol. Chem.*, vol. 270, no. 4, pp. 18517–18522, 1995, doi: 10.1074/jbc.270.31.18517.
- [12] A. P. Page, W. Rudin, E. Fluri, M. L. Blaxter, and R. M. Maizels, "Toxocara canis: A labile antigenic surface coat overlying the epicuticle of infective larvae," *Exp. Parasitol.*, vol. 75, no. 1, pp. 72–86, 1992, doi: 10.1016/0014-4894(92)90123-R.
- [13] H. V. Smith, R. Quinn, J. Kusel, and R. Girdwood, "The effect of temperature and antimetabolites on antibody binding to the outer surface of second stage *Toxocara canis* larvae," *Mol. Biochem. Parasitol.*, vol. 4, pp. 183–193, 1981, doi: DOI: 10.1016/0166-6851(81)90017-7.

- [14] A. L. Loukas and R. M. Maizels, "Helminth C-type Lectins and Host – Parasite Interactions," *Parasitol. Today*, vol. 16, no. 8, pp. 333–339, 2000, doi: 10.1016/S0169-4758(00)01704-X.
- [15] E. Kuroda, Y. Yoshida, B. E. Shan, and U. Yamashita, "Suppression of macrophage interleukin-12 and tumour necrosis factor- α production in mice infected with *Toxocara canis*," *Parasite Immunol.*, vol. 23, no. 6, pp. 305–311, 2001, doi: 10.1046/j.1365-3024.2001.00387.x.
- [16] B. Faz-López, Y. Ledesma-Soto, Y. Romero-Sánchez, E. Calleja, P. Martínez-Labat, and L. I. Terrazas, "Signal Transducer and Activator of Transcription Factor 6 Signaling Contributes to Control Host Lung Pathology but Favors Susceptibility against *Toxocara canis* Infection," *Biomed Res Int*, vol. 2013, p. 696343, 2013.
- [17] C.-K. Fan, C.-C. Hung, Y.-H. Lin, M.-H. Li, and K.-E. Su, "Enhanced expression of transforming growth factor- β 1 in inflammatory cells and secretory granules in Paneth cells in the small intestine of mice infected with *Toxocara canis*," *Parasitol. Res.*, vol. 94, no. 6, pp. 397–404, 2004, doi: 10.1007/s00436-004-1233-2.
- [18] H. Smith, C. Holland, M. Taylor, J. F. Magnaval, P. Schantz, and R. Maizels, "How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge," *Trends Parasitol.*, vol. 25, no. 4, pp. 182–188, 2009, doi: 10.1016/j.pt.2009.01.006.
- [19] I. Mohammadzadeh *et al.*, "The relationship between *Toxocara* species seropositivity and allergic skin disorders: A systematic review and meta-analysis," *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, vol. 112, no. 12, pp. 529–537, 2018, doi: 10.1093/trstmh/try094.
- [20] M. S. Wu *et al.*, "Enhanced expression of transforming growth factor- β 1 in inflammatory cells, α -smooth muscle actin in stellate cells, and collagen accumulation in experimental granulomatous hepatitis caused by *Toxocara canis* in mice," *Acta Trop.*, vol. 105, no. 3, pp. 260–268, 2008, doi: 10.1016/j.actatropica.2007.11.005.
- [21] A. S. Basso, H. Cheroutre, and D. Mucida, "More stories on Th17 cells," *Cell Res.*, vol. 19, no. 4, pp. 399–411, 2009, doi: 10.1038/cr.2009.26.
- [22] B. Everts *et al.*, "Schistosome-derived omega-1 drives Th2 polarization by suppressing protein synthesis following internalization by the mannose receptor," *J. Exp. Med.*, vol. 209, no. 10, pp. 1753–1767, 2012, doi: 10.1084/jem.20111381.
- [23] M. H. J. Meevissen *et al.*, "Specific glycan elements determine differential binding of individual egg glycoproteins of the human parasite *Schistosoma mansoni* by host C-type lectin receptors," *Int. J. Parasitol.*, vol. 42, no. 3, pp. 269–277, 2012, doi: 10.1016/j.ijpara.2012.01.004.
- [24] E. J. Klaver *et al.*, "Trichuris suis-induced modulation of human dendritic cell function is glycan-mediated," *Int. J. Parasitol.*, vol. 43, no. 3–4, pp. 191–200, 2013, doi: 10.1016/j.ijpara.2012.10.021.
- [25] I. Schabussova, H. Amer, I. van Die, P. Kosma, and R. M. Maizels, "O-Methylated glycans from *Toxocara* are specific targets for antibody binding in human and animal infections," *Int. J. Parasitol.*, vol. 37, no. 1, pp. 97–109, 2007, doi: 10.1016/j.ijpara.2006.09.006.
- [26] O. H. Voss, S. Batra, S. J. Kolattukudy, M. E. Gonzalez-Mejia, J. B. Smith, and A. I. Doseff, "Binding of caspase-3 prodomain to heat shock protein 27 regulates monocyte apoptosis by inhibiting caspase-3 proteolytic activation," *J. Biol. Chem.*, vol. 282, no. 34, pp. 25088–25099, 2007, doi: 10.1074/jbc.M701740200.
- [27] M. E. Gonzalez-Mejia and A. I. Doseff, "Regulation of monocytes and macrophages cell fate M," *Front. Biosci.*, vol. 14, no. 3, pp. 2413–2431, 2009.
- [28] A. Y. Wen, K. M. Sakamoto, and L. S. Miller, "The Role of the Transcription Factor CREB in Immune Function," *J. Immunol.*, vol. 185, no. 11, pp. 6413–6419, 2010, doi: 10.4049/jimmunol.1001829.
- [29] A. Salminen, J. M. T. Hyttinen, and K. Kaarniranta, "AMP-activated protein kinase inhibits NF- κ B signaling and inflammation: Impact on healthspan and lifespan," *J. Mol. Med.*, vol. 89, no. 7, pp. 667–676, 2011, doi: 10.1007/s00109-011-0748-0.
- [30] E. Vergadi, E. Ieronymaki, K. Lyroni, K. Vaporidi, and C. Tsatsanis, "Akt Signaling Pathway in Macrophage Activation and M1/M2 Polarization," *J. Immunol.*, vol. 198, no. 3, pp. 1006–1014, 2017, doi: 10.4049/jimmunol.1601515.
- [31] A. J. Covarrubias, H. I. Aksoylar, and T. Horng, "Control of macrophage metabolism and activation by mTOR and Akt signaling," *Semin Immunol.*, vol. 27, no. 4, pp. 286–296, 2015, doi:

10.1016/j.smim.2015.08.001.Control.

- [32] V. Byles, A. J. Covarrubias, I. Ben-sahra, and D. W. Lamming, “The TSC-mTOR pathway regulates macrophage polarization,” *Nat. Commun.*, vol. 4, 2013, doi: 10.1038/ncomms3834.
- [33] D. M. Ariestanti, H. Ando, S. Hirose, and N. Nakamura, “Targeted Disruption of Ig-Hepta / Gpr116 Causes Emphysema-like Symptoms That Are Associated with Alveolar Macrophage Activation *,” *J Biol Chem*, vol. 290, no. 17, pp. 11032–11040, 2015, doi: 10.1074/jbc.M115.648311.
- [34] L. R. Bonser *et al.*, “The endoplasmic reticulum resident protein AGR3: Required for regulation of ciliary beat frequency in the airway,” *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 53, no. 4, pp. 536–543, 2015, doi: 10.1165/rcmb.2014-0318OC.
- [35] J. A. Zepp *et al.*, “TRAF4-SMURF2-mediated DAZAP2 degradation is critical for IL-25 signaling and allergic airway inflammation,” *J. Immunol.*, vol. 194, no. 6, pp. 2826–37, 2015, doi: 10.4049/jimmunol.1402647.
- [36] R. Thiébaud *et al.*, “Characterization and genetic analyses of new genes coding for NOD2 interacting proteins,” *PLoS One*, vol. 11, no. 11, pp. 1–24, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0165420.
- [37] K. H. Fisher *et al.*, “A genome-wide RNAi screen identifies MASK as a positive regulator of cytokine receptor stability,” *J. Cell Sci.*, vol. 131, no. 13, p. jcs209551, 2018, doi: 10.1242/jcs.209551.
- [38] Y. Pang *et al.*, “Peptide SMIM30 promotes HCC development by inducing SRC/YES1 membrane anchoring and MAPK pathway activation,” *J. Hepatol.*, 2020, doi: 10.1016/j.jhep.2020.05.028.
- [39] S.-D. Ha, A. Martins, K. Khazaie, J. Han, B. M. C. Chan, and S. O. Kim, “Cathepsin B Is Involved in the Trafficking of TNF- α -Containing Vesicles to the Plasma Membrane in Macrophages,” *J. Immunol.*, vol. 181, no. 1, pp. 690–697, 2008, doi: 10.4049/jimmunol.181.1.690.
- [40] S. Lombardi, M. Vegni-Talluri, L. Banchieri, and F. Esposito, “The in vitro adherence of murine eosinophils, neutrophils and non-induced and induced macrophages to infective larvae of *Toxocara canis* (Nematoda, ascarididae),” *Int. J. Parasitol.*, vol. 20, no. 5, pp. 603–613, 1990, doi: 10.1016/0020-7519(90)90117-6.
- [41] G. Wirnsberger, F. Zwolanek, J. Stadlmann, and L. Tortola, “Jagunal-homolog 1 is a critical regulator of neutrophil function in fungal host defense,” *Nat. Genet.*, vol. 46, no. 9, pp. 1028–1033, 2014, doi: 10.1038/ng.3070.
- [42] M. R. Logan *et al.*, “A critical role for vesicle-associated membrane protein-7 in exocytosis from human eosinophils and neutrophils,” *Allergy*, vol. 61, no. 6, pp. 777–784, 2006, doi: 10.1111/j.1398-9995.2006.01089.x.
- [43] J. Finsterer and H. Auer, “Neurotoxocariasis,” *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, vol. 49, no. 5, pp. 279–287, 2007, doi: 10.1590/S0036-46652007000500002.
- [44] C. M. Chou, Y. L. Lee, C. W. Liao, Y. C. Huang, and C. K. Fan, “Enhanced expressions of neurodegeneration-associated factors, UPS impairment, and excess A β accumulation in the hippocampus of mice with persistent cerebral toxocariasis,” *Parasites and Vectors*, vol. 10, p. 620, Dec. 2017, doi: 10.1186/s13071-017-2578-6.
- [45] C. M. Chou and C. K. Fan, “Significant apoptosis rather autophagy predominates in astrocytes caused by *Toxocara canis* larval excretory-secretory antigens,” *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, vol. 53, no. 2, pp. 250–258, 2020, doi: 10.1016/j.jmii.2018.06.006.
- [46] R. T. Mallmann *et al.*, “Tetraspanin-13 modulates voltage-gated CaV2.2 Ca²⁺ channels,” *Sci. Rep.*, vol. 3, p. 1777, 2013, doi: 10.1038/srep01777.
- [47] F. Diaz, J. A. Enriquez, and C. T. Moraes, “Cells Lacking Rieske Iron-Sulfur Protein Have a Reactive Oxygen Species-Associated Decrease in Respiratory Complexes I and IV,” *Mol. Cell. Biol.*, vol. 32, no. 2, pp. 415–429, 2012, doi: 10.1128/mcb.06051-11.
- [48] F. M. Menzies, A. Fleming, and D. C. Rubinsztein, “Compromised autophagy and neurodegenerative diseases,” *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 16, no. 6, pp. 345–357, 2015, doi: 10.1038/nrn3961.

