

Dr n. med. Agnieszka Pawlak

AUTOREFERAT

Opis osiągnięć naukowych, zawodowych i dydaktycznych

**Przebudowa cytoszkieletu desminowego kardiomiocyta i jego znaczenie
w rozwoju skurczowej i rozkurczowej niewydolności serca oraz wpływ na rokowanie
chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową.**

Warszawa, 2016

1. Imię i Nazwisko Agnieszka Pawlak

2. Data Urodzenia 23 sierpnia 1974

3. Pełnione funkcje

- Kierownik Pododdziału Niewydolności Serca Kliniki Kardiologii Inwazyjnej Centralnego Szpitala Klinicznego Ministerstw Spraw Wewnętrznych,
- Kierownik Pracowni Echokardiografii Kliniki Kardiologii Inwazyjnej Centralnego Szpitala Klinicznego Ministerstw Spraw Wewnętrznych,
- Konsultant w dziedzinie Kardiologii w Mazowieckim Szpitalu Onkologicznym w Wieliszewie,
- Adiunkt w Zakładzie Fizjologii Stosowanej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN,

4. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne - z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- Lekarz - dyplom wydany przez Akademię Medyczną w Warszawie w dniu 23 czerwca 1999 roku,
- Doktor nauk medycznych - dyplom wydany przez Akademię Medyczną w Warszawie w dniu 14 czerwca 2006 roku. Tytuł rozprawy doktorskiej *„Zaburzenia desminowe w badaniu immunohistochemicznym bioptatu mięśnia sercowego, a rozwój niewydolności serca”*
- Specjalista chorób wewnętrznych - dyplom wydany przez Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi w dniu 17 kwietnia 2007 roku,
- Specjalista kardiolog - dyplom wydany przez Centrum Egzaminów Medycznych w Łodzi w dniu 25 kwietnia 2012 roku,

- Akredytacja II° indywidualna w zakresie echokardiografii o nr EAI 0188/2012- wydana przez Zarząd Sekcji Echokardiografii Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego w 2012 r.
- Specjalista cewnikowania prawego serca – certyfikat nr 13 – wydany przez Sekcję Krążenia Płucnego oraz Asocjację Interwencji Sercowo-Naczyniowych w 2015r.

5. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

Po skończonej edukacji w zakresie Szkoły Podstawowej i Liceum Ogólnokształcącego (Legionowo, LO im. Marii Konopnickiej), zdałam pomyślnie egzaminy wstępne i rozpoczęłam studia na II Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej w Warszawie (obecnie Warszawski Uniwersytet Medyczny). Począwszy od 2 roku studiów byłam członkiem Studenckiego Koła Naukowego przy Zakładzie Anatomii Prawidłowej Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej w Warszawie, którego opiekunem był dr n. med. Bogdan Ciszek. Zajmowałam się tematyką kongruencji stawu biodrowego u płodów ludzkich, przedstawiając prace na wewnątrzuczelnianych Kongresach Kół Naukowych oraz Europejskim Kongresie Anatomicznym (Florencja, 1995r). Od czwartego roku studiów byłam członkiem Koła Naukowego przy Klinice Chirurgii Ogólnej i Transplantacyjnej, którego opiekunem był dr hab. n. med. Piotr Fiedor. W kolejnych latach wraz z grupą kolegów zajmowaliśmy się tematyką ksenotransplantacji wysepek trzustkowych. Powyższe zagadnienie realizowałam w oparciu o zdobyty przeze mnie mini grant studencki „Wpływ typu prezerwacji izolowanych wysepek trzustkowych na reakcję komórek NK *in vitro*” Aktywność w kole naukowym umożliwiła mi bycie dwukrotnie stypendystą na Uniwersytecie Columbia w Nowym Yorku w Klinice Immunologii Transplantacyjnej (Nowy York, 1997r i 1998r). Działalność naukowa zaowocowała nie tylko wystąpieniami na Ogólnopolskich (Białystok 1998r, Wrocław 1999r,

Mikołajki 2001r) i Europejskich Kongresach Transplantologicznych (Iglis 1999, 2000r, Barcelona 1999r, Sydney 1999r, Kraków 2000r) ale również publikacjami w czasopiśmie z impact factorem (IF). Publikowane prace dotyczyły oceny funkcji mitochondriów po zimnej prezerwacji wysepek trzustkowych od dawców leczonych pefloksacyną (*Evaluation of mitochondrial function after cold preservation of pancreatic islet cells from donors treated with pefloxacin*) [1], efektu lidokainy na metabolizm wysepek trzustkowych (*Effects of lidocaine on rat pancreatic islet metabolism*) [2] oraz wykazały, że generowanie H₂O₂ zapobiega zmianom potencjału mitochondrialnego REDOX za pośrednictwem receptora Fc zmniejszającego aktywność integryny beta i adhezję komórek NK do świńskiego śródbłonka, (*Generation of H(2)O(2) prevents Fc receptor-mediated changes in redox potential, reducing beta integrin avidity and natural killer cell adhesion to porcine endothelium*)[3]. Prowadzone badania pozwoliły na opracowanie nie tylko interesującego miejsca przeszczepu wysepek trzustkowych jakim jest kreska jelita grubego ale również nowego sposobu monitorowania ich obecności (*Monitoring of pancreatic islets transplanted to colon mesentery. Identification of transplanted pancreatic islet cells by radioactive dithizone-[131I]-histamine conjugate*) [4,5]. Za osiągnięcia w ramach działalności w studenckich kołach naukowych przyznano mi Złotą Odznakę Studenckiego Towarzystwa Naukowego w 1999r.

