



Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Borowska 211
50-556 Wrocław
za pośrednictwem:
Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Dr n. farm. HELENA MOREIRA
Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Ul. Borowska 211
50-556 Wrocław

Wniosek

z dnia 25.09.2023r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie *nauk medycznych i nauk o zdrowiu* w dyscyplinie¹ *nauki farmaceutyczne*

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego - badania *in vitro*.

Wnioskuje – 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 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-rod.html

(podpis wnioskodawcy)

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.

Załączniki:

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy.
2. Kopia dyplomu nadania stopnia doktora nauk farmaceutycznych.
3. Autoreferat.
4. Opis osiągnięć naukowych, współpracy naukowej, działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej naukę.
5. Publikacje stanowiące osiągnięcie
6. Oświadczenia współautorów o ich wkładzie w powstanie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe.
7. Analiza bibliometryczna dorobku naukowego przygotowana przez Bibliotekę Główną Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
8. Potwierdzenie uczestnictwa w grantach, zadaniach statutowych, współpracy zagranicznej, stażach zagranicznych i krajowych, współprac z firmami



PODPIS ZAUFANY

HELENA
MOREIRA

25.09.2023 19:15:25 [GMT+2]

Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Dr n. farm. Helena Moreira

AUTOREFERAT

**Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe
komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego
- badania *in vitro*.**

Wrocław, 09.2023

Spis treści

1. DANE OSOBOWE.....	3
2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....	3
3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH.....	4
4. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2b USTAWY	5
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	5
4.2. Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe.....	5
4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	7
Wprowadzenie	7
Cel naukowy	11
Omówienie wyników badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.....	13
Podsumowanie wyników badań stanowiących podstawę osiągnięcia habilitacyjnego oraz potencjalne ich wykorzystanie	30
Literatura.....	32
5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.....	34
5.1. Podsumowanie dorobku naukowego na podstawie analizy bibliometrycznej.....	34
5.2. Opis aktywności naukowej poza osiągnięciem, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.	35
Aktywności i osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych	35
Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych.....	40
Współpraca z zagranicznymi instytucjami naukowymi	45
Współpraca z polskimi instytucjami naukowymi.....	48
Aktualne badania i zainteresowania	57
Udział w projektach badawczych.....	58
Uzyskane nagrody i wyróżnienia naukowe.....	58
6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ	59
Działalność dydaktyczna.....	59
Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę.....	61
7. OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE PODAĆ INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ.63	

1. DANE OSOBOWE

Dr n. farm. Helena MOREIRA

Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE – Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

- Czerwiec 1995: **Dyplom Studiów Wyższych i uzyskanie tytułu Magistra Analityki Medycznej**, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Akademia Medyczna, Wrocław. Temat pracy: *„Ocena ekspresji onkoproteiny c-erbB-2 i antygenu karcinoembrionalnego (CEA) w rakach gruczołowych żołądka.”* Promotor: dr Barbara Ślesak
- Luty 2002: **Dyplom Studiów Wyższych Specjalistycznych „Polityka Publiczna w Europie” (DESS „Politiques Publique en Europe”)**, Institut d’Etudes Politiques de Strasbourg Uniwersytet Robert Schuman, Strasbourg, Francja i Uniwersytet Wrocławski, Wrocław.
- Czerwiec 2004: **Dyplom Studiów Rozszerzonych : Farmakologia i Farmako-chemia (DEA en pharmacologie et pharmaco-chimie)**, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Louis Pasteur, Strasbourg, Francja. Temat: *„Analiza mechanizmów działania nowych związków przeciwzapalnych.”* Promotor: dr hab. Christian D. Muller
- Czerwiec 2005: **Dyplom Uniwersytecki : Doświadczenia na zwierzętach poziom I (DU Expérimentation animale niveau I)**, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Henri Poincaré, Nancy, Francja
- Lipiec 2009 : **Dyplom Doktora Nauk w dziedzinie Aspekty Molekularne Biologii, (Diplôme de Doctorat de: Aspects moléculaire de la biologie)** Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet I w Strasbourgu, Strasbourg, Francja.
Tytuł rozprawy doktorskiej: *„Study of the molecular mechanisms of TNF- α secretion, a key cytokine in chronic inflammation” (Badanie mechanizmów molekularnych wydzielania czynnika martwicy nowotworów TNF- α , kluczowej cytokiny odczynu zapalnego).* Promotor: dr hab. Christian D. Muller
- Grudzień 2010: **NOSTRYFIKACJA Dyplomu Doktora Nauk w dziedzinie Aspekty Molekularne Biologii i nadanie tytułu Doktora nauk farmaceutycznych**, uchwała Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej, Akademia Medyczna we Wrocławiu

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

- 1997 - 2003: **Analityk**, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu
- 2004 – 2008: **Doktorant**, Laboratorium Innowacji Terapeutycznych-UMR 7200, Grupa badawcza: «Chroniczne Choroby Zapalne Jelit i Towarzyszące im nowotwory», Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet I w Strasbourgu, Strasbourg, Francja
- 2008 - 2009: **Analityk**, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu
- 2010 - 2011: **Specjalista naukowo-techniczny**, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu
- 2011 - do chwili obecnej : **Adiunkt naukowo-dydaktyczny**, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

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

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego - badania *in vitro*.

4.2. Publikacje składające się na osiągnięcie naukowe (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy)

Podstawę postępowania habilitacyjnego stanowi cykl 6 pełnotekstowych, powiązanych tematycznie publikacji naukowych, w tym czterech oryginalnych artykułów naukowych i dwa artykuły przeglądowe. Wszystkie prace zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora w latach 2018 – 2023.

Dane naukometryczne cyklu publikacji dostępne na dzień 19.09.2023 r.:

Sumaryczny Impact Factor cyklu publikacji: **21,981**

- w tym prace oryginalne: 15,876

Sumaryczna liczba punktów MEiN cyklu publikacji: **540 pkt**

- w tym prace oryginalne: **420 pkt**

PRACE ORYGINALNE:

H-1. Helena Moreira*, Anna Szyjka, Kazimierz Gąsiorowski

Chemopreventive activity of celastrol in drug-resistant human colon carcinoma cell cultures
Oncotarget, 2018;9(30):21211-21223, doi:10.18632/oncotarget.25014

MEiN: 40 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-2. Helena Moreira*, Anna Szyjka, Kamila Paliszkievicz, Ewa Barg

Prooxidative activity of celastrol induces apoptosis, DNA damage, and cell cycle arrest in drug-resistant human colon cancer cells

Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019;2019:6793957 [12s.],
doi:10.1155/2019/6793957

Impact Factor: 5,076; MEiN: 100 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-3. Helena Moreira*, Anna Szyjka, Justyna Grzesik, Katarzyna Pelc, Magdalena Żuk, Anna Kulma, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller, Kazimierz Gąsiorowski, Ewa Barg
Celastrol and resveratrol modulate *SIRT* genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells

Cancers, 2022;14(6):1372 [18 s.], doi:10.3390/cancers14061372

Impact Factor: 6,575; MEiN: 140 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-4. Anna Radajewska^{#*}, **Helena Moreira**^{#*}, Dorota Bęben, Oliwia Siwiela, Anna Szyjka, Katarzyna Gębczak, Paulina Nowak, Jakub Frąszczak, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller and Ewa Barg

Combination of irinotecan and melatonin with natural compounds – wogonin and celastrol for colon cancer treatment.