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

5.1 Aktywność naukowa przed uzyskaniem stopnia doktora

Już na początku swojej działalności naukowej, w trakcie studiów magisterskich, byłam zaangażowana w realizację projektu naukowego, dotyczącego badań nad szczepionką genetyczną przeciwko pasożytom żołądkowo-jelitowym przeżuwaczy na modelu: owca - *Haemonchus contortus* (projekt nr 5 P06K 005 19, realizowany w latach 2000-2003), w którym mogłam wykorzystać wiedzę z zakresu biologii molekularnej i inżynierii genetycznej zdobytą w trakcie studiów. Moim zadaniem w ramach tego projektu było klonowanie cDNA i produkcja rekombinowanego białka pasożyta w bakteryjnym systemie ekspresyjnym. Efekty pracy zostały przedstawione w formie następujących doniesień konferencyjnych:

- Mieszczanek J, Wiśniewski M, **Krzywosińska E**, Zysiak D, Wędrychowicz H, 2002. Molecular cloning of cDNA excretory/secretory proteins of adult *Haemonchus contortus* using PCR. Abstract of International conference ISNA, Warszawa,
- Mieszczanek J, Wiśniewski M, **Krzywosińska E**, Zysiak D, Wędrychowicz H. Production of *Haemonchus contortus* ES antigens using RT – PCR and pGex 4T expression vector. XIV Wrocławska Konferencja Parazytologiczna pt. "Parazytologia na przełomie X/XXI wieku" Wrocław, 18 X 2002 r. Wiadomości Parazytologiczne, 2003, 49 (1):77-79.

W trakcie studiów doktoranckich kontynuowałam tematykę dotyczącą opracowania szczepionek przeciw pasożytniczych. Pełniłam funkcję wykonawcy pomocniczego w projekcie pt. "Opracowanie wieloskładnikowej szczepionki przeciwko inwazjom tęgoryjców" (nr 3 P06K 024 24) finansowanego przez ówczesny Komitet Badań Naukowych. Efektem pracy było następujące doniesienie konferencyjne:

- Wiśniewski M, Jaros S, Bąska P, Daniłowicz E, **Długosz E**, Jaros D, Harrison L.M, Capello M, Wędrychowicz H. 2005. Research on vaccine against *Ancylostoma ceylanicum* using a variety of recombinant antigens". 2nd Polish Biotechnology Conference, Gdansk, 05.10.14-15,

oraz praca przeglądowa opisująca antygeny szczepionkowe oraz wyniki prób szczepionkowych przeprowadzonych z ich wykorzystaniem:

- Wiśniewski M, **Długosz E**, Bąska P, Wędrychowicz H. Poszukiwanie antygenów wzbudzających odporność przeciwko inwazjom tęgoryjców. Wiadomości Parazytologiczne, 2006, 52 (4):271-276).

Swoje zainteresowanie skierowałam w tym czasie na kwestie związane z odpowiedzią immunologiczną żywicieli na inwazję tęgoryjców. Analizowałam produkcję specyficznych przeciwciał w odpowiedzi na immunizację i zarażenie pasożytem. Interesowała mnie również odpowiedź komórkowa żywicieli w przebiegu tęgoryjczy. Byłam głównym wykonawcą grantu promotorskiego pt. „Określenie profilu i dynamiki odpowiedzi cytokin u chomików syryjskich immunizowanych cDNA bądź białkiem enzymów proteolitycznych *Ancylostoma ceylanicum*, a następnie zarażanych larwami inwazyjnymi tego nicienia" (projekt nr 2 P04B 004 30). Przygotowując swoją rozprawę doktorską przeanalizowałam literaturę związaną z tematem, czego wyrazem są dwa artykuły przeglądowe dotyczące analizy sekwencji kodujących interleukiny gryzoni oraz porównania odpowiedzi immunologicznej w inwazjach tęgoryjców u ludzi i u zwierząt laboratoryjnych:

- **Długosz E.**, Wędrychowicz H. Rodent interleukins – their molecular characteristics and a role in immunological responses against parasitic infections. *Acta Parasitologica*, 2004, 49 (3):182-189,
- **Długosz E.** Hookworm infections in human and laboratory animals – differences and similarities in immune responses. *Wiadomości Parazytologiczne*, 2005, 51 (3):219-225.

W tym czasie brałam również udział w projekcie, którego celem było określenie klas przeciwciał specyficznych dla antygenów nicienia *Haemonchus contortus* u owiec naturalnie zarażonych tym pasożytem, którego wyniki opublikowano w następującej pracy:

- Górski P, Popielarczyk D, Strzelec E, Niżnikowski R, **Długosz E**, Gajewska A, Kamińska A, Wędrychowicz H. Serum and saliva antibody isotypes against *Haemonchus contortus* in Żelaźnińska and Wrzosówka sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes over 2004 and 2005 grazing seasons. *Arch. Tierz., Dummerstorf - Archives of Animal Breeding*, 2006, 49:275-281).

Kolejnym tematem badawczym, w którym uczestniczyłam było określenie zmian biochemicznych obserwowanych w surowicy psów z babeszjozą. Najistotniejsze zmiany odnotowane w przeprowadzonej analizie to: zwiększony poziom albumin i transaminaz, podwyższona aktywność fosfatazy alkalicznej i wyższe stężenie kreatyniny oraz hipoglikemia, co opisano w:

- Zygmunt W, Rapacka G, Gójska-Zygmunt O, **Długosz E**, Wędrychowicz H. Biochemical abnormalities observed in serum of dogs infected with large *Babesia* in Warsaw (Poland). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2007, 10 (4):245-253).

Jeszcze innym kierunkiem badań, którym zainteresowałam się w trakcie realizacji pracy doktorskiej i który kontynuuję do dziś jest molekularna diagnostyka inwazji pasożytniczych. Pierwszym efektem badań była publikacja pracy przeglądowej na temat sekwencji DNA wykorzystywanych do diagnostyki:

- **Długosz E**, Wiśniewski M. Wykorzystanie sekwencji genu rRNA w molekularnej diagnostyce parazytologicznej. *Wiadomości Parazytologiczne*, 2006, 52 (4):263-269.

5.2 Aktywność naukowa po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych i zatrudnieniu w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie kontynuowałam prace badawcze dotyczące odpowiedzi immunologicznej chomika syryjskiego na inwazję tęgoryjców. W tym czasie ukazała się praca zawierająca wyniki uzyskane przez mnie w ramach doktoratu, opisująca wyprodukowanie rekombinowanych cytokin chomika, pozyskanie specyficznych przeciwciał rozpoznających te cytokiny i ich wykorzystanie do określenia poziomu IL-4, IL-12 i IFN- γ wydzielanych przez komórki odpornościowe zwierząt:

- **Długosz E**, Wiśniewski M, Wójcik L, Wędrychowicz H. In vitro IL-4, IL-12, and IFN- γ production by splenocytes from *Ancylostoma ceylanicum* infected hamsters. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2010, 54:321-325).

Kolejne opublikowane przez mnie prace opisują kontynuację badań rozpoczętych w ramach pracy doktorskiej. Dotyczą one wyprodukowania innych rekombinowanych cytokin chomika syryjskiego - TGF- β i IL-2 oraz określenia wydzielania tychże cytokin przez splenocyty zarażonych tęgoryjcami zwierząt. Produkcja tych dwóch cytokin różniła się

w zależności od wieku badanych zwierząt, najczęściej TGF- β wydzielaly komórki najmłodszych chomików, a wydzielanie IL-2 było najwyższe w grupie najstarszej:

- **Długosz E**, Lenard A, Baska P, Wędrychowicz H, Wiśniewski M Production of TGF- β 1 specific chicken polyclonal antibodies and their use in analysis of cytokine level in hookworm infected hamsters. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55:663-668,
- **Długosz E**, Cendrowski J, Baska P, Siwińska A, Wędrychowicz H, Wiśniewski M. Analysis of IL-2 production in hookworm infected hamster using generated polyclonal antibodies. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. 2012, 56:37-42.

Produkcja cytokin w odpowiedzi na antygeny tęgoryjców była też tematem innej pracy, której byłam współautorem. W tym przypadku do oceny wpływu rekombinowanego białka metaloproteazy Ace-MTP-2 *A. ceylanicum* na wydzielanie cytokin prozapalnych wykorzystano linię komórkową ludzkich makrofagów THP-1:

- Baska P, Wiśniewski M, Krzyżowska M, **Długosz E**, Zygmier W, Górski P, Wędrychowicz H. Molecular cloning and characterisation of in vitro immune response against astacin-like metalloprotease Ace-MTP-2 from *Ancylostoma ceylanicum*. Experimental Parasitology, 2013, 133:472-482).

W tym czasie nadal uczestniczyłam w badaniach związanych z tematem babeszjozy psów. Celem doświadczeń było określenie zmian w profilu biochemicznym u psów zarażonych *Babesia canis*. Moją główną rolą było oznaczenie stężenia cytokin w surowicy psów za pomocą testu ELISA. Niewątpliwym osiągnięciem badań było stwierdzenie podwyższonego poziomu TNF- α i IL-6 u zarażonych psów. Wysokie stężenie TNF- α jest negatywnie skorelowane z wartością ciśnienia tętniczego u psów z babeszjozą i prawdopodobnie odpowiada również za uszkodzenie nerek. Z kolei poziom IL-6 jest ujemnie skorelowany ze stężeniem hormonów tarczycy (TT3 i TSH) oraz ze stężeniem mocznika i kreatyniny w surowicy. Badania wskazały, że podczas babeszjozy dochodzi do zaburzeń pracy tarczycy, a dokładnie do rozwoju zespołu niskiej trijodotyroniny. Opisane badania opublikowano w następujących artykułach:

- Zygmier W, Gójska-Zygmier O, **Długosz E**, Wędrychowicz H. Liver enzyme activity in dogs infected with *Babesia canis*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55:423-427,
- Zygmier W, Gójska-Zygmier O, Baska P, **Długosz E**. Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*. Parasitology Research, 2014, 113 (4):1499-1503. DOI 10.1007/s00436-014-3792-1,
- Zygmier W, Gójska-Zygmier O, Baska P, **Długosz E**. Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. Veterinary Parasitology, 2015, 211 (1-2):23-7. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.04.023.