Po ukończeniu stażu podyplomowego, w 2001r. zostałam zatrudniona w charakterze młodszego asystenta w Klinice Kardiologii Centralnego Szpitala Klinicznego Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji (CSK MSW i A) pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Marka Dąbrowskiego, a następnie w Klinice Kardiologii Inwazyjnej CSK MSW i A w Warszawie pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Roberta J. Gila. Moje zainteresowania zagadnieniami przeszczepu tkanek, immunologią i biologią molekularną z okresu studiów mogły być kontynuowane w okresie późniejszym po rozpoczęciu pracy w Klinice Kardiologii

Inwazyjnej. Od początku swojej aktywności zawodowej zajmowałam się niewydolnością serca i transplantologią. Moimi pacjentami byli chorzy, którzy wymagali wnikliwej diagnostyki niewydolności serca jak i oceny po przeszczepie serca. Wśród wielu badań diagnostycznych stosowanych w tej grupie chorych w Klinice Kardiologii Inwazyjnej dostępna była również biopsja mięśnia sercowego. Doświadczony zespół kardiologów interwencyjnych w bioptowaniu mięśnia sercowego, liczna populacja chorych w tym po przeszczepie serca oraz wprowadzenie przez mnie kolejnych metod analizy biopsji mięśnia sercowego pozwoliły na zdobycie dużego doświadczenia w wykorzystywaniu biopsji jako metody diagnostycznej chorób zapalnych i wirusowych mięśnia sercowego, procesu odrzucania po przeszczepie, chorób spichrzeniowych i innych. Z czasem poszerzona analiza bioptatów mięśnia sercowego o ocenę cytoszkieletu kardiomiocyta umożliwiła zdobycie cennych danych pozwalających na otwarcie przewodu doktorskiego, który obroniłam w czerwcu 2006 roku. Tematem pracy były: „Zaburzenia desminowe w badaniu immunohistochemicznym bioptatu mięśnia sercowego, a rozwój niewydolności serca”. W pracy tej, prowadzonej pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Roberta J. Gila, dowiodłam, że ekspresja kluczowego białka cytoszkieletu jakim jest desmina, ulega zmianie wraz z progresją niewydolności serca. Zmiany ekspresji tego białka zostały podzielone na trzy różne typy, tworząc pierwszą w świecie klasyfikację zmian białkowych w kardiomiocytach chorych z niewydolnością serca. W pracy nad tym zagadnieniem wykazano korelację między ekspresją białka a parametrami klinicznymi i echokardiograficznymi. Uzyskane wyniki prezentowałam na Polskim Kongresie Kardiologicznym (Warszawa, 2004r) jak również na Europejskich Kongresach Kardiologicznych: Kongres Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*Stockholm, 2005*), Kongres Niewydolności Serca Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*Helsinki; 2006*).

Mój doktorat został wyróżniony w konkursie im. Aurelii Baczeko za najlepszą pracę doktorską z dziedziny nauk podstawowych medycyny w 2006r.

W latach 2001-2005 byłam odpowiedzialna w Klinice Kardiologii Inwazyjnej za realizację europejskiego projektu dla chorych z niewydolnością serca „*Home and Hospital in Heart Failure*”. Efektem tej współpracy była publikacja w *European Heart Journal* (2004r.) i *European Journal of Heart Failure* (2009r.).

W 2007 roku otrzymałam tytuł Specjalisty Chorób Wewnętrznych.

Swoją wiedzę kliniczną pogłębiałam aktywnie uczestnicząc w kardiologicznych i echokardiograficznych kongresach polskich i zagranicznych. Uczestniczyłam czynnie (prezentując wyniki) bądź biernie (w celu szkolenia zawodowego) w większości Europejskich Kongresów Kardiologicznych w latach 2002-2015, m.in. Amsterdamie, Barcelonie, Monachium, Sztokholmie, Wiedniu, Londynie, Paryżu. Brałam czynny lub bierny udział w wielu Europejskich Kongresach dedykowanych niewydolności serca m.in. Belgradzie, Helsinkach, Berlinie, Nicei. Swoją wiedzę i doświadczenie poszerzałam na szkoleniach w specjalistycznych pracowniach i szpitalach polskich (Pracownia Echokardiografii Katedry i Kliniki Uniwersyteckiego Szpitala w Łodzi pod nadzorem prof. J. Kasprzaka, Pracownia Echokardiografii Instytutu Kardiologii pod opieką prof. T. Pasierskiego i prof. P. Hoffmana) i zagranicznych (Kerckhoff-Klinik w Bad Nauheim w Niemczech, 2008; Szpital Instytut Medycyny Klinicznej i Doświadczalnej (IK+EM) w Pradze w Czechach, 2009; Szpital „Heart Center” w Lipsku w Niemczech, 20011; Szpital Uniwersytecki Allgemeines Krankenhaus (AKH) we Wiedniu, 2012, Duke Clinical Research Institute, Durham, USA, 2013).

Uzyskane doświadczenie echokardiograficzne umożliwiło mi stworzenie Pracowni Echokardiografii przy Klinice Kardiologii Inwazyjnej CSK MSWiA. Od 2008 roku dzięki utworzeniu oficjalnej struktury jaką jest Pracownia Echokardiografii w obrębie Kliniki

Kardiologii pełnię funkcję kierownika Pracowni, kierując kardiologami wyspecjalizowanymi w wykonywaniu badań echokardiograficznych w tym jednym kardiologiem z indywidualną akredytacją echokardiograficzną II^o. Do chwili obecnej wykonałam ponad 12000 badań echokardiograficznych, w tym około 2000 badań przezprzełykowych i prób dobutaminowych. W kolejnych latach rozpoczęłam szkolenie w zakresie echokardiografii śródzabiegowej w celu przezskórnego leczenia wad strukturalnych serca takich jak ubytek przegrody międzykomorowej (ASD), przetrwałe połączenie międzyprzedsionkowe (PFO) oraz aortalnych wad zastawkowych (walwuloplastyka zastawki aortalnej - BAV, przezskórna implantacja zastawki aortalnej –TAVI) jak również zamykania uszka lewego przedsionka (LAA) w profilaktyce udaru mózgu. Ostatecznie uzyskałam uprawnienia do ich wykonywania po odbyciu szkoleń w Szwajcarii (Geneva, Medtronic) oraz Niemczech (Lipsk i Frankfurt). Potwierdzeniem moich umiejętności echokardiograficznych jest akredytacja indywidualna II^o przyznana w 2012 r. przez Sekcję Echokardiografii Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Pracownia obecnie jest certyfikowaną Pracownią Echokardiograficzną II^o w której wykonywany jest pełen profil badań echokardiograficznych (standardowe badania przezklatkowe: techniki 2D, 3D, 2D+Doppler; 2D+Doppler+CC Doppler, TDI; badania przezprzełykowe; badania przezprzełykowe kontrastowe (wady przeciekowe serca); echokardiograficzne próby dobutaminowe, monitorowanie zabiegów inwazyjnych. Wykonywane są badania echokardiograficzne śródzabiegowe w trakcie procedur inwazyjnych: zamykania ubytków przegrody międzyprzedsionkowej, walwuloplastyki mitralnej i aortalnej, zamykania uszka lewego przedsionka, implantacji przezskórnej zastawki aortalnej oraz operacji kardiochirurgicznych.