International Journal of Molecular Sciences, 2023; 24: 9544 [21s.],
doi.org/10.3390/ijms24119544

Impact Factor: 6,208; MEiN: 140 pkt

#równorzędny pierwszy autor

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współdziale w opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, współredakcji pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

PRACE PRZEGLĄDOWE:

H-5. Helena Moreira*, Ewa Barg

Cancer stem cells - current knowledge and targeting with natural compounds

Postępy Biologii Komórki, 2019;46(1):43-62

Impact Factor: 0,163; MEiN: 20 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i przeprowadzeniu analizy piśmiennictwa, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-6. Anna Radajewska, Oskar Przybyszewski, Fathi Emhemmed, Christian D., Muller Ewa Barg*, **Helena Moreira***

Three dimensional in vitro culture systems in anticancer drug discovery targeted on cancer stem cells

American Journal of Cancer Research, 2021;11(10):4931-4946

Impact Factor: 5,942; MEiN: 100 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współpracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i przeprowadzeniu analizy piśmiennictwa, współredakcji pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

Do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego dołączono oświadczenia wszystkich współautorów publikacji, określające indywidualny wkład merytoryczny każdego z autorów. (załącznik nr 6)

4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Choroby nowotworowe stanowią wyzwanie dla współczesnej medycyny. U coraz większej liczby ludzi na całym świecie rozpoznawane są różne typy nowotworów, niejednokrotnie trudne do leczenia, często nierokujące. Choroby XXI wieku (m.in. otyłość, siedzący tryb życia, palenie papierosów), niewłaściwe nawyki żywieniowe i mała aktywność ruchowa przyczyniają się do rozwoju nowotworów, szczególnie raka jelita grubego. Rozpoznany u prawie 2 milionów ludzi na świecie, rak jelita grubego stanowi trzecią przyczynę zgonów z powodu chorób nowotworowych. U blisko 80% pacjentów diagnoza postawiona jest w późnych stadiach choroby, często już z występującymi odległymi przerzutami [1-3]. Zgodnie z obowiązującymi zasadami możliwości leczenia raka jelita grubego obejmują leczenie chirurgiczne wspomagane terapią systemową, w tym chemioterapią, radioterapią, immunoterapią, terapiami: celowaną i paliatywną. Pomimo rosnącej w ostatnich latach liczby dostępnych opcji leczenia rokowanie pozostaje nadal złe, zwłaszcza u chorych z przerzutami. Jest to związane z biologiczną charakterystyką i heterogennością komórek nowotworowych, a także licznymi działaniami niepożądanymi [4-6].

Rak jelita grubego jest jednym z najbardziej opornych na leczenie guzów litych. U pacjentów z przerzutowym rakiem jelita grubego, ryzyko wystąpienia oporności stanowi aż 90% [7,8]. Niepowodzenie leczenia i nawrót choroby są związane z obecnością wrodzonej i/lub nabytej oporności komórek nowotworowych. Oporność jest wynikiem zmian w samej komórce, z powodu złośliwych modyfikacji molekularnych i komórkowych, które zmieniają ich

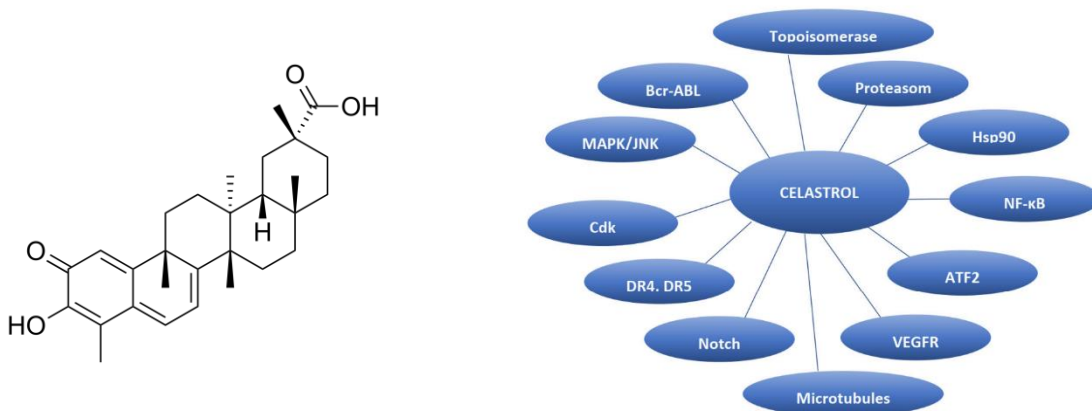
wrażliwość na leki. Oprócz dobrze opisanej koncepcji, określanej jako oporność wielolekowa (MDR, ang. multidrug resistance), ostatnio oporność na terapię i nawroty raka powiązano z nowotworowymi komórkami macierzystymi (NKM) obecnymi w masie guza [7,9]. Odgrywają one fundamentalną rolę na każdym etapie rozwoju nowotworu. Uważa się, że NKM są odpowiedzialne za inicjację nowotworu, oporność na leki i radioterapię, inwazyjny wzrost, przerzuty i nawrót choroby. Wielu autorów przyjmuje, że NKM są głównymi regulatorami procesu nabywania lekooporności [10-12]. Powstanie w masie guza populacji komórek o fenotypie NKM może być związane z akumulacją zmian genetycznych i epigenetycznych w prawidłowych komórkach macierzystych jelita grubego lub normalnych komórkach nowotworowych. NKM mogą także powstawać w wyniku odróżnicowania komórek somatycznych pod wpływem różnych czynników genetycznych i mikrośrodowiskowych. Badania wskazują, że NKM ulegają stałej dwukierunkowej konwersji polegającej na różnicowaniu się w kierunku normalnych komórek nowotworowych i odróżnicowywaniu się normalnych komórek nowotworowych do NKM. Zatem NKM stanowią fenotypowo i funkcjonalnie heterogenną dynamiczną populację w obrębie guza, co przyczynia się do braku skuteczności aktualnych terapii przeciwnowotworowych [9]. Ponadto NKM są mniej wrażliwe lub całkowicie nie reagują na konwencjonalne terapie, które są ukierunkowane głównie na szybko proliferujące komórki nowotworowe. Przy obecnym stanie wiedzy wskazane jest dostosowanie protokołów terapeutycznych tak by eliminować równocześnie NKM i normalne komórki nowotworowe [13]. Konieczne jest zaprojektowanie nowej strategii terapeutycznej wspomagającej eliminację NKM niezbędnej do poprawy leczenia raka jelita grubego.

W ciągu ostatnich dwudziestu lat zainteresowanie naturalnymi związkami w badaniach z komórkami nowotworowymi znacznie wzrosło ze względu na częste działania niepożądane i ograniczoną skuteczność stosowanych terapii przeciwnowotworowych [14,15]. Dodatkowy wpływ miała opisywana skuteczność różnych roślin w leczeniu wielu nowotworów, stosowanych w tradycyjnej medycynie azjatyckiej, m.in. chińskiej i ajurwedyjskiej [16]. Zdolność różnych związków pochodzenia roślinnego (określanych jako fitochemikalia) do hamowania powstawania i wzrostu guza została potwierdzona w badaniach *in vitro* i *in vivo* dla różnych nowotworów. Niektóre naturalne produkty i ich pochodne, co potwierdzono doświadczalnie, oprócz niszczenia „normalnych” komórek nowotworowych, tworzących większość masy guza, mają wysoki potencjał do eliminacji NKM. Uważa się, że fitochemikalia posiadają uprzywilejowane struktury chemiczne umożliwiające im interakcję z różnymi białkami komórkowymi, a tym samym wpływające na różne szlaki sygnalizacyjne odpowiedzialne za przeżycie i funkcje NKM. Ta właściwość czyni je doskonałymi narzędziami do zwalczania NKM, które wykorzystują wiele różnych mechanizmów zapewniających im przetrwanie. Ponadto, dostępne wyniki badań wskazują, że związki naturalnie występujące w przyrodzie wywierają szereg korzystnych działań chemoprewencyjnych i mogą wzmacniać aktywność przeciwnowotworową znanych środków chemioterapeutycznych, co może poprawiać efektywność konwencjonalnej terapii [14-17].