Ponadto kontynuowałam badania związane z opracowaniem szczepionki przeciwko inwazji tęgoryjców. Prace całego zespołu doprowadziły do sklonowania cDNA szeregu antygenów *A. ceylanicum* i ich produkcji w postaci białek rekombinowanych. Były to białka sekrecyjne (Ace-ASP-3, Ace-ASP-4, Ace-ASP-5) oraz metaloproteinaza Ace-MEP-7. Przydatność tych antygenów określano w próbach szczepionkowych z wykorzystaniem chomików syryjskich, które są laboratoryjnym modelem tęgoryjczy. Podanie koktajlu antygenów rekombinowanych skutkowało obniżeniem liczby pasożytów o 33,5 %:

- Siwińska AM, Baska P, Daniłowicz-Luebert E, Januszkiewicz K, **Długosz E**, Wędrychowicz H, Cappello M, Wiśniewski M. Cloning and molecular characterization of cDNAs encoding three *Ancylostoma ceylanicum* secreted proteins. Acta Parasitologica, 2013, 58 (1):112–118,

- Wiśniewski M, Łapiński M, Daniłowicz-Luebert E, Jaros S, **Długosz E**, Wędrychowicz H. Vaccination with a cocktail of *Ancylostoma ceylanicum* recombinant antigens leads to worm burden reduction in hamsters. *Acta Parasitologica*, 2016, 61 (3):556–561; DOI: 10.1515/ap-2016-0074).

Uzyskane wyniki stanowiły podstawę do poszukiwania skuteczniejszej formy immunizacji. Stąd narodził się pomysł wykorzystanie tzw. antygenów ukrytych (ang. hidden antigens), które pełnią ważną rolę w procesach fizjologicznych pasożyta, ale nie są prezentowane układowi immunologicznemu podczas inwazji. W tym celu sklonowaliśmy i wyprodukowaliśmy w bakteryjnym systemie ekspresyjnym dwie podjednostki (katalityczną – Ace-GCLC i modyfikatorową – Ace-GCLM) ligazy glutaminianowo – cysteinowej (Ace-GCL), jednego z dwóch enzymów zaangażowanych w syntezę glutationu. Glutathion jest ważną cząsteczką wewnątrzkomórkową zaangażowaną w ochronę komórki przed stresem oksydacyjnym i pełni główną rolę w utrzymaniu równowagi oksydoredukcyjnej. Zablockowanie tej cząsteczki przez przeciwciała powstałe w wyniku immunizacji mogłoby zaburzyć funkcjonowanie pasożytów i w ten sposób ograniczyć liczebność inwazji. Niestety badane antygeny nie wywołały ochronnej odpowiedzi immunologicznej u immunizowanych nimi żywicieli:

- Wiśniewski M, Łapiński M, Zdziarska A, **Długosz E**, Baska P. Molecular cloning and analysis of *Ancylostoma ceylanicum* glutamate–cysteine ligase. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2014, 196 (1):12-20. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2014.07.003).

W badaniach dotyczących opracowania szczepionki przeciw tęgoryjcom wykorzystaliśmy również cząsteczki DNA. Fragment cDNA kodujący metaloproteinazę Ace-mep-7 włączono w wektor pcDNA3.1 umożliwiający ekspresję w komórkach ssaków. Podanie zwierzętom tak przygotowanego konstrukt skutkowało obniżeniem liczby pasożytów o 50% i zmniejszeniem liczby wydalanych jaj o 78%. Badania prowadzone przez naszą grupę dowiodły, że immunizacja cząsteczkami DNA jest bezpieczna i może skutecznie ograniczyć liczebność pasożytów, ograniczyć rozprzestrzenianie się inwazji oraz poprawić stan zdrowia zwierząt:

- Wiśniewski M, Jaros S, Baska P, Cappello M, **Długosz E**, Wędrychowicz H. Hamsters vaccinated with Ace-mep-7 DNA vaccine produced protective immunity against *Ancylostoma ceylanicum* infection. *Experimental Parasitology*, 2016, 163:1-7. 10.1016/j.exppara.2016.01.006).

Kolejny temat badawczy, w którego realizacji uczestniczyłam dotyczy inwazji pasożytów u nerek (*Neovision vision*). Nasze badania rozpoczęto od wstępnego rozpoznania epidemiologicznego inwazji pasożytów jelitowych, w których stwierdziliśmy przypadki kokcydioz jelitowych o niskiej intensywności. Następnie w celu określenia roli nerek w transmisji toksokarozy przeprowadziliśmy eksperymentalne zarażenie tych zwierząt jajami glist z gatunku *Toxocara canis* i *Toxascaris leonina*. Ponieważ odnotowaliśmy obecność larw w tkankach i potwierdziliśmy inwazję metodami serologicznymi, a nie stwierdziliśmy obecności dorosłych pasożytów w jelicie, ani jaj w kale zwierząt mogliśmy stwierdzić, że są żywicielem paratenicznym glist, a ich odchody nie są źródłem inwazyjnych jaj. Przy okazji badań przeanalizowaliśmy dokładnie literaturę dotyczącą tematu, co było podstawą do przygotowania artykułu przeglądowego na temat występowania u nerek inwazji pierwotniaków. Wyżej opisane badania przedstawiono w następujących artykułach:

- Klockiewicz M, Jakubowski T, Janecka E, **Długosz E**. Wstępne rozpoznanie epidemiologiczne inwazji pasożytów jelitowych w wybranych fermach norek w Polsce. *Medycyna Weterynaryjna*, 2013, 69 (7):444-447,
- Klockiewicz M, Jakubowski T, Sobczak-Filipiak M, Bartosik J, **Długosz E**. Experimental infection with *T. canis* and *T. leonina* in farm mink (*Neovison Vison*). *Journal of Veterinary Research*, 2019, 63 (2):197-203. DOI:10.2478/jvetres-2019-0033,
- Klockiewicz M, Sobczak-Filipiak M, Jakubowski T, **Długosz E**. Histopathological lesions caused by experimental *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina* infections in farm mink (*Neovison Vison*). *Journal of Veterinary Research*, 2019, 63 (2):205-214. DOI:10.2478/jvetres-2019-0034,
- Klockiewicz M, **Długosz E**, Jakubowski T. A review of the occurrence and clinical consequences of protozoan infections in carnivorous fur farm animals. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2021, 28 (2):199-207, 10.26444/aaem/120974.

W 2015 roku rozpoczęliśmy jako zespół Zakładu Parazytologii i Chorób Inwazyjnych prace badawcze dotyczące pasożytniczego nicienia *Dirofilaria repens*. Celem prac była analiza występowania tego pasożyta, analiza przypadków i poszukiwanie nowych narzędzi diagnostycznych. Przeanalizowaliśmy próbki krwi i surowicy zarażonych psów i wykazaliśmy, że inwazja *D. repens* jest związana z obniżeniem liczby limfocytów, erytrocytów i trombocytów, obniżeniem hematokrytu i zwiększeniem aktywności alkalicznej fosfatazy i kreatyniny. Uzyskane dane wskazują, że inwazja nicienia może wywoływać stan przewlekłego stresu u psów:

- Wyszczek ME, Dobrzyński A, **Długosz E**, Czopowicz M, Wiśniewski M, Jurka P, Klockiewicz M. Hematological and biochemical changes in dogs naturally infected with *Dirofilaria repens*. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7:590. DOI:10.3389/fvets.2020.00590).

Analiza czterech przypadków dirofilariozy u psów z bardzo liczną mikrofilaremią pozwoliła na wysnucie przypuszczenia, że tak wysoka liczba mikrofilarii we krwi zwierząt jest najprawdopodobniej związana z występującym równolegle stanem immunosupresji u tych pacjentów, w związku z czym ich organizm nie jest w stanie kontrolować inwazji:

- Wyszczek ME, Klockiewicz M, Sobczak-Filipiak M, **Długosz E**, Wiśniewski M. Case studies of severe microfilaremia in four dogs naturally infected with *Dirofilaria repens* as the primary disease or a disease complicating factor. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7:577466. DOI:10.3389/fvets.2020.577466).

Po raz pierwszy opisaliśmy przypadki wertykalnej transmisji pasożyta u psów i kotów:

- Klockiewicz M, Szmidt A, Dobrzyński A, Wyszczek M, **Długosz E**. Przypadek wertykalnej inwazji *Dirofilaria repens* w rodzinie kotów. *Magazyn Weterynaryjny*, 2018, 1:5-9,
- **Długosz E**, Szmidt A, Dobrzyński A, Wyszczek M, Klockiewicz M. Molecular investigation of possible *Dirofilaria repens* vertical transmission from queen to offspring - case report from Poland. *Parasites & Vectors* 2016, 10(Suppl 1):A20 DOI 10.1186/s13071-016-1902-x. Conference: Fifth European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days (FiEDAD) 2016, Vienna, Austria. 11–13 July 2016,
- Wyszczek ME, Klockiewicz M, **Długosz E**, Sobczak-Filipiak M, Spruch W, Wiśniewski M. „First report of transplacental transmission of *Dirofilaria repens* in dogs” Proceedings of the 22nd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Cordoba, Spain, 27-29 September 2018, *Reproduction in Domestic Animals* 53 (S2) 209, P313.

Innym kierunkiem badań dotyczącym dirofilariozy było poszukiwanie nowych narzędzi diagnostycznych. Na początku skupiliśmy się na określeniu klas przeciwciał reagujących z antygenami somatycznymi pasożyta:

- **Długosz E**, Wyszomłek ME, Dobrzyński A, Zawistowska-Deniziak A, Klockiewicz M. Characterization of the humoral response in dogs infected with *Dirofilaria repens*. Proceedings of 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. July 5 - 7, 2018. Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, O11,
- Wyszomłek ME, Klockiewicz M, **Długosz E**, Wiśniewski M. Canine antibody response against *Dirofilaria repens* in natural occult and microfilaremic infections. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2022, 86:101818.

Nasze badania wskazują, że jedynie przeciwciała klasy IgG specyficznie rozpoznają antygeny *D. repens*. Wykazaliśmy również, że wytypowanie psów z amikrofilaremiczną postacią inwazji jest możliwe z wykorzystaniem opisanej metody serologicznej, co nie jest możliwe przy wykorzystaniu metod diagnostycznych stosowanych rutynowo. Jednak wykorzystanie natywnych antygenów pasożyta jest problematyczne, ponieważ dostępność pasożytów jest bardzo ograniczona. Dlatego w kolejnym etapie badań sklonowaliśmy fragmenty cDNA kodujące białka nicienia, wyprodukowaliśmy rekombinowane antygeny i analizowaliśmy ich przydatność do celów diagnostycznych. Żadna z badanych cząsteczek nie okazała się niestety wystarczająco specyficzna. W związku z tym postanowiliśmy wytypować krótkie peptydy o długości 12 aminokwasów z wykorzystaniem biblioteki fagowej. Opublikowana niedawno praca opisuje wytypowanie peptydu LH10 jako markera diagnostycznego dirofilariozy psów:

- Pękacz M, Basalaj K, Kalinowska A, Klockiewicz M, Stopka D, Baska P, **Długosz E**, Karabowicz J, Młocicki D, Wiśniewski M, Zawistowska-Deniziak A. Selection of new diagnostic markers for *Dirofilaria repens* infections with the use of phage display technology. Scientific Reports, 2022, 12: 2288.