Zainteresowanie niewydolnością serca oraz liczne staże umożliwiły mi utworzenie Pododdziału Niewydolności Serca w Powstałej w 2001r Klinice Kardiologii Inwazyjnej. Od

2010 roku pełnię funkcję jego kierownika, kierując kilkusobowym zespołem lekarzy. Obecnie Pododdział specjalizuje się w diagnostyce kardiomiopatii rozstrzeniowej o nieznannej etiologii, zapaleń mięśnia sercowego, nadciśnienia płucnego, wrodzonych i nabytych wad serca oraz optymalizacją leczenia pozawałowej niewydolności serca. Dysponujemy szerokim wachlarzem metod diagnostycznych. Dodatkowo wprowadziłam do praktyki klinicznej w CSK MSW poszerzoną analizę biopsji mięśnia sercowego. Poza podstawowym barwieniem H&E i barwieniem trichrom możliwy jest szeroki panel oznaczeń immunohistchemicznych (antygeny powierzchniowe: CD3, CD4, CD8, CD31, CD68, LCA, białka: desmina, ubiquityna) dla oceny procesu zapalnego, mikrokrazenia, cytoszkieletu, metabolizmu białek, badania cytochemiczne (COX, SDH) celem oceny dobrostanu energetycznego komórki, czerwień Kongo – diagnostyka amyloidozy, Western-blott ocena białek łańcucha oddechowego, mikroskopia elektronowa celem oceny ultrastrukturalnych patologii mięśnia sercowego (np. nukleopatii) oraz badania genetyczne celem oznaczenia genomu wirusa lub wykazania mutacji. Dzięki temu ośrodek ten jest jednym z wiodących ośrodków w skali Polski zajmujących się diagnostyką patologii mięśnia sercowego na poziomie komórkowym ze szczególnym uwzględnieniem chorób zapalnych i wirusowych mięśnia sercowego. Prowadzona diagnostyka pozwala mi na uzyskanie nie tylko informacji klinicznych ale również stworzenie interesujących baz danych które pozwolą mi odpowiedzieć w przyszłości na nurtujące mnie pytania. Jako efekt wieloletniej pracy z chorymi z niewydolnością serca obecnie posiadam jedną z największych w Polsce baz chorych poddanych biopsji mięśnia sercowego (około 550 chorych). Od 2012 roku zdobywam doświadczenie w celowanym leczeniu chorych z zapaleniem mięśnia sercowego. W ramach moich obowiązków wprowadziłam do Kliniki jak i jestem odpowiedzialna za realizowany w Klinice Program Terapeutyczny NFZ leczenia Tętniczego Nadciśnienia Płucnego. W 2015 roku jako jeden z pierwszych lekarzy w Polsce uzyskałam certyfikat

Specjalisty Cewnikowania Prawego Serca i Płuc. Nadzoruję i osobiście uczestniczę w pracach Poradni Niewydolności Serca, która została utworzona w celu ambulatoryjnego monitorowania pacjentów hospitalizowanych z powodu niewydolności serca w naszej klinice. Wraz z Zespołem uczestniczę w międzynarodowych badaniach klinicznych dotyczących leczenia chorych z niewydolnością serca jako koordynator badań (SURVIVE, PRESERVATION, SOKRATES, TRA2°P). Praca na rzecz badania klinicznego TRA2°P została nagrodzona tytułem „Award of Excellence Clinical Research”.

Poza aktywnością kliniczną, rozwijałam swoje dotychczasowe zainteresowania naukowe w zakresie zmian ultrastrukturalnych i zapalnych w mięśniu sercowym prowadząc prace naukowe, na które uzyskałam granty naukowe. Pierwszy grant (1961/B/P01/2008/35) to kontynuacja badań nad desminą „Zależność między uszkodzeniem cytoszkieletu desminowego, a aktywnością mitochondriów i ekspresją ubikwityny w aspekcie patogenezy niewydolności serca i znaczenia prognostycznego” realizowany w latach 2008-2012. Owocem tego grantu są publikacje w polskich i zagranicznych czasopismach. Byłam również wykonawcą w grantie „Rola PPAR α regulatora procesu zapalnego i metabolizmu kardiomiocytów w ptogenezie kardiomiopatii rozstrzeniowej. Znaczenie diagnostyczne i prognostyczne”. Obecnie realizuję grant (2014/13/B/N24/03832): „Identyfikacja wirusów oraz ocena zmian ultrastrukturalnych towarzyszących obecności wirusa w tkance mięśnia sercowego u chorych z podejrzeniem kardiomiopatii rozstrzeniowej pozapalnej” .

Od 2012 jestem Konsultantem Szpitala Onkologicznego w Wieliszewie w dziedzinie Kardiologii. Praca w tym ośrodku pozwala mi na poszerzenie mojego doświadczenia zawodowego o dziedzinie kardio-onkologii.

Od 2013 pracuję jako Ekspert w Komisji Europejskiej Zespołu Ekspertów ds. oceny projektów badawczych w ramach programów ramowych. Ocena grantów europejskich daje szansę

poznania kierunków rozwoju w szeroko pojętym aspekcie chorób sercowo-naczyniowych.

Od 2015 jestem zatrudniona w Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk w Zakładzie Fizjologii Stosowanej.

Obecnie jestem sytypendystką prestiżowego dwuletniego (2016, 2017) grantu Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego „Post Graduated Heart Failure Course” . Wygrany grant stwarza szansę uzyskania dyplomu ukończenia studiów podyplomowych na Uniwersytecie w Zurichu w zakresie specjalisty niewydolności serca.

Jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego, Polskiego Towarzystwa Echokardiograficznego, Polskiego Towarzystwa Niewydolności Serca, Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego, Asocjacji Niewydolności Serca Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego oraz Grupy Roboczej dedykowanej Chorobom Mięśnia Sercowego i Osierdza Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego.

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

a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

„Przebudowa cytoszkieletu desminowego kardiomiocyta i jego znaczenie w rozwoju skurczowej i rozkurczowej niewydolności serca oraz wpływ na rokowanie chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową”.

Na przedstawione osiągnięcie składa się cykl 5 prac.

- 1. Pawlak A, R.J.Gil, E. Walczak, A. Fidziańska.** Evaluation of desmin activity using immunohistochemical and immunofluorescent staining of myocardial biopsies in patients with chronic heart failure. Comparison of the two methods. *Kardiol Pol* 2007;65:229-23 (IF =0)
- 2. Pawlak A, Gil RJ, Walczak E, Seweryniak P.** Desmin expression in human cardiomyocytes and selected clinical and echocardiographic parameters in patients with chronic heart failure. *Kardiol Pol.* 2009 Sep;67(9):955-61 (IF =0.568)
- 3. Pawlak A, Gil RJ, Kasprzak J, Walczak E, Słysz A.** Cardiomyocyte desmin abnormalities - an accurate predictor of long-term survival in patients with chronic heart failure. *Kardiol Pol.* 2009 Jul;67(7):724-33. (IF=0.568)
- 4. Pawlak A, Gil RJ, Grajkowska W, Nasierowska-Guttmejer AM, Rzezak J, Kulawik T.** Significance of Low Desmin Expression in Cardiomyocytes in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2012 Nov 22. (IF=3.209)
- 5. Pawlak A, Gil RJ, Nasierowska-Guttmejer AM, Kasprzak JD.** Changes in desmin expression in patients with cardiac diastolic dysfunction and preserved or reduced ejection fraction. *Adv Med Sci.* 2015 Mar;60(1):148-55 (IF = 1.105).

b) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Przewlekła niewydolność serca jest wiodącą przyczyną zarówno zachorowalności, niesprawności, hospitalizacji i zgonów w Europie i Polsce. Pomimo stosownego leczenia roczna śmiertelność chorych z powodu niewydolności serca sięga 20%. Około 50% pacjentów umiera w ciągu pięciu lat od postawienia rozpoznania niewydolności serca. W Stanach Zjednoczonych jedynie tylko z powodu niewydolności serca rocznie jest hospitalizowanych około miliona pacjentów. Uznane czynniki prognostyczne w niewydolności serca takie jak: i) kliniczne: klasa NYHA (New York Heart Association), ii) echokardiograficzne: wymiar końcoworozkurczowy lewej komory (LVEDd), frakcja wyrzutowa lewej komory (LVEF) czy iv) laboratoryjne: peptyd natiuretyczny NT-proBNP nie są w stanie wskazać nam chorych z początkowymi zmianami w tkance mięśnia sercowego. Właściwa i wczesna identyfikacja czynników zwiększonej zachorowalności i śmiertelności ma fundamentalne znaczenie w ocenie rokowania i skuteczności leczenia pacjentów z niewydolnością serca. Pozwala wyróżnić chorych wymagających precyzyjniejszego monitorowania, modyfikacji lub intensyfikacji leczenia. Tak więc poszukiwanie nowych czynników ryzyka śmiertelności i zachorowalności w niewydolności serca wydaje się być uzasadnione. Białka kardiomiocyta to interesujący cel takich poszukiwań jako, że bezpośrednio odnoszą się do wewnątrzkomórkowych przemian w sercu. Desmina jest jednym z podstawowych białek cytoszkieletu kardiomiocyta, stanowi 2% jego masy. Obecność desminy jest kluczowa dla prawidłowego funkcjonowania kardiomiocytów. U zdrowych osób pełni funkcję: mechaniczną, strukturalną i regulatorową. Do głównych zadań w ich obrębie można zaliczyć: i) regulację położenia składowych komórki (np. lokalizację mitochondriów w obszarze podbłonowym i między fibrylami) oraz ich funkcji, ii) integrację mechanicznej aktywności skurczowej poprzez regulację ułożenia miofibryli

względem siebie oraz względem struktur w komórce, iii) regulację kształtu i napięcia ścian komórki i elementów wewnątrzkomórkowych (mitochondriów), iv) utrzymanie prawidłowej łączności między komórką a macierzą zewnątrzkomórkową, v) wspieranie pracy dwóch innych białek tworzących cytoszkielet (tubuliny i aktyny). Pełnienie tak wielu istotnych funkcji jest możliwe dzięki odpowiedniej lokalizacji. Włókna desminowe obecne są wokół miofibryli i dysków Z, gdzie tworzą gęsto utkaną sieć. W pozostałych miejscach desmina występuje jako nitki łączące poszczególne elementy strukturalne kardiomiocyta (miofibryle i dyski Z ze sobą oraz z błoną komórkową, błoną jądrową, mitochondriami, siateczką sarkoplazmatyczną i kanalikami T (w kardiomiocytach).

W porównaniu ze zdrowymi ludźmi chorzy z niewydolnością serca prezentują odmienne wzorce ekspresji desminy. Jak dotąd komórkowa rola desminy nie została do końca ustalona. Także wpływ nieprawidłowej ekspresji desminy na parametry kliniczne, echokardiograficzne oraz długo-terminowe przeżycie nie jest znany.

Cykl załączonych prac przybliży i wyjaśnia oraz częściowo odpowiada na powyższe zagadnienia.

Ad 1) Evaluation of desmin activity using immunohistochemical and immunofluorescent staining of myocardial biopsies in patients with chronic heart failure. Comparison of the two methods.

Celem niniejszej pracy była ocena ekspresji desminy z wykorzystaniem technik immunohistochemicznych (IHC) i immunofluorescencyjnych (IF) w kardiomiocytach chorych z przewlekłą niewydolnością serca. Badaną populację stanowiła grupa 37 chorych (średni wiek $46,5 \pm 5,28$ lat, 83,8% mężczyzn) z rozpoznaniem niewydolności serca o nieznannej etiologii. Niewydolność serca rozpoznawano na podstawie oceny klinicznej oraz badania echokardiograficznego serca wykazującego wartość frakcji wyrzutowej lewej komory $<45\%$.