Substancje pochodzenia roślinnego o potencjalnym znaczeniu farmakologicznym należą do szerokiej grupy związków organicznych, obejmujących m.in. terpenoidy, stilbeny, alkaloidy,

garbniki, flawonoidy. Do terpenoidów zaliczany jest **celastrol** (znany również pod nazwą trypteryna). Został wyizolowany z ekstraktów korzenia *Tripterygium wilfordii* Hook f, pnącza zwanego „winoroślą boga piorunów” stosowanego w tradycyjnej medycynie chińskiej [18]. Celastrol jest związkiem poznanym stosunkowo niedawno. Pierwsze prace dotyczące celastrolu pojawiły się na przełomie lat 80/90 i dotyczyły wyłącznie badań aktywności przeciwzapalnej. W kolejnych badaniach potwierdzono silne działanie przeciwutleniające i przeciwzapalne tego związku. Wydaje się, że już w niedalekiej przyszłości preparaty celastrolu będą wykorzystywane klinicznie w leczeniu przewlekłych schorzeń zapalnych, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, choroby neurodegeneracyjne typu Alzheimer'a i stwardnienie zanikowe boczne (SMA) [19,20]. Celastrol wzbudził również zainteresowanie jako potencjalny związek o działaniu przeciwnowotworowym. Wyniki pierwszych badań opublikowano w 2003r., a w ostatniej dekadzie wykazano skuteczność celastrolu w różnych modelach nowotworów *in vitro*, m.in. raków: szyjki macicy, prostaty, żołądka, piersi.

Działanie przeciwnowotworowe celastrolu na komórki raka jelita grubego opisano w 23 pracach zindeksowanych w bazie PubMed, wśród których 4 prace są z moim współautorstwem. Celastrol jest pentacyklicznym triterpenoidem o plejotropowym działaniu. Wpływa na funkcje wielu ważnych białek w komórkach (rycina 1), poprzez tworzenie kowalencyjnych adduktów z nukleofilowymi grupami tiolowymi reszt cysteiny. Ponadto, celastrol jest silnym inhibitorem jądrowego czynnika transkrypcyjnego kappa B (NF- κ B) odgrywającego kluczową rolę w transkrypcji genów kodujących białka związane ze stanem zapalnym, proliferacją komórkową i apoptozą [18-22].

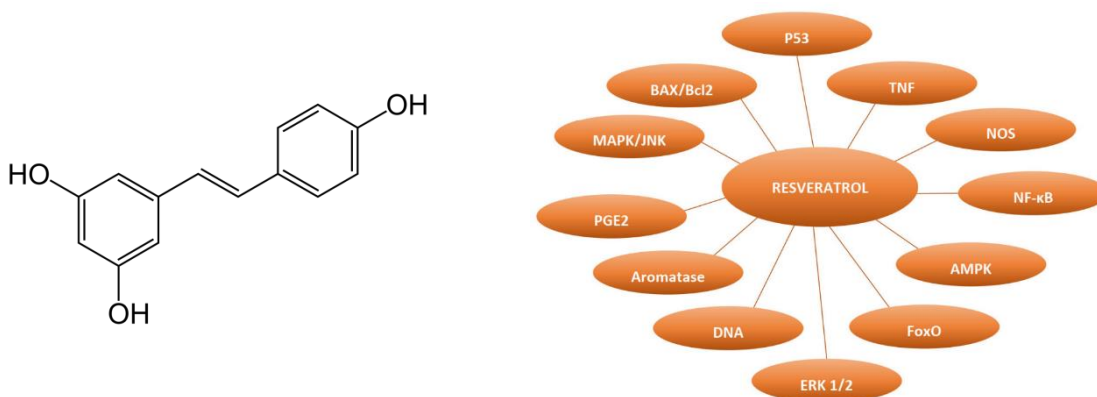


Rycina 1. Struktura chemiczna celastrolu i białka, na które oddziałuje (źródło: *Moreira H. i wsp. Cancers, 2022;14(6):1372*)

Resweratrol jest fitoaleksyną, polifenolową pochodną stilbenu (trihydroksy-trans-stilben). Występuje w dwóch izomerycznych strukturach, trans i cis, ale to forma trans jest obecna naturalnie w wielu roślinach i odpowiada za jego aktywność biologiczną. Resweratrol po raz pierwszy został wyizolowany w 1940 r. z korzeni ciemiernika białego (*Veratrum grandiflorum* O. Loes). Głównym źródłem tego związku jest korzeń *Polygonum cuspidatum*, zioła leczniczego znanego w medycynie azjatyckiej jako Ko-jo-kon. Resweratrol występuje również

w owocach i przetworach, zwłaszcza w winogronach i czerwonym winie [23,24]. Związek ten stał się popularny ze względu na działanie kardioprotekcyjne w zapobieganiu chorobom układu krążenia i uznany za czynnik odpowiedzialny za tzw. „francuski paradoks”. Autorzy hipotezy „francuskiego paradoksu”, powiązali mniejszą umieralność z powodu miażdżycy naczyń wieńcowych z regularną konsumpcją wina gronowego przez Francuzów w porównaniu do Brytyjczyków i Amerykanów [25]. Początki badań nad właściwościami chemoprewencyjnymi i przeciwnowotworowymi resweratrolu sięgają końca lat 90. Udokumentowano proapoptotyczne, antyproliferacyjne i chemouwrażliwiające działanie resweratrolu na komórki nowotworowe raka prostaty, białaczki, trzustki, piersi, białaczki, jelita grubego. Natomiast, w niewielu pracach opisywany jest wpływ resweratrolu na komórki przerzutowe i NKM raka jelita grubego.

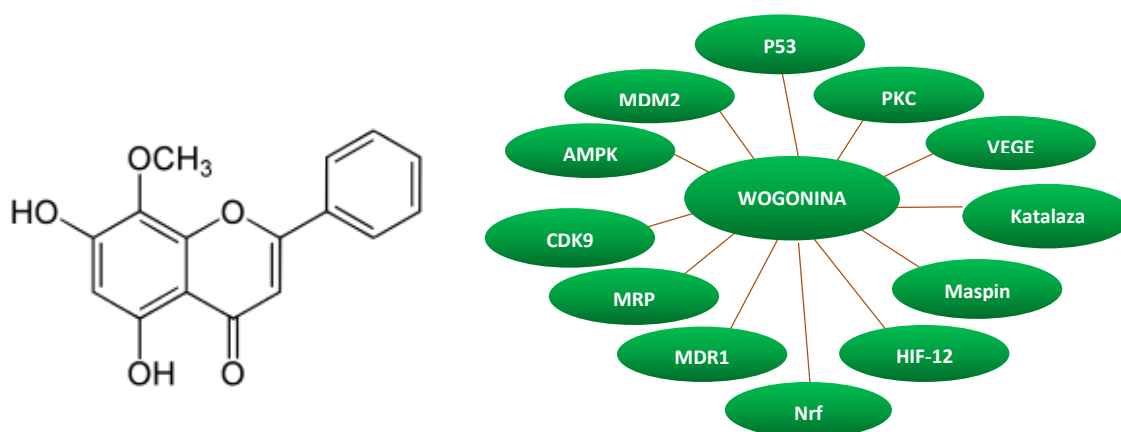
Resweratrol, podobnie jak celastrol jest funkcjonalnie plejotropowym związkiem, który może oddziaływać z różnymi białkami wewnątrzkomórkowymi (rycina 2), w tym z czynnikiem transkrypcyjnym NF-κB, silnie hamując jego aktywację [26,27]. Wyniki licznych badań wskazują, że aktywność czynnika transkrypcyjnego NF-κB wpływa na regulację ekspresji wielu genów związanych z funkcją i fenotypem NKM. Wykazano, że aktywacja NF-κB w NKM znacznie zwiększa ekspresję genów kodujących białka komórkowe związane z chemioopornością i inwazyjnością nowotworów, zwiększa ekspresję i funkcję P-gp, zmniejsza podatność komórek na apoptozę, nasila naprawę uszkodzeń DNA w komórkach nowotworowych [28].