Wieloletnia praca badawcza związana z tematyką inwazji pasożytniczych filarii wiązała się z wnikliwą analizą literatury badawczej, której efektem była praca przeglądowa na temat roli komórek śródbłonkowych w odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciw tym pasożytom:

- Wyszomłek ME, **Długosz E**, Wiśniewski M. The immunological role of vascular and lymphatic endothelial cells in filarial infections. Animals, 2022, 12: 426.

Wyniki uzyskane w trakcie badań dotyczących dirofilariozy zaprezentowano na wielu konferencjach naukowych:

- Dobrzyński A, Klockiewicz M, **Długosz E**, Kacprzak K, Kanafa S, Jurka P. The *Dirofilaria repens* cases in the reproductive system of dogs in Poland. Reprod Dom Anim 2016; 51 (Suppl. 2): 66–153, - Conference: Joint Meeting of the 20th Annual Conference of the European-Society-for-Domestic-Animal-Reproduction (ESDAR) / 13th Conference of the Spanish-Association-for-Animal-Reproduction (AERA) Location: Lisbon, PORTUGAL, October 27-29, 2016,
- Dobrzyński A, Klockiewicz M, Wyszomłek M, Czopowicz M, Parzeniecka-Jaworska M, Nowakowska J, **Długosz E**. Investigations on *Dirofilaria repens* infection in Polish dogs – looking for the objective features of the infection. Parasites & Vectors 2016, 10(Suppl 1): A10. Conference: Fifth European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days (FiEDAD) 2016, Vienna, Austria. 11–13 July 2016 – doniesienie ustne,
- Dobrzyński A, Klockiewicz M, **Długosz E**. „Czy inwazje *Dirofilaria repens* stanowią rzeczywiste zagrożenia dla ludzi i zwierząt w Polsce?”, I Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Choroby zakaźne i pasożytnicze człowieka – problem współczesnego społeczeństwa” Lublin, 16 listopada 2017 – doniesienie ustne,
- Klockiewicz M, Dobrzyński A, **Długosz E**. „Dirofilarioza - narastający problem zdrowotny zwierząt mięsożernych i ludzi”, I konferencja naukowo-szkoleniowa „Parazytozy zwierząt – aktualne zagrożenia – nowe rozwiązania terapeutyczne i profilaktyczne” Ciechanowiec 29.09.2017 - doniesienie ustne,
- Wyszomłek ME, **Długosz E**, Klockiewicz M, Wiśniewski M. „Poszukiwanie immunogennych antygenów somatycznych *Dirofilaria repens*”, I konferencja naukowo-szkoleniowa „Parazytozy zwierząt – aktualne zagrożenia – nowe rozwiązania terapeutyczne i profilaktyczne” Ciechanowiec 29.09.2017,

- Klockiewicz M, Dobrzyński A, Wyszomłok ME, Nowakowska J, *Długosz E*. Investigation on *D. repens* infection in dog shelters in Poland. Proceedings of 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. July 5 - 7, 2018. Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, O3 - doniesienie ustne,
- **Długosz E**, Dobrzyński A, Wyszomłok ME, Klockiewicz M. Laboratory diagnostics of canine skin dirofilariosis - a matter of dispute. DIAGMOL 2018: XIX Conference on "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology": Warsaw University of Life Science-SGGW, Crystal Hall - Warsaw, Poland, 17 November 2018, 2018, Warsaw, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, s.209-209, ISBN 978-83-7583-805-3,
- Pękacz M, Baska P, **Długosz E**, Wyszomłok ME, Klockiewicz M, Wiśniewski M. Molecular cloning of Dre-33 cDNA and bioinformatic evaluation of its suitability as a diagnostic antigen for cutaneous dirofilariosis. Proceedings of 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. July 5 - 7, 2018. Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, P2,
- Klockiewicz M, Dobrzyński A, Sobczak-Filipiak M, Spruch W, Wyszomłok ME, **Długosz E**. The case of severe *Dirofilaria repens* infection in a German Shepard Dog. Proceedings of 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. July 5 - 7, 2018. Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, P19,
- Wyszomłok ME, **Długosz E**, Baska P, Zawistowska-Deniziak A, Klockiewicz M, Wiśniewski M. Human macrophages cytokine response to *Dirofilaria repens* antigens. 27th Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, July 7-19 2019, Madison, WI, USA.

W ramach współpracy z dr hab. Dorotą Zielińską prof. SGGW z Instytutu Nauk o Żywieniu Człowieka SGGW uczestniczyłam w badaniach dotyczących bakterii probiotycznych izolowanych z żywności. Moją rolą było przede wszystkim prowadzenie części eksperymentów z wykorzystaniem hodowli komórkowych *in vitro*. Nas zespół wykazał, że szczepy *Lactobacillus plantarum* i *L. rhamnosus* izolowane z kiszonych warzyw obniżają wydzielanie cytokin prozapalnych przez makrofag THP-1 stymulowane lipopolisacharydem i hamują wzrost i przyleganie do komórek nabłonka jelita bakterii patogennych m.in. *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* czy *Staphylococcus aureus*. Również szczepy *L. plantarum* izolowane z polskich regionalnych serów takich jak oscypek i ser koryciński również wykazują właściwości antybakteryjne i hamują wzrost *S. aureus*. Powyższe badania opisano w następujących publikacjach:

- Zielińska D, **Długosz E**, Zawistowska-Deniziak A. Functional properties of food origin *Lactobacillus* in the gastrointestinal ecosystem—in vitro study. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2019, 11 (3):820-829,
- Ołdak A, Zielińska D, Łepecka A, **Długosz E**, Kołożyn-Krajewska D. *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Polish regional cheeses exhibit anti-staphylococcal activity and selected probiotic properties. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2020, 12(3): 1025-1038,
- Zielińska D, Łepecka A, Ołdak A, **Długosz E**, Kołożyn-Krajewska D. Growth and adhesion inhibition of pathogenic bacteria by live and heat-killed food-origin *Lactobacillus* strains or their supernatants. FEMS Microbiology Letters, 2021, 368 (5):1-9

i doniesieniach konferencyjnych:

- Zielińska D, **Długosz E**, Ołdak A, Rzepkowska A, Kołożyn-Krajewska D. Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych wybranych szczepów bakterii *Lactobacillus* wyizolowanych z żywności. VIII Sympozjum Naukowe „Probiotyki w żywności”. Kiry k/Zakopanego, 26-28.04.2017 - doniesienie ustne,
- Zielińska D, **Długosz E**, Rzepkowska A. Wybrane właściwości funkcjonalne szczepów *Lactobacillus* wyizolowanych z żywności. XLIII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu Polskiej Akademii Nauk „ŻYWNÓŚĆ DLA RZYSZŁOŚCI” Wrocław, 4-5 lipca 2017 - doniesienie ustne,
- Ołdak A, Zielińska D, **Długosz E**, Łepecka A, Kołożyn-Krajewska D. Przeciw-gronkowcowa aktywność bakterii *Lactobacillus* w badaniach modelowych. XIII Konferencja Naukowej z cyklu „Żywność XXI wieku” - ŻYWNÓŚĆ A SKŁADNIKI BIOAKTYWNE, Kraków 24-25 września 2018 - doniesienie ustne,

- Ołdak A, Zielińska D, Łepecka A, **Długosz E**, Kołożyn-Krajewska D. Nowe szczepy *Lactobacillus plantarum* o właściwościach funkcjonalnych i probiotycznych. X Sympozjum Naukowe „Probiotyki w żywności”. Kiry k/Zakopanego, 10-12.04.2019 - doniesienie ustne,
- Książarczyk K, Neffe-Skocińska K, **Długosz E**, Zielińska D. Porównanie wyselekcjonowanych szczepów bakterii kwasu mlekowego i octowego pod względem potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej. XI Sympozjum Naukowe „Probiotyki i Prebiotyki w Żywności”. Konferencja on-line, 23. kwiecień 2021 - doniesienie ustne.

Diagnostyka parazytologiczna, w szczególności metody wykorzystujące techniki molekularne, przede wszystkim PCR, to jeszcze inny kierunek mojej pracy badawczej. Skupiłam się głównie na identyfikacji gatunkowej pasożytów pozyskanych z zarażonych zwierząt. Były to tasiełce koni:

- Bartosik J, Łojek J, **Długosz E**, Górski P, Zygmunt W. Molecular identification of tapeworms from Konik Polski horses from Biebrza National Park. *Annals of Parasitology*, 2021, 67 (4), 619-626, 10.17420/ap6704.378),

przywry i tasiełce izolowane z dzikożyjących nerek (praca w przygotowaniu) czy wspomniane wcześniej filarie psów. Rezultatem tych badań było zamieszczenie kilkudziesięciu sekwencji nukleotydowych rybosomalnego DNA pasożytów w bazie danych GenBank.

Moje doświadczenie w molekularnej diagnostyce było też podłożem do nawiązania współpracy międzynarodowej z dr Viktorią Levytską z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Technologii w Hodowli Zwierząt Podolskiego Państwowego Uniwersytetu Rolniczo-Technicznego w Kamieńcu Podolskim w Ukrainie. Uczestniczyłam w projekcie dotyczącym wykrywania i identyfikacji patogenów przenoszonych przez kleszcze w kilku regionach krainy, który został opublikowany w 2021 roku:

- Levytska VA, Mushinsky AB, Cernanska D, Blannarova L, **Długosz E**, Vichova B, Slivinska KA, Gajewski Z, Gizinski S, Liu S, Zhou L, Rogovsky AS. Detection of pathogens in ixodid ticks collected from animals and vegetation in five regions of Ukraine. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2021, 12 (1):101586.

W ramach współpracy międzynarodowej z naukowcami z Griffith Institute for Drug Discovery i Melbourne Veterinary School w Australii uczestniczyłam w projekcie dotyczącym fosfatazy fosforanu trehalozy (Trehalose-6-phosphate phosphatase, TPP). TPP to enzym katalizujący syntezę trehalozy, która jest niezbędnym metabolitem wielu organizmów np. bakterii *Mycobacterium tuberculosis* czy nicieni *Caenorhabditis elegans*, ale nie występuje u kręgowców. Powyższe właściwości sprawiają, że enzym ten jest dogodnym celem terapeutycznym, co szerzej opisano w pracy przeglądowej, której jestem współautorem:

- Cross M, Rajan S, Biberacher S, Park SY, Coster MJ, **Długosz E**, Kim JS, Gasser RB, Hoffman A. Trehalose-6-phosphate phosphatase as a broad-spectrum therapeutic target against eukaryotic and prokaryotic pathogens. *Emerging Topics in Life Sciences*, 2017, 1:675–683.