Wykonana koronarografia wykluczyła obecność istotnych zwężeń w tętnicach wieńcowych. Wszyscy badani zostali poddani biopsji mięśnia sercowego (BMS).

Oznaczenie desminy w kolejnych biopatach mięśnia sercowego barwieniem IHC wykazało prawidłową ekspresję desminy u 11 (29,8%) chorych, zwiększoną ekspresję u 18 (48,6%) i zmniejszoną lub brak ekspresji u 8 (21,6%). Odpowiednie typy ekspresji stanowiły 12 (32,4%), 15 (40,6%) i 10 (27%) w barwieniu IF. IHC i IF ocena ekspresji desminy w kardiomiocycie wykazała, że metody te są zgodne w ocenie w 31 (83,8%) przypadkach, natomiast rozbieżne w 6 (16,2%) przypadkach. Pomiędzy poszczególnymi grupami desminowymi, tj. normą, nadmiarem i niedoborem ocenianymi barwieniami IHC i IF, nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych (odpowiednio $p=0,39$; $p=0,25$; $p=0,31$).

Powyższa publikacja jest pierwszym według mojej najlepszej wiedzy doniesieniem naukowym klasyfikującym różne typy ekspresji desminy do trzech różnych grup:

- i) Typ I – niska intensywność ekspresji desminy z równomiernym jej rozłożeniem w kardiomiocycie.
- ii) Typ II – duża intensywność ekspresji desminy z nierównomiernym jej rozłożeniem w kardiomiocycie.
- iii) Typ III – brak lub bardzo niska intensywność ekspresji desminy w kardiomiocycie.

Barwienia IHC i IF umożliwiają ocenę ekspresji desminy w kardiomiocycie oraz wykazują różne typy ekspresji (typ I, II i III). Obie metody wydają się być wysoce zgodne. Barwienie IHC jako bardziej dostępne, wydaje się być metodą bardziej polecaną.

Ad 2) Desmin expression in human cardiomyocytes and selected clinical and echocardiographic parameters in patients with chronic heart failure.

Stwierdzenie różnych typów ekspresji desminy w kardiomiocytach chorych z niewydolnością serca, skłoniło mnie do postawienia kolejnego pytania. Jak różne typy ekspresji korelują z wybranymi parametrami klinicznymi, laboratoryjnymi i echokardiograficznymi. Pytanie to wydaje się zasadne jako, że nieprawidłowo zlokalizowana desmina w kardiomiocytach w modelu eksperymentalnym upośledza funkcję miofibryli, przyczynia się do nieprawidłowego rozlokowania organelli w tym mitochondriów, uszkadza komunikację wewnątrz- i międzykomórkową co w konsekwencji może wpływać na powyższe zadane parametry. W pracy dokonano oceny parametrów klinicznych (klasa NYHA), laboratoryjnych (NT-pro-BNP) i echokardiograficznych (LVEDD, LVEF) oraz oceny ekspresji desminy w tkance mięśnia sercowego u chorych z niewydolnością serca. Badaną populację stanowiło 135 chorych (86,7% mężczyzn, średni wiek $49,4 \pm 14,1$ roku) z klinicznymi cechami niewydolności serca i frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF) poniżej 45%. Średnia wartość LVEF stanowiła $31,4 \pm 11,2\%$ a wymiar końcowo rozkurczowy lewej komory wynosił $65,1 \pm 10,8$ mm. W klasie NYHA I w badaniu uczestniczyło 42 (31%) chorych, w klasie II 49 (36%) chorych, w klasie III 36 (27%) i w IV 42 (31%) chorych. W czasie biopsji endomiokardialnej pobierano cztery wycinki z prawej komory serca. W pobranych wycinkach dokonywano histologicznej i immunohistochemicznej oceny bioptatów mięśnia sercowego w tym ekspresji desminy.

W analizowanej populacji, ocena histochemiczna tkanki mięśnia sercowego wykazała patologiczne zmiany typowe dla idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej u 52 (37%) chorych, odnaczyniowego uszkodzenia mięśnia sercowego u 47 (35%) oraz zapalenia mięśnia sercowego u 36 (27%) chorych. Zmiany ekspresji desminy w kardiomiocycie obserwowano u chorych z różną etiologią niewydolności serca (idopatyczna kardiomiopatia rozstrzeniowa: typ I n=20 (38.5%), typ II n=21 (40.4%), typ III n=11 (21.2%); odnaczyniowego uszkodzenia

mięśnia sercowego: typ I n=19 (40.4%), typ II n=14 (29.8%), typ III n=14 (29,8%); zapalenia mięśnia sercowego: typ I n=9(25%), typ II n=19 (52.8%), typ III n=8 (22.2%). U chorych z idiopatyczną kardiomiopatią rozstrzeniową znamienne statystycznie mniej obserwowano chorych z typem III ekspresji desminy w porównaniu do liczby chorych z typem I (p=0.02) lub typem II (p= 0.01) ekspresji desminy. U chorych z odnaczyniowym uszkodzeniem mięśnia sercowego poszczególne typy ekspresji desminy były równomiernie prezentowane. Chorzy z cechami zapalenia mięśnia sercowego w badaniu histopatologicznym prezentowali najczęściej typ II ekspresji desminy. Typ II występował istotnie statystycznie częściej niż typ I (p=0.007) i typ III (p=0.003). W badanej populacji typ I – prawidłową ekspresję desminy obserwowano u 48 chorych, typ II – zwiększoną ekspresję desminy u 54 chorych, typ III – zmniejszoną ekspresję desminy u 33 chorych.