Rycina 2. Struktura chemiczna trans-resweratrolu i białka, na które oddziałuje (źródło: *Moreira H. i wsp. Cancers, 2022;14(6):1372*)

Wogonina należy do bioaktywnych flawonoidów izolowanych z korzeni tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria Baicalensis* Georgi), rośliny stosowanej w tradycyjnej medycynie chińskiej. Suszone korzenie używano w leczeniu chorób zapalnych, w tym zapalenia wątroby oraz infekcji bakteryjnych i wirusowych. Obecnie prowadzone badania wogoniny oceniają jej właściwości przeciwnowotworowe, w tym działanie proapoptotyczne, potencjał do hamowania

proliferaacji, inwazji i angiogenezy nowotworu, a także indukcji wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS) i autofagii [29]. Jednakże niewiele prac opisuje wpływ wogoniny na komórki raka jelita grubego. Ponadto, zgodnie z moją wiedzą, nie ma prac na oceniających działanie wogoniny na NKM i komórki przerzutowe. Ostatnio You W. *i wsp.* wykazali, że wogonina hamuje wzrost i przerzutowanie raka jelita grubego [30]. We wstępnych badaniach własnych stwierdziłam, że wogonina wykazywała działanie hamujące proliferację oraz znacząco zmniejszała odsetek komórek SP (ang. Side Population) (subpopulacja komórek nowotworowych wzbogacona w NKM) w hodowlach *in vitro* komórek raka jelita grubego. Działanie przeciwnowotworowe wogoniny obejmuje wiele szlaków sygnałowych (rycina 3).



Rycina 3. Struktura chemiczna wogoniny i białka, na które oddziałują (źródło: zmodyfikowano na podstawie [31])

Powyższe dane oraz wyniki przeprowadzonych przez innych autorów badań skłoniły mnie do podjęcia prac oceniających działanie powyższych związków na NKM raka jelita grubego i potencjału terapeutycznego w leczeniu przerzutowego i lekoopornego raka jelita grubego.

Cel naukowy

Złożona biologia nowotworów i obecność komórek macierzystych (NKM) w masie guza, spowodowała konieczność poszukiwania związków działających selektywnie na NKM i nowych skutecznych strategii terapeutycznych ukierunkowanych w równym stopniu na eliminację normalnych komórek nowotworowych i NKM. Substancje bioaktywne pochodzenia roślinnego wykazują plejotropowe właściwości, co czyni je dobrymi kandydatami do zastosowania w terapiach eliminujących NKM. Ponadto, związki roślinne obok działania przeciwnowotworowego wywierają potencjalnie ochronny wpływ na prawidłowe komórki organizmu i nie powinny wywoływać niepożądanych skutków ubocznych.

Założeniem podjętych przeze mnie badań, prezentowanych w cyklu publikacji była ocena skuteczności wybranych związków naturalnych, należących do różnych grup związków organicznych, w eliminacji NKM i komórek przerzutowych raka jelita grubego. Celastrol (triterpenoid), resweratrol (stilben) i wogoninę (flawonoid) wybrałam z uwagi na ich korzystne

właściwości i plejotropowe działania wskazujące na potencjał do eliminacji NKM odpowiedzialnych za agresywny przebieg choroby nowotworowej. Podjęta przeze mnie tematyka ma istotne znaczenie dla zwiększenia możliwości terapeutycznych przerzutowej oraz lekoopornej postaci raka jelita grubego, będącej najczęstszą przyczyną zgonów.

Analizowałam mechanizmy działania przeciwnowotworowego w komórkach przerzutowych i NKM raka jelita grubego, w tym chemoprewencyjnego, proapoptotycznego, antyproliferacyjnego, genotoksycznego i antymigracyjnego. Ponadto przeprowadziłam badania ekspresji genów sirtuin w celu oceny wpływu badanych związków na regulacje epigenetyczne w korelacji z ich właściwościami przeciwnowotworowymi. Uzyskane wyniki, wskazujące na wysoką skuteczność tych substancji w eliminacji komórek przerzutowych i NKM, skłoniły mnie do dalszych badań mających na celu ocenę potencjału związków naturalnych do zwiększania efektu przeciwnowotworowego konwencjonalnych leków cytostatycznych. Zaproponowałam nowe, do tej pory niebadane, potencjalne strategie terapeutyczne polegające na połączeniu irynotekanu z melatoniną lub wogoniną lub celastrolem w tzw. terapii skojarzonej do zastosowania w raku jelita grubego. Irynotekan jest standardowym cytostatykiem stosowanym klinicznie w chemoterapii przerzutowej postaci raka jelita grubego. Włączenie do terapii melatoniny, hormonu wytwarzanego w szyszynce, w przewodzie pokarmowym i innych narządach, jest nowym podejściem przeciwnowotworowym. Poza podstawowym działaniem melatoniny w regulacji rytmu okołodobowego, wykazuje ona działanie immunomodulujące, przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. Ponadto melatonina działa ochronnie na zdrowe, nienowotworowe komórki, w czasie terapii przeciwnowotworowej.

Badania przeprowadziłam w warunkach *in vitro* wykorzystując jako modele badawcze linie komórkowe raka jelita grubego. Linia komórkowa LOVO (ATCC[®]CCL-229TM) została wyprowadzona z guzków przerzutowych pozyskanych od 56-letniego pacjenta z gruczolakorakiem okrężnicy (typ C w klasyfikacji Duke'a, stopień IV). Linię komórkową LOVO/DX pozyskano przez kilkumiesięczną stałą ekspozycję komórek LOVO na niskie dawki doksorubicyny, w warunkach *in vitro*. Komórki linii LOVO/DX wykazują krzyżową oporność na doksorubicynę i inne antracykliny, znacząco zwiększony odsetek NKM oraz właściwości charakterystyczne dla NKM (m.in. zwiększoną ekspresję markerów NKM), które opisałam w artykule H-3 (*Cancers*, 2022;14(6):1372). Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem różnych technik badawczych: hodowli komórkowych, cytometrii przepływowej i obrazowej, spektrofotometrii, biologii molekularnej (RT-PCR, ang. *polymerase chain reaction*).

Przedstawione badania stanowiące moje osiągnięcie naukowe mają charakter nowatorski szczególnie w ocenie potencjału terapeutycznego wybranych związków, stosowanych pojedynczo lub w połączeniach, do zwalczania NKM i komórek przerzutowych w raku jelita grubego.

Omówienie wyników badań wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

PRACE ORYGINALNE

H-1. Chemopreventive activity of celastrol in drug-resistant human colon carcinoma cell cultures

Głównym mechanizmem lekooporności komórek raka jelita grubego jest nadekspresja glikoproteiny P (P-gp). Białko to, kodowane przez gen ABCB1, należy do rodziny transporterów ABC zależnych od ATP (ang. ATP-Binding Cassette Transporters), które aktywnie usuwają chemioterapeutyki z komórek nowotworowych. Mechanizm ten wykorzystywany jest również przez NKM, które cechują się wysoką ekspresją różnych transporterów błonowych zapewniających im przetrwanie w trudnych warunkach mikrośrodowiskowych i oporność na działania ksenobiotyków. Dostępne w literaturze naukowej wyniki badań wskazują, że niektóre związki pochodzenia roślinnego są silnymi inhibitorami P-gp, zmniejszającymi lekooporność komórek nowotworowych.

Celem przeprowadzonych badań była ocena aktywności chemoprewencyjnej celastrolu na lekooporne komórki raka okrężnicy. Zbadałam jego wpływ na aktywność funkcjonalną/transporterową P-gp, częstość apoptozy i martwicy, a także wielkość tzw. subpopulacji komórek SP (ang. Side Population) (subpopulacja komórek nowotworowych wzbogacona w NKM). Ocena subpopulacji SP jest jedną z metod stosowanych do identyfikacji NKM wykorzystująca technikę cytometrii przepływowej. Komórki guza nowotworowego tworzące subpopulację SP wykazują skrajnie niski poziom fluorescencji barwnika Hoechst 33342, co związane jest z jego aktywnym usuwaniem przez transportery ABCB1 (P-gp) i ABCG2 (BCRP, ang. breast cancer protein). Populacja SP nie jest homogenną grupą komórek nowotworowych, ale uważa się, że jest wzbogacona w NKM. Odsetek komórek wykazujących fenotyp SP różni się w różnych typach nowotworów i prawdopodobnie wpływa na stopień złośliwości nowotworów. W hodowlach komórek lekoopornej postaci raka jelita grubego liczebność subpopulacji SP jest 7-krotnie większa w porównaniu z hodowlami komórek o standardowej wrażliwości na cytostatyki, co wskazuje na zwiększoną liczebność NKM. Uzyskane wyniki badań, wskazują, że celastrol (proporcjonalnie do stężenia) powoduje znaczną redukcję wielkości subpopulacji SP w hodowlach lekoopornych komórek raka jelita grubego. W stężeniu 20 μM odsetek komórek SP zmniejszył się o 65%, a efekt był znacznie silniejszy od efektu działania werapamilu, standardowego inhibitora P-gp. Ponadto, celastrol powodował spadek aktywności dehydrogenazy aldehydowej ALDH1A1 (ang. aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1), enzymu który odpowiada za detoksykację endogennych i egzogennych substratów aldehydowych, w tym chemioterapeutyków. NKM charakteryzują się podwyższoną aktywnością ALDH1A1. Enzym ten wykorzystywany jest jako biomarker do identyfikacji i izolacji NKM. Ponadto, podwyższone poziomy aktywności ALDH1A1 wiążą się ze słabą odpowiedzią na chemioterapię i złym rokowaniem choroby nowotworowej,

również raka jelita grubego. Hamowanie aktywności enzymatycznej ALDH1A1 prowadzi do uwrażliwiania komórek nowotworowych na chemio- i radioterapię.