Naszemu zespołowi udało się ustalić, że cząsteczka *N*-(fenylotio)ftalimidu hamuje aktywność TPP i posiada właściwości antypasożytnicze. Moją rolą w tym projekcie było określenie żywotności larw glisty psiej i glisty kociej po traktowaniu ich badanym inhibitorem. Larwy obu gatunków były wrażliwe na działanie badanej cząsteczki, jednak dużo większa śmiertelność zaobserwowałam w przypadku larw glisty kociej. Ustalono, że inhibitor hamuje również aktywność TPP nicieni *A. ceylanicum* i *H. contortus*. Badania potwierdzają zatem, że blokowanie cząsteczki TPP może być dobrą strategią terapeutyczną. W związku z tym powstał pomysł sprawdzenia przydatności rekombinowanej cząsteczki TPP *T. canis* jako antygenu

szczepionkowego, który jest obecnie realizowany w Zakładzie Parazytologii i Chorób Inwazyjnych. Wyżej wymienione badania opublikowano w artykule:

- Cross M, York M, **Długosz E**, Straub JH, Biberacher S, Herath HMPD, Logan SA, Kim JS, Gasser RB, Ryan JH, Hofmann A. A suicide inhibitor of nematode trehalose-6-phosphate phosphatases. *Scientific Reports*, 2019, 9 (1):16165.

Od kilku lat współpracuję również z prof. Irmą Schabussovą z Instytutu Profilaktyki Specjalistycznej i Medycyny Tropikalnej, Uniwersytetu Medycznego w Wiedniu. W lutym 2022 roku zakończyliśmy realizację projektu bilateralnej wymiany naukowców pomiędzy Polska a Republika Austrii finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej (projekt nr PPN/BIL/2018/1/00135). W ramach projektu prowadziłyśmy wspólne badania naukowe dotyczące możliwości wykorzystania rekombinowanych mucyn *T. canis* jako antygenów diagnostycznych oraz analizowałyśmy wpływ antygenów glisty psiej na reakcję immunologiczną w płucach myszy. Nasza współpraca w tym temacie będzie kontynuowana podczas realizacji projektu OPUS20 pt. "Rola interleukiny-6 w patologii płuc wywołanej inwazją *Toxocara canis*" (2020/39/B/NZ6/02176), którego jestem kierownikiem.

Podsumowując, moja dotychczasowa praca naukowa dotyczyła głównie badania różnych aspektów interakcji pasożyt-żywiciel oraz diagnostyki molekularnej inwazji pasożytniczych. Efektem pracy naukowej jest:

- Współautorstwo 42 artykułów naukowych (6 z nich przed uzyskaniem stopnia doktora i 36 po uzyskaniu stopnia doktora), w tym 30 prac oryginalnych i 11 artykułów przeglądowych; 35 artykułów zamieszczonych jest w bazie Web of Science Core Collection,
- Współautorstwo 36 doniesień konferencyjnych (3 przed uzyskaniem stopnia doktora i 33 po uzyskaniu stopnia doktora),
- Uczestnictwo w realizacji 7 grantów naukowych, w tym 4 w roli kierownika,
- Współautorstwo 64 zgłoszeń sekwencji do bazy danych GenBank,
- Łączny Impact Factor (wg bazy Journal Citation Reports): **69,406** (1,342 przed uzyskaniem stopnia doktora, 68,064 po uzyskaniu stopnia doktora),
- Łączna liczba punktów MEiN: **1794** (43 przed uzyskaniem stopnia doktora, 1751 po uzyskaniu stopnia doktora),
- Indeks Hirscha: **9**,
- Łączna liczba cytowań (wg Web of Science, Core Collection): **212**, w tym 183 bez autocytowań.

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

6.1 Osiągnięcia dydaktyczne

Swoją działalność dydaktyczną rozpoczęłam w trakcie studiów doktoranckich, w trakcie których odbyłam praktykę pod opieką pracowników Zakładu Parazytologii i Chorób Inwazyjnych. Od momentu zatrudnienia na stanowisku adiunkta, czyli od 2008 roku realizuję zajęcia z wielu przedmiotów na różnych kierunkach studiów:

- Od 2008 Biologia molekularna na kierunku Biotechnologia – ćwiczenia,
- Od 2008 do 2021 Biologia Komórki Zwierzęcej na kierunku Biologia - ćwiczenia i część wykładów,
- Od 2010 Parazytologia i Inwazjologia (po polsku i po angielsku) na kierunku Weterynaria oraz Erasmus, od 2011 prowadzę również część wykładów,
- Od 2010 Zastosowanie biotechnologii w profilaktyce chorób zwierząt na kierunku Biotechnologia - wykłady, od 2013 jestem koordynatorem przedmiotu,
- Od 2014 do 2020 Immunosupresja w chorobach zakaźnych i inwazyjnych na kierunku Biotechnologia – wykłady, koordynator przedmiotu,
- Od 2014 Inżynieria genetyczna na kierunku Bioinżynieria Zwierząt – ćwiczenia,
- W 2014 roku Biotechnology applied in control of parasitic diseases (projekt Erasmus),
- Od 2015 Parazytologia molekularna na kierunku Bioinżynieria Zwierząt, ćwiczenia i wykłady,
- Od 2016 Bioinżynieryjne techniki w produkcji szczepionek dla kierunku Bioinżynieria Zwierząt, – wykłady i ćwiczenia, od początku realizacji przedmiotu jestem koordynatorem przedmiotu,
- Od 2017 Molekularne mechanizmy interakcji pasożyt żywicieli i lekooporności pasożytów na kierunku Biotechnologia - ćwiczenia, od 2019 roku również wykłady.

Drugą ważną częścią mojej działalności dydaktycznej jest opieka nad studentami realizującymi prace dyplomowe. Od 2008 roku byłam promotorem 10 prac magisterskich na kierunkach: Biologia, Biotechnologia i Bioinżynieria Zwierząt, w tym 2 w języku angielskim jako kopromotor; jednej pracy dyplomowej w języku angielskim na kierunku Weterynaria; 13 prac inżynierskich i licencjackich na kierunkach: Biologia, Biotechnologia i Bioinżynieria Zwierząt. Ponadto wykonałam 18 recenzji prac dyplomowych. Jestem również promotorem pomocniczym uczestniczek studiów doktoranckich: lek. wet Magdaleny Wyszomółek, która ukończyła już badania i obecnie przygotowuje rozprawę doktorską oraz mgr Justyny Karabowicz, która jest studentką drugiego roku Szkoły Doktorskiej SGGW.

W 2014 i 2017 roku uczestniczyłam również w kształceniu lekarzy weterynarii w ramach studiów podyplomowych – Studium Diagnostów Klinicznych, podczas których wygłaszałam wykład na temat molekularnych i serologicznych metod diagnostycznych stosowanych w parazytologii.

6.2 Działalność organizacyjna i popularyzatorska

- Od 2012 roku jestem jedną z koordynatorek w Katedrze Nauk Przedklinicznych odpowiedzialnych za układanie planów dydaktycznych i rozliczanie godzin dydaktycznych pracowników katedry.
- W latach 2017-2018 byłam członkiem Komisji Hospitacyjnej na kierunku Biotechnologia na Wydziale Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu
- Od 2019 jestem członkiem Rady Programowej na kierunku Biotechnologia na Wydziale Biologii i Biotechnologii
- W 2019 roku uczestniczyłam w XLVI Przeglądzie Dorobku Kół Naukowych Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie jako członek jury
- W latach 2007, 2009-2013 prowadziłam lekcje dla uczniów szkół podstawowych i ponadpodstawowych w ramach Festiwalu Nauki
- Od 2017 roku jestem członkiem Stowarzyszenia Polskiej Rady Konsultacyjnej ds. Parazytoz Zwierząt Towarzyszących - ESCCAP Polska. W ramach działalności stowarzyszenia uczestniczyłam w konferencjach medycznych, podczas których przekazywaliśmy uczestnikom informacje na temat zoonotycznych inwazji pasożytniczych.

Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny

I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b:

- I. **Długosz E**, Wasyl K, Klockiewicz M, Wiśniewski M. *Toxocara canis* mucins among other excretory-secretory antigens induce in vitro secretion of cytokines by mouse splenocytes. *Parasitology Research*, 2015, 114:3365–3371, DOI: 10.1007/s00436-015-4561-5. (30 pkt MNiSW₂₀₁₅, IF₂₀₁₅ = 2,027)

Mój udział w powstawaniu pracy (80%) polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu większości doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

- II. **Długosz E**, Wiśniewski M. *Toxocara canis* glycans influence antigen recognition by mouse IgG1 and IgM antibodies. *Acta Parasitologica*, 2016, 61 (1):191–194. DOI: 10.1515/ap-2016-0026. (20 pkt MNiSW₂₀₁₆, IF₂₀₁₆ = 1,16)

Mój udział w powstawaniu pracy (80%) polegał na, opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu większości doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

- III. **Długosz E**, Basała K, Zawistowska-Deniziak A. Cytokine production and signalling in human THP-1 macrophages is dependent on *Toxocara canis* glycans. *Parasitology Research*, 2019, 118 (10):2925-2933. DOI:10.1007/s00436-019-06405-8. (70 pkt MNiSW₂₀₁₉, IF₂₀₁₉ = 1,641)

Mój udział w powstawaniu pracy (85%) polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu większości doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

- IV. **Długosz E**, Milewska M, Baska P. Identification of *Toxocara canis* antigen-interacting partners by yeast two-hybrid assay and a putative mechanism of these host–parasite interactions. *Pathogens*, 2021, 10 (8):949. DOI:10.3390/pathogens10080949. (100 pkt MNiSW₂₀₂₁, IF₂₀₂₁ = 4,531)

Mój udział w powstawaniu pracy (80%) polegał na opracowaniu koncepcji badań, pozyskaniu finansowania, zaplanowaniu, przygotowaniu i przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu. Jestem autorem korespondencyjnym pracy.