W grupie chorych z typem I ekspresji desminy wykazano znamienne niższą klasę NYHA (1.58 ± 0.7), istotnie wyższą wartość LVEF ($34.1 \pm 10.8\%$) i istotnie mniejszy wymiar LVEDD ($61.4 \pm 9.7\text{mm}$) niż u chorych z typem II (klasa NYHA 2.11 ± 0.81 ; LVEF $29.0 \pm 8.9\%$; LVEDD $65.9 \pm 10.1\text{ mm}$) jak również typem III (klasa NYHA 2.72 ± 0.83 , LVEF $26.9 \pm 7.2\%$; LVEDD $69.1 \pm 12.0\text{ mm}$). Obserwowane różnice w odniesieniu do klasy NYHA były znamienne statystyczne między poszczególnymi typami ekspresji desminy (typ I vs II p=0.001, typ II vs III p=0.009, typ I vs III p=0.001) również w odniesieniu do LVEF (typ I vs II, p=0.01; typ II vs III, p=0.4; typ I vs III, p=0.001) jak i LVEDD (typ I vs II, p=0.027; typ II vs III, p=0.23; typ I vs III p=0.004).

Ocena ekspresji desminy w biopsjach może posłużyć do oceny zawansowania zmian na poziomie komórkowym u chorych z niewydolnością serca bez względu na etiologię. Poznanie i zrozumienie zmian patomorfologicznych na poziomie komórkowym może wpływać na lepszy wybór terapii jak też stwarzać warunki do poszukiwania nowych metod leczenia.

Ad 3) Cardiomyocyte desmin abnormalities - an accurate predictor of long-term survival in patients with chronic heart failure.

Jako, że desmina odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu cytoarchitektury komórki, pozycjonowaniu i funkcjonowaniu organelli komórkowych jak również w sygnalizacji międzykomórkowej, przypuszcza się, że remodeling cytoszkieletu desminowego może sprzyjać progresji idiopatycznej kardiomiopatii rozstrzeniowej i może wpływać na rokowanie długoterminowe.

Celem kolejnej pracy była weryfikacja hipotezy: poziom ekspresji desminy w kardiomiocycie chorych z niewydolnością serca wpływa na rokowanie odległe. Diagnostyczną biopsję mięśnia serca (DMB) wykonano u 135 chorych (86,7% mężczyźni, średni wiek $49,4 \pm 14,1$ roku) z klinicznymi cechami niewydolności serca, z frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF) poniżej 45%. W każdym przypadku pobierano 4 wycinki z prawej komory serca. Desminę w kardiomiocytach oznaczano metodami immunohistochemicznymi. Badana populacja została podzielona na trzy grupy: I grupa – 48 chorych z prawidłową ekspresją desminy, II grupa – 54 chorych z nadmierną ekspresją desminy, III grupa – 33 chorych z obniżoną ekspresją desminy w kardiomiocycie. Średni czas obserwacji wynosił $33,2 \pm 14,6$ (6–72) miesięcy. W powyższej pracy uzyskano następujące wyniki: zgon z przyczyn sercowych wystąpił w 2.08% przypadków w grupie I, 7.4% w grupie II i 22.86% w grupie III. Grupa I vs grupa II: test F Cox'a – $p = 0,07647$, test log-rank – $p = 0,15047$; grupa I vs grupa III: test F Cox'a – $p = 0,007$, test log-rank – $p = 0,005$; grupa II vs grupa III: test F Cox'a – $p = 0,033$, test log-rank – $p = 0,079$.

Uzyskane wyniki sugerują, że poziom ekspresji desminy w kardiomiocytach w obrębie prawej komory bezpośrednio wpływa na rokowanie długoterminowe u chorych z niewydolnością

serca. Obniżona ekspresja lub jej brak w kardiomiocytach w oznaczeniu immunohistochemicznym są związane z niekorzystnym przebiegiem klinicznym.

Ad 4) Significance of low desmin expression in cardiomyocytes in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.

W poprzedniej pracy wykazano znaczenie typu ekspresji w tkance mięśnia sercowego pobranego z prawej komory na rokowanie odległe u chorych z niewydolnością serca o różnej etiologii. W obecnej pracy podjęto próbę oceny i) ekspresji desminy w tkance mięśnia sercowego z lewej komory (tkanki dotkniętej procesem chorobowym), ii) ekspresji desminy u pacjentów z idiopatyczną kardiomiopatią rozstrzeniową oraz iii) wpływu typu ekspresji na rokowanie odległe. Od każdego z 200 pacjentów pobierano 6 bioptatów mięśnia sercowego z lewej komory. Ekspresja desminy w kardiomiocycie była oznaczana barwieniem immunohistochemicznym. Półilościowa ocena zawartości desminy w tkance została oceniona Western-blottem. Dokładna analiza bioptatów z lewej komory pozwoliła na doprecyzowanie typów ekspresji desminy oraz wyróżnienie dwóch podgrup w obrębie typu II w porównaniu z wcześniej proponowanym podziałem. Ostateczna klasyfikacja ekspresji desminy proponowana przeze mnie obejmuje 4 typy i jest definiowana w następujący sposób: typ I - prawidłowe barwienie w obrębie linii Z i wstawek powodując regularne prążkowanie w obrębie kardiomiocyta, typ IIA – duża intensywność barwienia desminy w obrębie linii Z i wstawek z regularnym prążkowaniem w obrębie kardiomiocyta, typ IIB – duża intensywność barwienia desminy w obrębie linii Z i wstawek ale z nieregularnym prążkowaniem w obrębie kardiomiocyta i/lub z obecnością złogów najczęściej zlokalizowanych około jądrowo oraz typ III zmniejszona intensywność lub brak barwienia dla desminy w kardiomiocycie.

Pacjenci z typem III ekspresji desminy prezentowali wyższą klasę NYHA i wyższy poziom NT-pro-BNP (N-terminal pro-brain natriuretic peptide), większy wymiar końcowo rozkurczowy lewej komory oraz niższą frakcją wyrzutową lewej komory niż pacjenci z typem I ($p < 0.001$).

Czas obserwacji wynosił 59 ± 33 miesięcy. 44 (22%) pacjentów zmarło, 5 (2.5%) pacjentów było poddanych przeszczepowi serca. Chorzy z typem III prezentowali zwiększone ryzyko zgonu lub przeszczepu serca w jednoczynnikowej analizie Cox oraz modelu regresji (dopasowany współczynnik ryzyka 7.18, 95% przedział ufności od 2.96 do 17.40, $p < 0.001$) i wieloczynnikowym modelu (klasa NYHA, LVEDD, LVEF, NT-pro-BNP, płeć i wiek; współczynnik ryzyka 5.24, 95% przedział ufności 1.58 to 17.38, $p = 0.007$).