Wykazałam wysoką ujemną korelację pomiędzy zmniejszeniem liczebności subpopulacji SP a nasileniem wiązania się celastrolu z białkiem P-gp. Zastosowanie wysoce swoistego przeciwciała monoklonalnego anty-P-gp (UIC2), które w warunkach fizjologicznych wykazuje zwiększoną immunoreaktywność w obecności inhibitorów P-gp, pozwoliło potwierdzić zdolność celastrolu do bezpośredniego wiązania się z białkiem P-gp w błonie komórkowej. Wiązanie celastrolu z P-gp, hamowało jego funkcję transportową, czemu towarzyszyła większa akumulacja rodaminy-123 i doksorubicyny (standardowego cytostatyku). Podobnie ujemną korelację odnotowałam pomiędzy zmniejszeniem liczebności subpopulacji SP a wzrostem odsetka komórek wykazujących cechy apoptozy. Celastrol indukuje szybkie zmiany apoptotyczne w komórkach nowotworowych, obserwowane jako tzw. wczesna apoptoza w badaniu z zastosowaniem cytometrii przepływowej. Nie powoduje natomiast nekrozy komórek. Zatem mechanizm działania celastrolu w komórkach raka jelita grubego opornych na cytostatyki, wzbogaconych w NKM, polega na indukcji zaprogramowanej, samobójczej śmierci komórek, a nie na cytotoksycznym działaniu na komórkę. Jest to istotne z punktu widzenia terapeutycznego, ponieważ komórki nowotworowe wykazują nieograniczoną zdolność do podziałów na skutek nabytej oporności na śmierć na drodze apoptozy.

Chemiooporność, nadekspresja białek transportowych, podwyższona aktywność ALDH1A1, zwiększona liczebność subpopulacji SP i zdolność do unikania apoptozy są ważnymi atrybutami NKM. NKM cechuje ponadto znaczna heterogenność wynikająca z ciągłych zmian morfologicznych i funkcjonalnych pod wpływem zmieniającego się mikrośrodowiska guza nowotworowego. Dlatego ocena istotnych cech funkcjonalnych ma większe zastosowanie niż próby ścisłej identyfikacji cech fenotypowych charakterystycznych dla NKM. Przedstawione wyniki badań wskazują na wysoki potencjał celastrolu do ingerencji w ważne cechy funkcjonalne i przeżyciowe NKM, a zatem do eliminacji tych komórek w raku jelita grubego.

Podsumowanie:

Celastrol wykazuje znaczące działanie chemoprewencyjne i chemouwrażliwiające w lekoopornych komórkach raka jelita grubego. Wydaje się być dobrym kandydatem na lek uzupełniający, który może poprawić skuteczność standardowej terapii cytostatycznej u ludzi. Warto podkreślić, że celastrol jest silnym inhibitorem NF- κ B. Zahamowanie szlaku NF- κ B może istotnie upośledzać NKM, a przez to znacząco zwiększać chemowrażliwość nowotworów i poprawiać skuteczność chemioterapii. Nowatorski charakter tych badań również polega na wykazaniu zahamowania aktywności P-gp poprzez bezpośrednie oddziaływanie celastrolu z tym białkiem. W dostępnym piśmiennictwie, zgodnie z moją najlepszą wiedzą, nie są dostępne badania wykazujące bezpośrednie oddziaływanie celastrolu z białkiem P-gp.

H-2. Prooxidative activity of celastrol induces apoptosis, DNA damage, and cell cycle arrest in drug-resistant human colon cancer cells

Oporność na chemioterapię jest ściśle związana z komórkową heterogennością nowotworu, a zatem obecnością szybko proliferujących zróżnicowanych komórek nowotworowych oraz NKM, które cechuje wysoki potencjał rakotwórczy, zdolność do samoodnawiania się i różnicowania. W porównaniu ze zróżnicowanymi komórkami nowotworowymi, NKM są uśpione i mają niższą szybkość metabolizmu energetycznego co w konsekwencji skutkuje znacznie obniżonym podstawowym poziomem wewnątrzkomórkowych wolnych rodników tlenowych RFT (reaktywne formy tlenowe). Obniżony poziom RFT jest jedną z głównych przyczyn rozwoju i utrzymania odporności tych komórek. Utrzymanie niskiego poziomu RFT możliwe jest poprzez zwiększoną wydajność w tych komórkach systemów wychwytyjących wolne rodniki, takich jak glutation (GSH). W NKM występuje zwiększona wewnątrzkomórkowa synteza GSH utrzymywana przez błonową cząsteczkę adhezyjną CD44. CD44 ulega nadekspresji w NKM i jest krytycznym regulatorem niektórych ich funkcji. Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że NKM i normalne komórki nowotworowe (nie-NKM) mogą rozwijać się dwukierunkowo, tj. nie-NKM mogą się przeprogramowywać/odróżnicowywać na NKM i odwrotnie NKM mogą się różnicować w inne fenotypy komórek nowotworowych. Biorąc te właściwości pod uwagę, strategię terapii przeciwnowotworowej powinny być ukierunkowane zarówno na komórki zróżnicowane szybko proliferujące, jak i na NKM. Ewentualna interwencja farmakologiczna, która upośledza systemy antyoksydacyjne i/lub indukuje generowanie RFT może potencjalnie zapewnić skuteczność eliminacji NKM i nie-NKM.

W badaniach wykazałam, że zastosowane w pracy lekooporne komórki raka jelita grubego, wzbogacone w NKM, wykazują nadekspresję CD44 z jednoczesnym znacznie obniżonym poziomem cytoplazmatycznych RFT, w porównaniu do endogennego statusu oksydacyjnego komórek ze standardową wrażliwością na cytostatyki. Struktura chemiczna celastrołu zawiera wysoce „redoks-aktywne” ugrupowanie metydu para-chinonu, które może indukować stres oksydacyjny poprzez tworzenie RFT w postaci np. nadtlenuków. W prezentowanej pracy wykazałam potencjał celastrołu do indukowania stresu oksydacyjnego w NKM raka jelita grubego, poprzez generowanie znacznych ilości RFT na poziomie cytoplazmatycznym oraz mitochondrialnym. Istotne, N-acetylo-L-cysteina (NAC), zmiatacz wolnych rodników, całkowicie niwelowała indukowane celastrolu efekty. Co więcej, aktywności prooksydacyjnej towarzyszyła znaczna indukcja ciężkich uszkodzeń DNA w postaci dwuniciowych pęknięć (DSB, ang. double strand breaks). Ilość DSB oszacowana została w oparciu o fosforylację histonu H2AX (γ -H2AX), specyficznego i czułego biomarkera DSB. Dodatkowo, podwyższony poziom RFT skorelowany był z zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie S a tym samym zahamowaniem proliferacji oraz z indukcją apoptotycznej śmierci komórek. Faza S jest kluczowym etapem w przebiegu cyklu komórkowego, ponieważ umożliwia prawidłową replikację DNA. Mechanizm działania niektórych leków przeciwnowotworowych polega na genotoksycznym hamowaniu proliferacji komórek, właśnie poprzez indukowanie nienaprawialnych pęknięć dwuniciowych DNA, które skutkują

zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie S. Zwiększony poziom wewnątrzkomórkowych wolnych rodników, reagujących z DNA i tym samym modyfikujących jego strukturę i funkcję, jest jedną z głównych przyczyn powstawania tych uszkodzeń. Indukowane celastrolem powstawanie γ -H2AX zostało całkowicie zniesione w obecności NAC. Ponadto, NAC znosił proapoptotyczne efekty celastrolu, wskazując na RFT zależny mechanizm indukcji apoptozy.