II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).
2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.
3. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.
4. **Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).**

a. Przed uzyskaniem stopnia doktora:

Lp	Publikacja	IF	Punktacja MEiN
1	Długosz E. , Wędrychowicz H. Rodent interleukins – their molecular characteristics and a role in immunological responses against parasitic infections. Acta Parasitologica, 2004, 49 (3):182-189	0,56	10
2	Długosz E. Hookworm infections in human and laboratory animals – differences and similarities in immune responses. Wiadomości Parazytologiczne, 2005, 51 (3):219-225	-	4
3	Długosz E. , Wiśniewski M. Wykorzystanie sekwencji genu rRNA w molekularnej diagnostyce parazytologicznej. Wiadomości Parazytologiczne, 2006, 52 (4):263-269	-	4
4	Wiśniewski M, Długosz E. , Bąska P, Wędrychowicz H. Poszukiwanie antygenów wzbudających odporność przeciwko inwazjom tęgoryjców. Wiadomości Parazytologiczne, 2006, 52 (4):271-276	-	4
5	Górski P, Popielarczyk D, Strzelec E, Niżnikowski R, Długosz E. , Gajewska A, Kamińska A, Wędrychowicz H. Serum and saliva antibody isotypes against <i>Haemonchus contortus</i> in Żelaznieńska and Wrzosówka sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes over 2004 and 2005 grazing seasons. Arch. Tierz., Dummerstorf - Archives of Animal Breeding, 2006, 49:275-281	0,491	15
6	Zygner W, Rapacka G, Gójska-Zygner O, Długosz E. , Wędrychowicz H. Biochemical abnormalities observed in serum of dogs infected with large Babesia in Warsaw (Poland). Polish Journal of Veterinary Sciences, 2007, 10 (4):245-253	0,291	6
RAZEM		1,342	43

b. Po uzyskaniu stopnia doktora:

L.p.	Publikacja	IF	Punktacja MEiN
1	Długosz E. , Wiśniewski M, Wójcik L, Wędrychowicz H. In vitro IL-4, IL-12, and IFN-g production by splenocytes from <i>Ancylostoma ceylanicum</i> infected hamsters. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2010, 54:321-325	0,321	20
2	Zygner W, Gójska-Zygner O, Długosz E. , Wędrychowicz H. Liver enzyme activity in dogs infected with <i>Babesia canis</i> . Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55:423-427	0,414	20
3	Długosz E. , Lenard A, Bąska P, Wędrychowicz H, Wiśniewski M Production of TGF-β1 specific chicken polyclonal antibodies and their use in analysis of cytokine level in hookworm infected hamsters. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55:663-668	0,414	20
4	Długosz E. , Cendrowski J, Bąska P, Siwińska A, Wędrychowicz H, Wiśniewski M. Analysis of IL-2 production in hookworm infected hamster using generated polyclonal antibodies. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. 2012, 56:37-42	0,377	20
5	Klockiewicz M, Jakubowski T, Janecka E, Długosz E. Wstępne rozpoznanie epidemiologiczne inwazji pasożytów jelitowych w wybranych fermach nerek w Polsce. Medycyna Weterynaryjna, 2013, 69 (7):444-447	-	15

6	Siwińska AM, Baska P, Daniłowicz-Luebert E, Januszkiewicz K, Długosz E , Wędrychowicz H, Cappello M, Wiśniewski M. Cloning and molecular characterization of cDNAs encoding three <i>Ancylostoma ceylanicum</i> secreted proteins. <i>Acta Parasitologica</i> , 2013, 58 (1):112–118. DOI: 10.2478/s11686-013-0116-z	0,965	20
7	Baska P, Wiśniewski M, Krzyżowska M, Długosz E , Zygmier W, Górski P, Wędrychowicz H. Molecular cloning and characterisation of <i>in vitro</i> immune response against astacin-like metalloprotease Ace-MTP-2 from <i>Ancylostoma ceylanicum</i> . <i>Experimental Parasitology</i> , 2013, 133:472-482. DOI: 10.1016/j.exppara.2013.01.006	2,154	25
8	Zygmier W, Gójska-Zygmier O, Baska P, Długosz E . Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with <i>Babesia canis</i> . <i>Parasitology Research</i> , 2014, 113 (4):1499-1503. DOI: 10.1007/s00436-014-3792-1	2,098	30
9	Wiśniewski M, Łapiński M, Zdziarska A, Długosz E , Baska P. Molecular cloning and analysis of <i>Ancylostoma ceylanicum</i> glutamate–cysteine ligase. <i>Molecular and Biochemical Parasitology</i> , 2014, 196 (1):12-20. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2014.07.003	1,787	25
10*	Długosz E , Wasyl K, Klockiewicz M, Wiśniewski M. <i>Toxocara canis</i> mucins among other excretory-secretory antigens induce <i>in vitro</i> secretion of cytokines by mouse splenocytes. <i>Parasitology Research</i> , 2015, 114:3365–3371, DOI: 10.1007/s00436-015-4561-5	2,027	30
11	Zygmier W, Gójska-Zygmier O, Baska P, Długosz E . Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. <i>Veterinary Parasitology</i> , 2015, 211 (1-2):23-7. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.04.023	2,242	40
12*	Długosz E , Wiśniewski M. <i>Toxocara canis</i> glycans influence antigen recognition by mouse IgG1 and IgM antibodies. <i>Acta Parasitologica</i> , 2016, 61 (1):191–194. DOI: 10.1515/ap-2016-0026	1,16	20
13	Wiśniewski M, Jaros S, Baska P, Cappello M, Długosz E , Wędrychowicz H. Hamsters vaccinated with Ace-mep-7 DNA vaccine produced protective immunity against <i>Ancylostoma ceylanicum</i> infection. <i>Experimental Parasitology</i> , 2016, 163:1-7. DOI: 10.1016/j.exppara.2016.01.006	1,724	25
14	Wiśniewski M, Łapiński M, Daniłowicz-Luebert E, Jaros S, Długosz E , Wędrychowicz H. Vaccination with a cocktail of <i>Ancylostoma ceylanicum</i> recombinant antigens leads to worm burden reduction in hamsters. <i>Acta Parasitologica</i> , 2016, 61 (3):556–561; DOI: 10.1515/ap-2016-0074	1,16	20
15	Klockiewicz M, Długosz E , Dobrzyński A. Inwazje pasożytnicze u kociąt i szczeniąt – jakie są rzeczywiste zagrożenia? <i>Magazyn Weterynaryjny</i> , 2017, 26 (6):27-33	-	3
16	Dobrzyński A, Klockiewicz M. Długosz E . Filariozy – zagrożenia zdrowia na świecie i w Polsce. 2017. <i>Magazyn Weterynaryjny</i> , 2017, 26 (236):4, 6, 8, 10-11	-	3
17	Cross M, Rajan S, Biberacher S, Park SY, Coster MJ, Długosz E , Kim JS, Gasser RB, Hoffman A. Trehalose-6-phosphate phosphatase as a broad-spectrum therapeutic target against eukaryotic and prokaryotic pathogens. <i>Emerging Topics in Life Sciences</i> , 2017, 1:675–683. DOI: 10.1042/ETLS20170106	-	-
18	Klockiewicz M, Szmidt A, Dobrzyński A, Wymolek M, Długosz E . Przypadek wertykalnej inwazji <i>Dirofilaria repens</i> w rodzinie kotów. <i>Magazyn Weterynaryjny</i> , 2018, 1:5-9	-	3
19*	Długosz E , Basałaj K, Zawistowska-Deniziak A. Cytokine production and signalling in human THP-1 macrophages is dependent on <i>Toxocara canis</i> glycans. <i>Parasitology Research</i> , 2019, 118 (10):2925-2933. DOI: 10.1007/s00436-019-06405-8	1,641	70
20	Bartosik J, Lojek J, Puchala M, Kaczyk J, Gorski P, Długosz E , Zygmier W. Prevalence of intestinal parasites detected in routine coproscopic methods in dogs and cats from the Masovian voivodeship in 2012-2015. <i>Medycyna Weterynaryjna</i> , 2019, 75 (5):293-297. DOI: 10.21521/mw.6153	0,28	20

21	Cross M, York M, Długosz E , Straub JH, Biberacher S, Herath HMPD, Logan SA, Kim JS, Gasser RB, Ryan JH, Hofmann A. A suicide inhibitor of nematode trehalose-6-phosphate phosphatases. <i>Scientific Reports</i> , 2019, 9 (1):16165. DOI: 10.1038/s41598-019-52593-9	3,998	140
22	Klockiewicz M, Sobczak-Filipiak M, Jakubowski T, Długosz E . Histopathological lesions caused by experimental <i>Toxocara canis</i> and <i>Toxascaris leonina</i> infections in farm mink (<i>Neovison vison</i>). <i>Journal of Veterinary Research</i> , 2019, 63 (2):205-214. DOI: 10.2478/jvetres-2019-0034	1,039	40
23	Klockiewicz M, Jakubowski T, Sobczak-Filipiak M, Bartosik J, Długosz E . Experimental infection with <i>T. canis</i> and <i>T. leonina</i> in farm mink (<i>Neovison vison</i>). <i>Journal of Veterinary Research</i> , 2019, 63 (2):197-203. DOI: 10.2478/jvetres-2019-0033	1,039	40
24	Zielińska D, Długosz E , Zawistowska-Deniziak A. Functional properties of food origin <i>Lactobacillus</i> in the gastrointestinal ecosystem— <i>In vitro</i> Study. <i>Probiotics and Antimicrobial Proteins</i> , 2019, 11 (3):820-829. DOI: 10.1007/s12602-018-9458-z	3,533	70
25	Wysmołek ME, Klockiewicz M, Sobczak-Filipiak M, Długosz E , Wiśniewski M. Case studies of severe microfilaremia in four dogs naturally infected with <i>Dirofilaria repens</i> as the primary disease or a disease complicating factor. <i>Frontiers in Veterinary Science</i> , 2020, 7:577466. DOI: 10.3389/fvets.2020.577466	3,412	70
26	Wysmołek ME, Dobrzyński A, Długosz E , Czopowicz M, Wiśniewski M, Jurka P, Klockiewicz M. Hematological and biochemical changes in dogs naturally infected with <i>Dirofilaria repens</i> . <i>Frontiers in Veterinary Science</i> , 2020, 7:590. DOI: 10.3389/fvets.2020.00590	3,412	70
27	Olđak A, Zielińska D, Łepecka A, Długosz E , Kołozyn-Krajewska D. <i>Lactobacillus plantarum</i> strains isolated from Polish regional cheeses exhibit anti-Staphylococcal activity and selected probiotic properties. <i>Probiotics and Antimicrobial Proteins</i> , 2020, 12(3): 1025-1038, DOI: 10.1007/s12602-019-09587-w	4,609	70
28*	Długosz E , Milewska M, Baska P. Identification of <i>Toxocara canis</i> antigen-interacting partners by Yeast Two-Hybrid assay and a putative mechanism of these host–parasite interactions. <i>Pathogens</i> , 2021, 10 (8):949. DOI: 10.3390/pathogens10080949	4,531	100
29	Bartosik J, Łojek J, Długosz E , Górski P, Zygnier W. Molecular identification of tapeworms from Konik Polski horses from Biebrza National Park. <i>Annals of Parasitology</i> , 2021, 67 (4), 619-626, DOI: 10.17420/ap6704.378	-	40
30	Klockiewicz M, Długosz E , Jakubowski T. A review of the occurrence and clinical consequences of protozoan infections in carnivorous fur farm animals. <i>Annals of Agricultural and Environmental Medicine</i> , 2021, 28 (2):199-207, DOI: 10.26444/aaem/120974	1,603	100
31	Zielińska D, Łepecka A, Olđak A, Długosz E , Kołozyn-Krajewska D. Growth and adhesion inhibition of pathogenic bacteria by live and heat-killed food-origin <i>Lactobacillus</i> strains or their supernatants. <i>FEMS Microbiology Letters</i> , 2021, 368 (5):1-9, 10.1093/femsle/fnab024	2,820	70
32	Levytska VA, Mushinsky AB, Cernanska D, Blanarova L, Długosz E, Vichova B, Slivinska KA, Gajewski Z, Gizinski S, Liu S, Zhou L, Rogovskyy AS. Detection of pathogens in ixodid ticks collected from animals and vegetation in five regions of Ukraine. <i>Ticks and Tick-borne Diseases</i> , 2021, 12 (1):101586, DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101586	3,817	100
33	Karabowicz J, Długosz E , Baska P, Wiśniewski M. Nematode orthologs of Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) as modulators of the host immune response and potential therapeutic targets. <i>Pathogens</i> , 2022, 11(2): 258, DOI: 10.3390/pathogens11020258	4,531	100
34	Wysmołek ME, Długosz E , Wiśniewski M. The immunological role of vascular and lymphatic endothelial cells in filarial infections. <i>Animals</i> , 2022, 12: 426, DOI: 10.3390/ani12040426	3,231	100
35	Pekacz M, Basałał K, Kalinowska A, Klockiewicz M, Stopka D, Baska P, Długosz E , Karabowicz J, Młocicki D, Wiśniewski M, Zawistowska-Deniziak A. Selection of new diagnostic markers for <i>Dirofilaria repens</i> infections with	4,996	140