Podsumowując, u pacjentów z idiopatyczną kardiomiopatią rozstrzeniową, zmniejszona lub brak ekspresji desminy w kardiomiocycie wydają się być silnym, niezależnym predyktorem niekorzystnej prognozy. Moje badanie podkreśla zasadność oceny ekspresji desminy jako potencjalnego markera progresji niewydolności.

Ad 5) Changes in desmin expression in patients with cardiac diastolic dysfunction and preserved or reduced ejection fraction.

Desmina reguluje funkcję mitochondriów, systemu kanalików T oraz przepływu cytolozowego Ca^{2+} , elementów regulujących funkcję rozkurczową. Moja praca próbowała wyjaśnić czy remodeling desminy koreluje z funkcją rozkurczową i czy narastające zaburzenia desminowe związane są z kolejnymi stopniami dysfunkcji rozkurczowej. Osiemdziesięciu pięciu pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową i z podejrzeniem zapalenia mięśnia sercowego, którego nie potwierdzono w badaniach histochemicznych było włączonych do badania i przydzielonych do 2 grup: i) chorzy z zachowaną frakcją wyrzutową oraz ii) chorzy z obniżoną

frakcją wyrzutową. Ocena echokardiograficzna funkcji rozkurczowej pozwoliła na identyfikację 2 podgrup wśród chorych z zachowaną frakcją wyrzutową: i) z prawidłową funkcją rozkurczową (PFR) i ii) zaburzoną relaksacją (ZR) oraz 3 podgrup wśród chorych z obniżoną frakcją wyrzutową: i) PFR, ii) ZR, iii) pseudonormalizacją. Chorzy z zachowaną frakcją wyrzutową i prawidłową funkcją rozkurczową stworzyli grupę kontrolną. Barwienie immunohistochemiczne badanej populacji ujawniło wszystkie 4 typy (typ I, IIA, IIB, III) ekspresji desminy w tkance mięśnia sercowego.

Typ I ekspresji desminy obserwowano jedynie u chorych z prawidłową funkcją rozkurczową $n=8$ (100%) zarówno z zachowaną jak z obniżoną frakcją wyrzutową lewej komory, typ IIA obserwowano u chorych z prawidłową funkcją rozkurczową $n=8$ (33%) w grupie z zachowaną frakcją wyrzutową i $n=5$ (33%) w grupie z obniżoną frakcją wyrzutową i zaburzenia relaksacji $n=16$ (66%) w grupie z zachowaną frakcją wyrzutową i $n=10$ (66%) w grupie z obniżoną frakcją wyrzutową . Typ IIB i III ekspresji desminy obserwowano u chorych z obniżoną frakcją wyrzutową i zaburzeniami funkcji rozkurczowej: zaburzenia relaksacji i pseudonormalizację $n= 9$ (39%) i $n = 2$ (29%); $n = 14$ (61%) i $n = 5$ (71%), odpowiednio. Desmina w tym badaniu okazała się być niezależnym predyktorem funkcji rozkurczowej: parametry $b = 0.63$, $R^2 = 0.52$ dla E' ; $b = 0.54$, $R^2 = 0.42$ for E/E' .

Obserwowane nasilenie remodelingu desminy było skorelowane z progresją dysfunkcji rozkurczowej. Ekspresja desminy reprezentuje nowatorski czynnik który przyczynia się lub współuczestniczy w rozwoju dysfunkcji rozkurczowej.

Podsumowanie :

Zaprezentowany cykl prac wskazuje, że desmina jako podstawowe białko cytoszkieletu kardiomiocyta jest jednym z podstawowych elementów wpływających na progresję niewydolności serca u chorych z niewydolnością serca w przebiegu idiopatycznej

kardiomiopatii rozstrzeniowej. Remodeling desminy wpływa zarówno na funkcję skurczową prawej i lewej komory jak i funkcję rozkurczową lewej komory oraz na rokowanie chorych z kardiomiopatią rozstrzeniową . Prowadzone prace pozwoliły na uszczegółowienie stworzonej przeze mnie nowej klasyfikacji zmian ekspresji białka w kardiomiocytach chorych z niewydolnością serca.

7. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

7.1 Pozostały dorobek naukowy - podsumowanie publikacji

Mój dorobek naukowy obejmuje 51 publikacji (w tym 23 jako pierwszy autor) oraz 4 rozdziały w podręcznikach (w tym, 3 jako pierwszy autor). Analiza bibliometryczna mojego dorobku wykazała, że łączny Impact Factor wynosi 114,529 punktu. Prace oryginalne stanowią 14 pozycji o łącznym IF 14,121punktu. Prace pogładowe obejmują 21 pozycji (łączny IF 0,536 punktu). Jestem autorem lub współautorem 9 opisów przypadków (łączny IF 4,063 punktu), a także 1 listu do redakcji (łączny IF 0.519 punktu). Na całkowity dorobek składa się również 4 publikacje z udziałem autora w badaniach wielośrodkowych (łączny IF – 93,524) Ponadto jestem autorem lub współautorem 68 streszczeń zjazdowych, z czego 43 były prezentowane na zjazdach międzynarodowych.

Sumaryczny dorobek określany przez ilość punktów KBN/MNiSW to 372 punktów, natomiast wyliczony Index Copernicus to 208,68 punktów.

Łączna liczba cytowań prac oryginalnych wynosi 288 (bez autocytowań) według ISI Web of Science z dnia 09 lutego 2016. Indeks Hircha wg bazy Scopus z dnia 09 lutego 2016 stanowi 5.

7.2 Pozostałe osiągnięcia naukowe, organizacyjne i dydaktyczne

W roku 2014 nadano mi tytuł Fellow of the European Society of Cardiology, co podkreśliło mój dotychczasowy dorobek naukowy i było bardzo stymulujące w planowaniu kolejnych prac badawczych. Obecnie cały moje zaangażowanie naukowe skierowane jest na zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych oraz ustalenie zmian ultrastrukturalnych w mięśniu sercowym u osób z obecnością wirusa jak również poszukiwanie metod diagnostycznych i skutecznych rozwiązań terapeutycznych [6, prace w trakcie procesu publikacyjnego 7, 8].