Podsumowując, celastrol wykazuje zdolność do eliminacji NKM poprzez generowanie RFT i w konsekwencji indukcji uszkodzeń DNA, zahamowanie proliferacji i indukcji apoptotycznej śmierci komórki. Warto podkreślić, że NKM reagują silniej na prooksydacyjne działanie celastrolu niż komórki „normalne” komórki nowotworowe raka jelita grubego, pomimo tego, że podstawowy poziom RFT w NKM jest znacznie niższy. To sugeruje, że celastrol zakłóca status oksydacyjny w NKM, które regulują równowagę pomiędzy produkcją i usuwaniem RFT w celu utrzymania ochronnego niskiego wewnątrzkomórkowego poziomu wolnych rodników. Te dane potwierdzają istotny potencjał celastrolu do skutecznego niszczenia NKM w raku jelita grubego, wskazując na potencjalne jego zastosowanie w leczeniu ciężkich, opornych na konwencjonalną terapię przypadków raka jelita grubego.

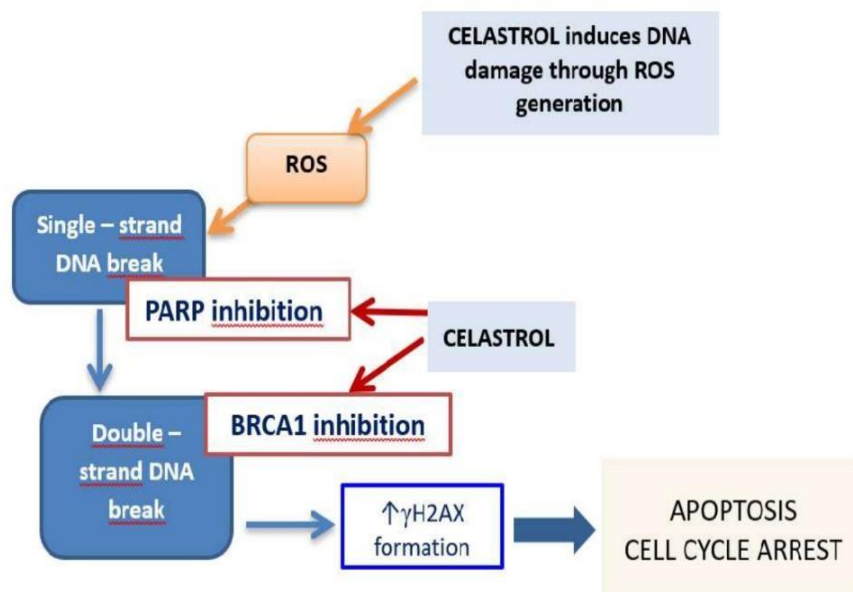
H-3. Celastrol and resveratrol modulate *SIRT* genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells

Niestabilność genomu i zmiany epigenetyczne są kluczowymi cechami nowotworów i NKM. Do ważnych regulatorów epigenetycznych w komórce należą sirtuiny (SIRT) odgrywające rolę w mechanizmach acetylacji/deacetylacji histonów. SIRT biorą udział w głównych funkcjach biologicznych, takich jak transkrypcja, autofagia, cykl komórkowy, naprawa uszkodzeń DNA, angiogeneza, reakcje na stres i starzenie. SIRT należą do klasy deacetylaz histonowych (HDAC) i składają się z siedmiu enzymów (SIRT1–7) o różnej lokalizacji komórkowej: sirtuiny jądrowe (SIRT1,6,7), sirtuiny cytozolowe (SIRT2) i sirtuiny mitochondrialne (SIRT3,4,5). Wyniki licznych badań wskazują na udział SIRT w epigenetycznej regulacji ważnych procesów nowotworowych: proliferacji, komórkowego przeprogramowania metabolicznego, inwazji i przerzutowania. Co więcej, niektóre dowody wskazują, że sirtuiny, zwłaszcza SIRT1 i SIRT2, mogą odgrywać istotną rolę w utrzymaniu i różnicowaniu NKM. Wykazano, że SIRT w komórkach nowotworowych ulegają dysregulacji, która może sprzyjać kancerogenezie. Z drugiej strony przypisuje się im podwójną funkcję supresorów i promotorów nowotworów, w zależności od ich ekspresji (specyficznej tkankowo i nowotworowo) oraz warunków eksperymentalnych.

W prezentowanej pracy badałam potencjalne mechanizmy przeciwnowotworowe celastrolu i resweratrolu na komórki przerzutowe raka jelita grubego i ich zdolność do zwalczania NKM, w korelacji z ich wpływem na ekspresję genów *SIRT*. Do badań wyselekcjonowałam SIRT 1, 2, 3 i 6 na podstawie pełnionej przez nie funkcji w komórkach nowotworowych: SIRT 1 i 2 jako sirtuiny powiązane z funkcjami NKM, SIRT3 jako ważną deacetylazę mitochondrialną

odgrywającą rolę w redukcji stresu oksydacyjnego oraz SIRT6, która w literaturze naukowej została zaproponowana jako wskaźnik prognostyczny i potencjalny cel terapeutyczny w raku jelita grubego.

W pracy wykazałam, że celastrol indukuje apoptozę komórek przerzutowych i NKM w raku jelita grubego, i w niewielkim stopniu indukuje nekrozę w komórkach przerzutowych. Komórki przerzutowe są nieco bardziej podatne na proapoptotyczne i antyproliferacyjne (poprzez silniejsze blokowanie progresji cyklu komórkowego w fazie S) działanie celastrolu, co koreluje z ich chemowrażliwym fenotypem. Zatrzymanie progresji cyklu komórkowego w fazie S może być odpowiedzią na uszkodzenie DNA, dając w ten sposób czas na naprawę DNA. W przypadku komórek nowotworowych indukowane lekami pęknięcia dwuniciowe DNA często skutkują zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie S i indukcją apoptozy. W swoich badaniach wykazałam, że celastrol jest silnym związkem uszkadzającym DNA, prowadzący do znacznego wzrostu nienaprawialnych DSB w komórkach przerzutowych oraz NKM. NKM były bardziej wrażliwe na genotoksyczne działanie celastrolu, prawdopodobnie ze względu na wyższy poziom generowanych przez celastrol RTF w tych komórkach. Ponadto celastrol zaburzał zdolność komórek raka okrężnicy do naprawy DNA poprzez zmniejszenie ekspresji genów PARP1 i BRCA1. Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań zaproponowałam możliwy mechanizm działania celastrolu w przerzutowych komórkach i NKM raka jelita grubego, przedstawiony na rycinie 3.