	the use of phage display technology. Scientific Reports, 2022, 12: 2288, DOI: 10.1038/s41598-022-06116-8		
36	Wysmołek ME, Klockiewicz M, Długosz E, Wiśniewski M. Canine antibody response against <i>Dirofilaria repens</i> in natural occult and microfilaremic infections. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 2022, 86:101818, DOI: 10.1016/j.cimid.2022.101818	2,729	70
	RAZEM	68,064	1751

***wymienione w punkcie I.2**

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

7. Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

a. Przed uzyskaniem stopnia doktora:

- 1) Mieszczanek J, Wiśniewski M, **Krzywosińska E**, Zysiak D, Wędrychowicz H, 2002. Molecular cloning of cDNA excretory/secretory proteins of adult *Haemonchus contortus* using PCR. Abstract of International conference ISNA, Warszawa,
- 2) Mieszczanek J, Wiśniewski M, **Krzywosińska E**, Zysiak D, Wędrychowicz H. Production of *Haemonchus contortus* ES antigens using RT – PCR and pGex 4T expression vector. XIV Wroclawska Konferencja Parazytologiczna pt. “Parazytologia na przełomie X/XXI wieku” Wrocław, 18 X 2002 r. Wiadomości Parazytologiczne, 2003, 49 (1):77-79,
- 3) Wiśniewski M, Jaros S, Baska P, Daniłowicz E, **Długosz E**, Jaros D, Harrison L.M, Capello M, Wędrychowicz H. 2005. Research on vaccine against *Ancylostoma ceylanicum* using a variety of recombinant antigens”. 2nd Polish Biotechnology Conference, Gdansk, 05.10.14-15.

b. Po uzyskaniu stopnia doktora:

Konferencje, w których brałam aktywny udział:

- 1) **Długosz E**, Siwińska A, Wiśniewski M. “Influence of *Toxocara canis* glycans on in vitro proliferation and cytokine production by mouse spleen cells”. ESCCAP Toxocara 2012 conference 2012, Budapest – sesja plakatowa,
- 2) Balcerek K., **Długosz E**. Influence of human THP-1 macrophages on *Toxocara canis* antigen mRNA expression. XVI Konferencja DIAGMOL 2015 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 28.11.2015 – sesja plakatowa,
- 3) **Długosz E**, Szmidt A, Dobrzyński A, Wysmołek M, Klockiewicz M. Molecular investigation of possible *Dirofilaria repens* vertical transmission from queen to offspring - case report from Poland. Parasites & Vectors 2016, 10(Suppl 1):A20 DOI: 10.1186/s13071-016-1902-x. Fifth European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days (FiEDAD) 2016, Vienna, Austria. 11–13.06.2016 – sesja plakatowa,
- 4) **Długosz E**, Wiśniewski M, „Szczepionki przeciwko tęgoryjcom – nowy kierunek profilaktyki”, I konferencja naukowo-szkoleniowa „Parazytozy zwierząt – aktualne zagrożenia – nowe rozwiązania terapeutyczne i profilaktyczne” Ciechanowiec 29.09.2017 - wystąpienie ustne,
- 5) **Długosz E**, Klockiewicz M, Wiśniewski M, „Toksokaroza a układ odpornościowy żywiciela”, I Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Choroby zakaźne i pasożytnicze człowieka – problem współczesnego społeczeństwa” Lublin, 16.11.2017 – wystąpienie ustne,
- 6) Pękacz M, Baska P, **Długosz E**, Wysmołek ME, Klockiewicz M, Wiśniewski M. Molecular cloning of Dre-33 cDNA and bioinformatic evaluation of its suitability as a diagnostic antigen for cutaneous dirofilariosis. Proceedings of 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. 5-7.07.2018. Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, P2, DOI: 10.1186/s13071-018-3183-z - sesja plakatowa,

- 7) **Długosz E**, Wysmołek ME, Dobrzyński A, Zawistowska-Deniziak A, Klockiewicz M. Characterization of the humoral response in dogs infected with *Dirofilaria repens*. Proceedings of 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. 5-7.07.2018. Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, O11, DOI: 10.1186/s13071-018-3183-z - doniesienie ustne,
- 8) Wiśniewska J, **Długosz E**. cDNA cloning and bioinformatic analysis of *Toxocara canis* cysteine protease inhibitor (Tc-CPI). Konferencja DIAGMOL 2019 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", 23.11.2019 – sesja plakatu.

Pozostałe doniesienia konferencyjne:

- 1) Siwińska AM, Meier C, **Długosz E**. "Parasites-friends or enemies?" Konferencja DIAGMOL 2012, "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 24.11.2012 (plakat),
- 2) Siwińska AM, **Długosz E**, Baska P, Wedrychowicz H. *In vitro* cytokine response of THP-1 cell line treated with selected *Ancylostoma ceylanicum* secreted proteins. European Multicolloquium of parasitology (EMOP XI), Cluj-Napoca, Romania, 25-29.07.2012 (plakat),
- 3) Klockiewicz M, Mikidadi R, Kavishe M, **Długosz E**. The role of permanent monitoring of the gastrointestinal infections of livestock at LITA Tengeru; 31st TVA Scientific Conference „Enhancing improved Animal productivity through quality Disease Surveillance and response system”, AICC-Arusha, Tanzania, 3-5.12.2013 (plakat),
- 4) Sielicka A., Tatulińska S., **Długosz E**. Cloning of novel cDNAs encoding *Toxocara cati* excretory-secretory antigens". Konferencja DIAGMOL 2015 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa 28.11.2015 (wystąpienie ustne),
- 5) Bartosik J, Łojek J, **Długosz E**, Górski P. Molecular identification of tapeworms from konik polski horses from Biebrza National Park. Konferencja DIAGMOL 2016 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 05.11.2016 (plakat),
- 6) Szaluś-Jordanow O, Kizerwetter-Świda M, Chrobak D, **Długosz E**, Czopowicz M, Kacprzak-Kamińska K. The massive lung abscess caused by *Streptococcus pneumoniae* in the rat. Konferencja DIAGMOL 2016 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 05.11.2016 (plakat),
- 7) Dobrzyński A, Klockiewicz M, Wysmołek M, Czopowicz M, Parzeniecka-Jaworska M, Nowakowska J, **Długosz E**. Investigations on *Dirofilaria repens* infection in Polish dogs – looking for the objective features of the infection. Parasites & Vectors 2016, 10(Suppl 1):A10, DOI: 10.1186/s13071-016-1902-x. Fifth European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days (FiEDAD) 2016, Vienna, Austria. 11–13.07.2016 (wystąpienie ustne),
- 8) Dobrzyński, Klockiewicz M, **Długosz E**, Kacprzak K, Kanafa S, Jurka P. The *Dirofilaria repens* cases in the reproductive system of dogs in Poland. Reprod Dom Anim 2016; 51 (Suppl. 2): 66–153, DOI: 10.1111/rda.12801 (P64); Joint Meeting of the 20th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR) / 13th Conference of the Spanish Association for Animal Reproduction (AERA) Lisbon, Portugal, 27-29.10.2016 (plakat),
- 9) Zielińska D, **Długosz E**, Rzepkowska A. Wybrane właściwości funkcjonalne szczepów *Lactobacillus* wyizolowanych z żywności. XLIII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu Polskiej Akademii Nauk „ŻYWNÓŚĆ DLA RZYSZŁOŚCI” Wrocław, 4-5.07.2017 (wystąpienie ustne),
- 10) Zielińska D, **Długosz E**, Ołdak A, Rzepkowska A, Kołożyn-Krajewska D. Ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych wybranych szczepów bakterii *Lactobacillus* wyizolowanych z żywności. VIII Sympozjum Naukowe „Probiotyki w żywności”. Krynica-Zakopanec, 26-28.04.2017 (wystąpienie ustne),
- 11) Wysmołek ME, **Długosz E**, Klockiewicz M, Wiśniewski M. „Poszukiwanie immunogennych antygenów somatycznych *Dirofilaria repens*”, I konferencja naukowo-szkoleniowa „Parazytozy zwierząt – aktualne zagrożenia – nowe rozwiązania terapeutyczne i profilaktyczne”, Ciechanowiec, 29.09.2017 (plakat),
- 12) Klockiewicz M, Dobrzyński A, **Długosz E**. „Dirofilarioza - narastający problem zdrowotny zwierząt mięsożernych i ludzi”, I konferencja naukowo-szkoleniowa „Parazytozy zwierząt – aktualne zagrożenia – nowe rozwiązania terapeutyczne i profilaktyczne”, Ciechanowiec 29.09.2017 (wystąpienie ustne),
- 13) Dobrzyński A, Klockiewicz M, **Długosz E**. „Czy inwazje *Dirofilaria repens* stanowią rzeczywiste zagrożenia dla ludzi i zwierząt w Polsce?”, I Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Choroby zakaźne i pasożytnicze człowieka – problem współczesnego społeczeństwa” Lublin, 16.11.2017 (wystąpienie ustne),