Od roku 2010 jestem zapraszana, jako wykładowca, na Warsztaty Kardiologii Inwazyjnej organizowane przez Prof. Roberta Gila. W 2010 i 2011 roku aktywnie uczestniczyłam w części naukowej, jako zaproszony wykładowca w Kongresie NFIC (New Frontiers in Interventional Cardiology) w Krakowie.

W roku 2013 i 2014 byłam zapraszana jako członek ESC Faculty na Europejski Kongres Kardiologiczny gdzie prowadziłam sesje dotyczące kardiologii ((Temat: Cardio-oncology: preventing and managing cardiotoxicity, Amsterdam 2013) oraz nowych technologii w niewydolności serca ("A la carte" technology for heart failure management, Barcelona 2014).

Od kilku lat jestem zapraszana, jako recenzent, do polskich i zagranicznych czasopism naukowych publikujących zagadnienia związane z niewydolnością serca i biologią molekularną. W chwili obecnej mogę wymienić ESC Heart Failure, Indian Journal of Medical Research, Polski Przegląd Kardiologiczny. Od kilku lat jestem członkiem rady redakcyjnej następujących czasopism: Case Reports in Clinical Pathology, Austin Journal of Cardiac and Cardiovascular Case Reports.

W roku 2012 rozpoczęłam współpracę w czasopiśmie „Kardiologia Inwazyjna”, w którym między innymi są publikowane doniesienia i relacje z Europejskich Kongresów Kardiologicznych i Niewydolności Serca jak również prace przeglądowe obejmując istotne

aspekty diagnostyki lub leczenia chorych z niewydolnością serca.

Jako promotor pomocniczy pracy doktorskiej „Ocena stanu mikrokrążenia wieńcowego w odniesieniu do poziomu ekspresji desminy w kardiomiocycie u chorych z idiopatyczną kardiomiopatią rozstrzeniową” dr Katarzyny Gil obronionej na II Wydziale Lekarski WUM uczestniczyłam w merytorycznych dyskusjach dotyczących stanu mikrokrążenia i jego klasyfikacji u chorych z niewydolnością serca.

Od 2014 roku jestem opiekunem Studenckiego Koła Naukowego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego przy Klinice Kardiologii Inwazyjnej CSK MSW. Studenci uczestniczący w zajęciach koła mają możliwość nie tylko wysłuchania ciekawych wykładów z zakresu kardiologii, ale również samodzielnego przygotowania i prezentacji zadanych tematów, poszerzania swojej wiedzy praktycznej poprzez uczestniczenie w dyżurach pełnionych w Klinice Kardiologii Inwazyjnej (Pododdział Intensywnej Opieki Kardiologicznej, Pododdział Szybkiej Diagnostyki i Niewydolności Serca czy Pododdziału Hemodynamiki). Członkowie koła mają możliwość aktywnego uczestniczenia w zbieraniu i opracowywaniu danych oraz pisaniu prac. Studenci są autorami lub współautorami prac publikowanych w „Kardiologii Inwazyjnej” oraz abstraktów prezentowanych na Europejskim Kongresie Kardiologicznym. Działalność Koła Naukowego cieszy się dużym zainteresowaniem. Obecnie członkami koła jest 35 osób. Efektem współpracy jest rekrutacja członków Koła jako asystentów klinik lub oddziałów kardiologii w Polsce oraz rozpoczęcie przez dwóch absolwentów studiów doktoranckich.

Agnieszka Pawlak

Agnieszka Pawlak
21.03.2016

Moje publikacje cytowane w autoreferacie.

1. Puc J, Kwiatkowski P, Bobrow M, **Mrozek A (A.Pawlak)**, Juszcak M, Mazurek AP, Rowinski W, Oluwole SF, Hardy MA, Fiedor P. Evaluation of mitochondrial function after cold preservation of pancreatic islet cells from donors treated with pefloxacin. *Transplant Proc.* 1997;29(8):3536-8.
2. Juszcak M, Kinasiewicz A, Wardawa A, **Mrozek A (Pawlak A)**, Ptasinska A, Mazurek AP, Hardy MA, Rowinski W, Fiedor P. Effects of lidocaine on rat pancreatic islet metabolism. *Transplant Proc.* 1999 Aug;31(5):2102-4.
3. Kwiatkowski P, Juszcak M, **Mrozek A (A.Pawlak)**, Wilgus J, Fiedor P, Michler RE. Generation of H₂O₂ prevents Fc receptor-mediated changes in redox potential, reducing beta integrin avidity and natural killer cell adhesion to porcine endothelium. *Transplant Proc.* 2002 Mar;34(2):691-3.
4. **A. Mrozek (A. Pawlak)**, W. Michalska, K. Szymańska, A.P. Mazurek, P. Fiedor : Monitoring of pancreatic islets transplanted to colon mesentery” *Acta Endoscopica* 2000; 13(4):149-152
5. Garnuszek P, Licinska I, **Mrozek A (Pawlak A)**, Wardawa A, Fiedor PS, Mazurek AP. Identification of transplanted pancreatic islet cells by radioactive dithizone-[¹³¹I]-histamine conjugate. Preliminary report. *Nucl Med Rev Cent East Eur.* 2000;3(1):61-3.
6. **Pawlak A**, Przybylski M, Frontczak-Baniewicz M, Gil K, Nasierowska-Guttmejer AM, Gil RJ. Enterovirus Causing Progression of Heart Failure in a Patient with a History of Myocardial Infarction. *Hellenic J Cardiol.* 2015 Jul-Aug;56(4):332-7
7. **A.Pawlak**, K.Gil, R.J.Gil. The Viral Heart Disease – STATE-OF-THE-ART REVIEW. *Kardiologia Polska*
8. **A. Pawlak**, M. Przybylski, M. Durlik, K.Gil, A.M. Nasierowska-Guttmejer, K. Byczkowska, A. Ziemia, R.J. Gil. Viral nucleic acids in the serum are dependent on blood sampling site in patients with clinical suspicion of myocarditis. *Intervirolology*