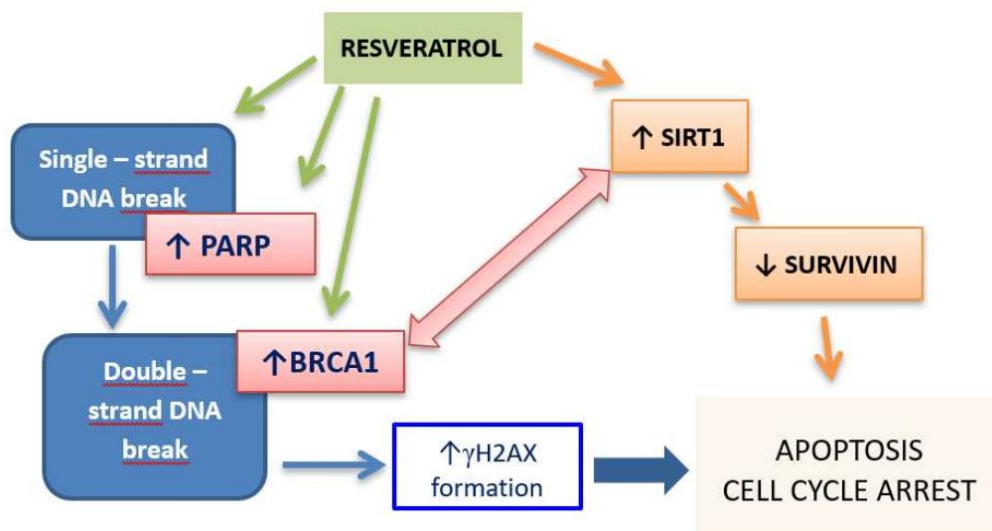


Rycina 3. Schematyczna prezentacja proponowanego mechanizmu działania celastrolu na komórki raka jelita grubego. (źródło: *Moreira H. i wsp. Cancers, 2022;14(6):1372*)

Działanie przeciwnowotworowe celastrolu koreluje z jego wpływem na ekspresję genu *SIRT1* w komórki przerzutowych i NKM. Wyniki innych badań wskazują, że nadekspresja genu *SIRT1* hamuje powstawanie raka, a w przypadku raka okrężnicy prowadzi do zahamowania

proliferaacji i indukcji apoptozy w wyniku deacetylacji β -kateniny i podjednostki RelA/p65 NF- κ B. Celastrol jest silnym inhibitorem NF- κ B. Można zatem zasugerować, że celastrol wpływa na szlaki β -kateniny i NF- κ B poprzez epigenetyczny mechanizm z udziałem SIRT1. Natomiast zatrzymanie komórek przerzutowych w fazie S cyklu komórkowego wydaje się być powiązane ze wzrostem ekspresji genu *SIRT2*, np. poprzez zaburzenie ekspresję onkogennego FOXM. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że nadekspresja *SIRT2* hamuje proliferację, migrację i inwazję raka jelita grubego. W NKM, celastrol nie wpływał na poziom genu *SIRT2* co może być związane z wyższym podstawowym poziomem tej sirtuiny w tych komórkach. Możliwe jest, że funkcje SIRT2 zależą od rodzaju tkanek, kontekstu komórkowego i czynników regulujących. Ponadto wykazałam, że celastrol zwiększa ekspresję genu *SIRT6* zarówno w komórkach przerzutowych i NKM, co koreluje z jego działaniem przeciwnowotworowym. Dane literaturowe wskazują, że ekspresja SIRT6 jest patologicznie obniżona w raku okrężnicy, co wiąże się ze złym rokowaniem i bardziej agresywną progresją choroby. Natomiast nadekspresja SIRT6 hamuje proliferację komórek, inwazję i migrację oraz zwiększa apoptozę komórek. Terapia celowana w SIRT6 za pomocą aktywatora małowcząsteczkowego jest zatem atrakcyjną strategią terapeutyczną dla CRC.

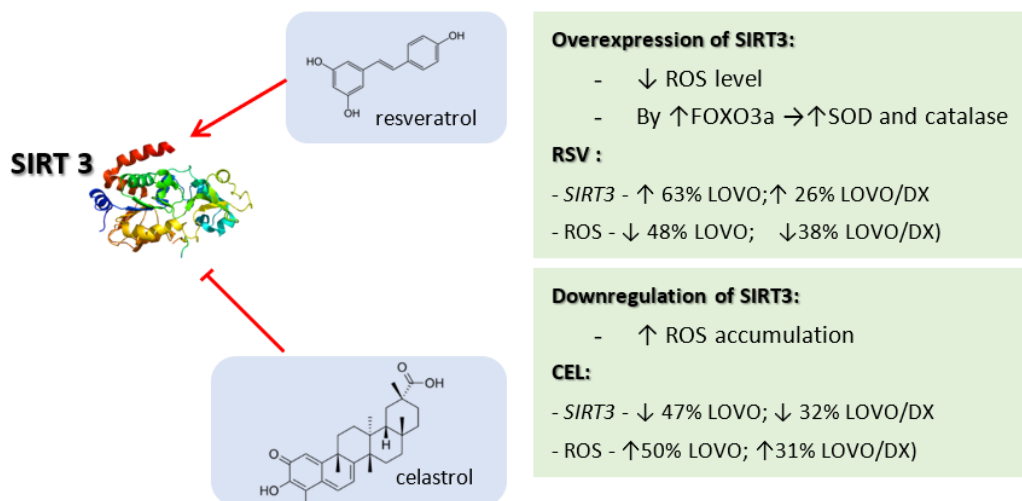
Resweratrol, w moich badaniach, silnie indukował apoptozę komórek przerzutowych i wykazywał jedynie marginalny wpływ na NKM. Ponadto nie powodował nekrotycznej śmierci komórek nowotworowych, prawdopodobnie ze względu na ochronne właściwości przeciwutleniające. Natomiast wykazywał działanie antyproliferacyjne, poprzez zatrzymanie progresji cyklu komórkowego w fazie S, zarówno na komórki przerzutowe, jak i NKM. Ponadto, resweratrol indukował DSB zarówno w komórkach przerzutowych jak i NKM raka jelita grubego, aczkolwiek efekt był silniejszy w komórkach przerzutowych, co koreluje z wysoką aktywnością proapoptotyczną w tych komórkach. Należy zaznaczyć, że resweratrol wykazuje silne działanie antyoksydacyjne i powoduje obniżenie wewnątrzkomórkowego poziomu RFT. Wskazuje to na niezależny od RFT mechanizm indukcji uszkodzeń DNA. Dodatkowo, wyniki moich badań sugerują różne mechanizmy działania resweratrolu w komórkach przerzutowych i NKM. W komórkach przerzutowych, resweratrol powodował nadekspresję BRCA1 i PARP1, co nie koreluje z jego silnym działaniem cytotoksycznym na te komórki. Jednakże wykazałam także, że resweratrol zwiększa ekspresję genu *SIRT1* w tych komórkach, a zgodnie z doniesieniami literaturowymi aktywacja SIRT1, zmieniająca acetylowanie H3, powiązana jest z nadekspresją BRCA1. Ponadto SIRT 1 negatywnie reguluje surwiwinę należącą do rodziny inhibitorów apoptozy (IAP). Nadekspresja surwiwiny w komórkach nowotworowych przyczynia się do ich odporności na bodźce proapoptotyczne i chemioterapeutyczne. Na podstawie tych danych zaproponowałam potencjalny mechanizm działania resweratrolu na komórki przerzutowe raka jelita grubego, ze współuczestnictwem epigenetycznych zmian indukowanych przez SIRT1 i przedstawiłam na rycinie 4.



Rycina 4. Schematyczna prezentacja proponowanego mechanizmu działania resweratrolu na komórki raka jelita grubego. (źródło: *Moreira H. i wsp. Cancers, 2022;14(6):1372*)

W NKM, resweratrol natomiast nie wpływał na poziom ekspresji genów *BRCA1*, *PARP1* i *SIRT1*, co koreluje ze słabym efektem proapoptotycznym i sugeruje inny mechanizm jego działania w tych komórkach. Również nieznacznie zwiększał ekspresję genu *SIRT2* w NKM, co podobnie jak w przypadku celastrolu może mieć związek z wyższym podstawowym poziomem tej sirtuiny w tych komórkach. W komórkach przerzutowego raka jelita grubego resweratrol zwiększał ekspresję genu *SIRT2* w korelacji z zatrzymaniem progresji cyklu komórkowego w fazie S. Ponadto wykazałam, że resweratrol znacząco podwyższa ekspresję genu *SIRT6*, co odpowiada za jego silniejsze właściwości przeciwnowotworowe w tych komórkach.

W pracy przeanalizowałam również wzajemną zależność między ekspresją genu *SIRT3* i poziomem RFT pod wpływem celastrolu i resweratrolu w komórkach raka okrężnicy (rycina 5). *SIRT3* jest ważną deacetylazą mitochondrialną odpowiedzialną za utrzymanie prawidłowej funkcji mitochondriów przez spadek potencjału błony mitochondrialnej, ograniczenie stresu oksydacyjnego i zmniejszenie produkcji RFT. Badania wykazały, że celastrol zmniejsza ekspresję genu *SIRT3* w komórkach przerzutowych i NKM. Można zatem zasugerować, że w prooksydacyjnej aktywności celastrolu pośredniczy epigenetyczny mechanizm obejmujący zależną od *SIRT3* regulację produkcji RFT. Resweratrol natomiast zwiększał ekspresję genu *SIRT3*, co koreluje ze zmniejszaniem wewnątrzkomórkowego poziomu RFT i zatem odpowiada za jego działanie przeciwutleniające.