- 14) **Długosz E**, Dobrzyński A, Wysmołek ME, Klockiewicz M. "Laboratory diagnostics of canine skin dirofilariosis - a matter of dispute". Konferencja DIAGMOL 2018 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 17.11.2018 (wystąpienie ustne),
- 15) Kalinowska A, Cholewa K, Kozłowska A, Milewska M, **Długosz E**. "Antibody response toward *Toxocara canis* C-type Lectins in dogs as natural hosts of infection". Konferencja DIAGMOL 2018 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 17.11.2018 (wystąpienie ustne),
- 16) Milewska M, Baska P, **Długosz E**. "Cloning of mammalian phosphatidylethanolamine (PE)-binding protein homologs from parasitic roundworms and bioinformatic evaluation of their immunodiagnostic potential" Konferencja DIAGMOL 2018 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 17.11.2018 (plakat),
- 17) Zadroga K, Pękacz M, Wysmołek ME, **Długosz E**, Baska P, Klockiewicz M, Wiśniewski M. "Evaluation of the recombinant *Dirofilaria repens* serine protease inhibitor (*Dre*-SPI) suitability as a diagnostic antigen for skin dirofilariosis". Konferencja DIAGMOL 2018 "Molecular biology in diagnostics of infectious diseases and biotechnology", Warszawa, 17.11.2018 (plakat),
- 18) Ołdak A, Zielińska D, **Długosz E**, Łepecka A, Kołożyn-Krajewska D. „Przeciw-gronkowcowa aktywność bakterii *Lactobacillus* w badaniach modelowych”. XIII Konferencja Naukowej z cyklu „Żywność XXI wieku” - ŻYWNOSĆ A SKŁADNIKI BIOAKTYWNE, Kraków, 24-25.09.2018 (wystąpienie ustne),
- 19) Klockiewicz M, Dobrzyński A, Sobczak-Filipiak M, Spruch W, Wysmołek ME, **Długosz E**. "The case of severe *Dirofilaria repens* infection in a German Shepard Dog". Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, P19, DOI: 10.1186/s13071-018-3183-z; 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. 5-7.07.2018. (plakat),
- 20) Klockiewicz M, Dobrzyński A, Wysmołek ME, Nowakowska J, **Długosz E**. "Investigation on *D. repens* infection in dog shelters in Poland". Parasites & Vectors 2018, 11(Suppl 1):623, O3, DOI: 10.1186/s13071-018-3183-z; 6th European *Dirofilaria* and *Angiostrongylus* Days, Belgrade, Serbia. 5-7.07.2018 (wystąpienie ustne),
- 21) Wysmołek ME, Klockiewicz M, **Długosz E**, Sobczak-Filipiak M, Spruch W, Wiśniewski M. „First report of transplacental transmission of *Dirofilaria repens* in dogs” Reproduction in Domestic Animals 53 (S2) 209, P313; 22nd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Cordoba, Spain, 27-29.09.2018, (plakat),
- 22) Ołdak A, Zielińska D, Łepecka A, **Długosz E**, Kołożyn-Krajewska D. „Nowe szczepy *Lactobacillus plantarum* o właściwościach funkcjonalnych i probiotycznych”. X Sympozjum Naukowe „Probiotyki w żywności”. Kiry k/Zakopanego, 10-12.04.2019 (wystąpienie ustne),
- 23) Milewska M, **Długosz E**. "Search for human proteins showing potential interactions with *Toxocara canis* MUC-3 antigen using yeast two hybrid system". 15th YSA PhD Symposium, Medical University of Vienna, 13–14.06.2019 (plakat),
- 24) Wysmołek ME, **Długosz E**, Baska P, Zawistowska-Deniziak A, Klockiewicz M, Wiśniewski M. "Human macrophages cytokine response to *Dirofilaria repens* antigens". 27th Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Madison, WI, USA, 7-19.07.2019 (plakat),
- 25) Książarczyk K, Neffe-Skocińska K, **Długosz E**, Zielińska D. „Porównanie wyselekcjonowanych szczepów bakterii kwasu mlekowego i octowego pod względem potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej”. XI Sympozjum Naukowe „Probiotyki i Prebiotyki w Żywności”. Konferencja on-line, 23.04.2021 (wystąpienie ustne),
- 26) Klockiewicz M, Jakubowski T, Karabowicz J, **Długosz E**, Winiarska J, Sobczak-Filipiak M. "Norki dzikie i fermowe (*Neovision vision*) - jakie pasożyty im zagrażają? II Konferencja naukowo – szkoleniowa "Parazytozy zwierząt - aktualne zagrożenia - nowe rozwiązania terapeutyczne i profilaktyczne" Ciechanowiec 06-09.09.2021 (wystąpienie ustne),
- 27) Klockiewicz M, Jakubowski T, **Długosz E**, Sobczak-Filipiak M. „Pathomorphological pattern of farm mink kidneys – preliminary study”. The XII International Scientific Congress in Fur Animal Production (the IFASA Congress), Warsaw, Poland 24-25 August 2021 /s.30/ (plakat),
- 28) Klockiewicz M, Jakubowski T, Sobczak-Filipiak M, Winiarska J, **Długosz E**. "Preliminary report on parasitological investigations in wild American mink (*Neovision vision*) from Narwiański National Park

(Poland)". The XII International Scientific Congress in Fur Animal Production (the IFASA Congress), Warsaw, Poland 24-25 August 2021 /s.31/ (plakat).

8. Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

9. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

Projekty naukowe:

- "Rola interleukiny-6 w patologii płuc wywołanej inwazją *Toxocara canis*", projekt nr 2020/39/B/NZ6/02176 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu OPUS20, funkcja kierownika - w trakcie realizacji,
- "Mucyny *Toxocara canis*: rozpoznawanie, funkcja i właściwości immunomodulacyjne", projekt nr PPN/BIL/2018/1/00135/U/00001 finansowany przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej w ramach programu bilateralnej wymiany naukowców pomiędzy Polską a Austrią, funkcja kierownika – zrealizowany w latach 2019-2022,
- "Poszukiwanie oddziaływań białkowych między antygenami larwalnymi glisty psiej a cząsteczkami ludzkimi z wykorzystaniem drożdżowego systemu dwuhybrydowego", projekt nr 2017/01/X/NZ6/00895 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu Miniatura1, funkcja kierownika – zrealizowany w latach 2017-2018,
- "Określenie właściwości immunomodulacyjnych larwalnych antygenów *Toxocara canis*", projekt nr N N308 573540 finansowany przez Narodowe Centrum Nauki, funkcja kierownika – zrealizowany w latach 2011-2014,
- „Określenie profilu i dynamiki odpowiedzi cytokin u chomików syryjskich immunizowanych cDNA bądź białkiem enzymów proteolitycznych *Ancylostoma ceylanicum*, a następnie zarażanych larwami inwazyjnymi tego nicienia” projekt nr 2 P04B 004 30 finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w konkursie grantów promotorskich, funkcja głównego wykonawcy - zrealizowany w latach 2006-2008,
- "Opracowanie wieloskładnikowej szczepionki przeciwko inwazjom tęgoryjców" projekt nr 3 P06K 024 24 finansowany przez Komitet Badań Naukowych, funkcja wykonawcy pomocniczego - zrealizowany w latach 2003-2005,
- "Badania nad szczepionką genetyczną przeciwko pasożytom żołądkowo-jelitowym przeżuwaczy na modelu: owca - *Hemonchus contortus*", projekt nr 5 P06K 005 19 finansowany przez Komitet Badań Naukowych, funkcja wykonawcy pomocniczego, zrealizowany w latach 2000-2003.

10. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

- Członek Stowarzyszenia Polskiej Rady Konsultacyjnej ds. Parazytoz Zwierząt Towarzyszących - ESCCAP Polska,
- Członek komisji rewizyjnej fundacji „Nauka dla rozwoju”

11. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

W związku z realizacją projektu “*Mucyny Toxocara canis*: rozpoznawanie, funkcja i właściwości immunomodulacyjne”, projekt nr PPN/BIL/2018/1/00135/U/00001 finansowanego przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej w ramach programu bilateralnej wymiany naukowców pomiędzy Polską a Austrią, odbyłam cztery krótkoterminowe wizyty w instytucie partnera tj. w Instytucie Profilaktyki Specjalistycznej i Medycyny Tropikalnej Uniwersytetu Medycznego w Wiedniu (18-20.02.2019, 3 dni; 24-25.09.2020, 2 dni; 1-5.09.2021, 5 dni; 15-18.02.2022, 4 dni). W trakcie tych wizyt zapoznałam się z metodami badawczymi prowadzonymi w laboratorium partnera, dotyczącymi w szczególności wykorzystania mysiego modelu astmy indukowanej owalalbuminą.

12. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).

- Funkcja redaktora pomocniczego - guest editor w czasopiśmie Pathogens, wydanie specjalne na temat „Immune response of the host and vaccine development” (w trakcie realizacji)

13. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

- wykonałam 22 recenzje artykułów naukowych w następujących czasopismach naukowych: Acta Parasitologica, Experimental Parasitology, BioMed Research International, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, Polish Journal of Microbiology, Journal of Physiology and Biochemistry, Pathogens, Animals, Microorganisms (2016-2022).

14. Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

- “*Toxocara canis*: rozpoznawanie, funkcja i właściwości immunomodulacyjne”, projekt nr PPN/BIL/2018/1/00135/U/00001 finansowany przez Narodową Agencję Wymiany Akademickiej w ramach programu bilateralnej wymiany naukowców pomiędzy Polską a Austrią, funkcja kierownika – 2019-2022.

15. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

16.

17. Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

- Recenzja grantu NCN w panelu eksperckim, 2012 rok,
- Członek jury w XLVI Przeglądzie Dorobku Kół Naukowych Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, 2019 rok.

III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.
2. **Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym.**

W latach 2017-2020 współpracowałam z firmą Bayer Animal Health w celu zbadania sytuacji epidemiologicznej dirofilariozy skórnej w Polsce.

3. Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty, krajowe lub międzynarodowe.
4. Informacja o wdrożonych technologiach.
5. Informacja o wykonanych ekspertyzach lub innych opracowaniach wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.
6. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.
7. Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

1. **Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).**

Punktacja Impact Factor według bazy Journal Citation Reports:

	Punkty IF
Przed uzyskaniem stopnia doktora	1,342
Po uzyskaniu stopnia doktora	68,064
Razem	69,406

2. **Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.**

Całkowita liczba cytowań według bazy danych Web of Science Core Collection: **212**
bez autocytowań: **183**

3. **Informacja o posiadanym indeksie Hirscha**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science Core Collection (z dnia 15.07.2022r): **9**

4. Informacja o liczbie punktów MNiSW.

	Punkty MEiN [MNiSW]
Przed uzyskaniem stopnia doktora	43
Po uzyskaniu stopnia doktora	1751
Razem	1794

.....

(podpis wnioskodawcy)