Rycina 5. Związek pomiędzy ekspresją SIRT3 i poziomem RFT a wpływem celastrolu i resweratrolu w komórkach raka okrężnicy. (źródło: *Moreira H. i wsp. Cancers, 2022;14(6):1372*)

W prezentowanej pracy wykazałam, że modyfikacja epigenetyczna związana z genami sirtuin może być powiązana z niektórymi działaniami przeciwnowotworowymi celastrolu i resweratrolu. Celastrol wykazuje silniejsze działanie przeciwnowotworowe, celowane w NKM na poziomie molekularnym i komórkowym. Można go zatem zaproponować jako potencjalny terapeutyk w zwalczaniu agresywnych rodzajów raka jelita grubego. Natomiast resweratrol ma znacznie większy wpływ na komórki raka okrężnicy, wyrażające standardową wrażliwość na leki przeciwnowotworowe niż na NKM, co sugeruje jego potencjalne zastosowanie u pacjentów z łagodniejszymi postaciami choroby.

H-4. Combination of irinotecan and melatonin with natural compounds – wogonin and celastrol for colon cancer treatment.

W standardowej terapii przerzutowego raka jelita grubego stosowane są trzy cytostatyki: irynotekan, oksaliplatyna i fluoropirymidyna, w połączeniu dwóch lub, rzadziej, trzech z nich. Polichemioterapia, zwykle bardzo intensywna, wiąże się z dużą ogólną toksycznością. Może powodować mielosupresję, ciężką neutropenię, niedokrwistość, nudności, wymioty i biegunkę, które wpływają na komfort życia pacjenta i mogą wymagać przerwania terapii. Ponadto leki cytotoksyczne zazwyczaj zaburzają jedną ścieżkę przeżyciową komórek nowotworowych i eliminują szybko proliferujące komórki, nie wpływając na NKM. Obiecującym podejściem terapeutycznym jest połączenie naturalnych substancji ze standardowymi lekami cytostatycznymi w tzw. terapii skojarzonej, aby wzmocnić ich działanie cytotoksyczne na komórki nowotworowe i chronić zdrowe komórki przed agresywną chemioterapią. Substancje pochodzenia roślinnego od wieków stosowane są w tradycyjnej medycynie chińskiej i indyjskiej. Uważa się, że mogą przynieść pozytywne efekty w terapii nowotworów przez zmniejszenie cytotoksyczności oraz synergiczne lub addytywne działanie suplementowanego związku.

Irynotekan jest inhibitorem topoizomerazy I, która bierze udział w replikacji DNA. Wykazano, że tempo metabolizmu i farmakokinetyka tego leku różnią się u poszczególnych osób, co skutkuje różną odpowiedzią pacjentów na leczenie. Wydaje się zatem, że połączenie substancji pochodzenia naturalnego z irynotekaniem mogłoby mieć potencjalnie korzystny wpływ na terapię raka jelita grubego. Celem prezentowanej pracy było zbadanie efektu przeciwnowotworowego połączenia irynotekanu z melatoniną, wogoniną lub celastolem w terapii skojarzonej na komórki przerzutowe i NKM w raku jelita grubego. Melatonina jest hormonem wytwarzanym głównie w szyszynce, ale także w innych miejscach organizmu człowieka, w tym w przewodzie pokarmowym. Reguluje ona rytm okołodobowy, ma udowodnione działanie immunomodulujące, właściwości przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. Melatonina działa ochronnie na zdrowe komórki podczas leczenia onkologicznego. Raportowane wyniki innych badań wskazują na synergiczne działanie melatoniny i leków przeciwnowotworowych. Wogonina i celastrol są przedstawicielami naturalnych związków wywodzących się z tradycyjnej medycyny chińskiej. Zgodnie z danymi literaturowymi i badaniami własnymi wybrane substancje wykazują właściwości immunomodulujące oraz potencjał przeciwnowotworowy.

W badaniach prezentowanych w tej pracy, melatonina stosowana w monoterapii efektywnie eliminowała zarówno komórki przerzutowe, jak i NKM raka jelita grubego. Ponadto w komórkach przerzutowych melatonina indukowała apoptozę i hamowała migrację komórek nie powodując nekrotycznej śmierci komórki. W NKM melatonina indukowała słabe efekty proapoptotyczne i nekrotyczne, natomiast nie wpływała na migrację komórek. Terapia skojarzona melatoniny z irynotekaniem indukowała wzrost odsetka nekrozy w komórkach przerzutowych. Nie zaobserwowałam jednak skuteczności tej kombinacji w odniesieniu do hamowania migracji komórek i indukcji apoptozy. W NKM, połączenie melatoniny z irynotekaniem również nie hamowało migracji, nie poprawiało istotnie cytotoksycznych i proapoptotycznych efektów irynotekanu.

Wogonina wykazuje silne działanie przeciwnowotworowe, głównie na komórki przerzutowe. Odnotowałam zwiększenie odsetka komórek apoptotycznych, bez zmiany nekrotycznych. Ponadto wogonina istotnie hamowała migrację tych komórek. Natomiast w NKM, wogonina nieznacznie zwiększała odsetek komórek apoptotycznych i nekrotycznych, ale nie miała wpływu na migrację komórek. Warto jednak zaznaczyć, że w moich wcześniejszych badaniach (nie będących przedmiotem postępowania habilitacyjnego) wogonina zmniejszała odsetek komórek SP, zarówno w populacji komórek przerzutowych, jak i NKM. Sugeruje to potencjalną zdolność wogoniny do eliminacji NKM. Połączenie wogoniny z irynotekaniem poprawia skuteczność przeciwnowotworową irynotekanu, zarówno w komórkach przerzutowych, jak i NKM. Komórki przerzutowe były jednak bardziej podatne na to połączenie, co koreluje z ich lekowrażliwym fenotypem. Dla tego modelu komórkowego odnotowałam większą cytotoksyczność, wzrost odsetka komórek apoptotycznych oraz zmniejszenie migracji w porównaniu do efektu indukowanego przez irynotekan w monoterapii.

W NKM połączenie to skutkowało wzrostem apoptotycznej śmierci komórki i osłabieniem zdolności komórek do migracji.

Celastrol indukuje apoptozę w komórkach przerzutowych i NKM. Jak wykazałam w innej pracy, proapoptotyczne działanie celastrołu jest związane z generowaniem wysokiego poziomu RFT w cytozolu i mitochondriach. W prezentowanych badaniach zastosowałam nieco niższe stężenie celastrołu oraz wydłużyłam inkubację komórek do 48-72 godzin. Połączenie celastrołu z irynotekaniem zwiększyło liczbę nekrotycznych komórek w komórkach przerzutowych i NKM. Ponadto połączenie 1,25 μ M celastrołu i 20 μ M irinotekanu znacznie zwiększyło odsetek apoptozy NKM, ale nie komórek przerzutowych. Nie zaobserwowałam jednak wpływu tego połączenia na wzrost zahamowania migracji komórek w porównaniu do irynotekanu, co wynikało głównie z bardzo silnego działania samego irynotekanu. Natomiast w odniesieniu do samego celastrołu, efekt zahamowania migracji był istotnie silniejszy.

Ponadto, w pracy oceniłam, czy zastosowanie połączenia melatoniny z wogoniną lub celastrolem mogłoby wykazywać skuteczniejsze działanie przeciwnowotworowe niż pojedyncze związki. W zastosowanych modelach komórkowych, oba połączenia indukowały podobne efekty. Odnotowałam istotne obniżenie żywotności oraz znaczące zahamowanie migracji zarówno komórek przerzutowych, jak i NKM, w porównaniu z samą melatoniną. Nie odnotowałam natomiast, istotnego zwiększenia działania proapoptotycznego, dla obu badanych połączeń.

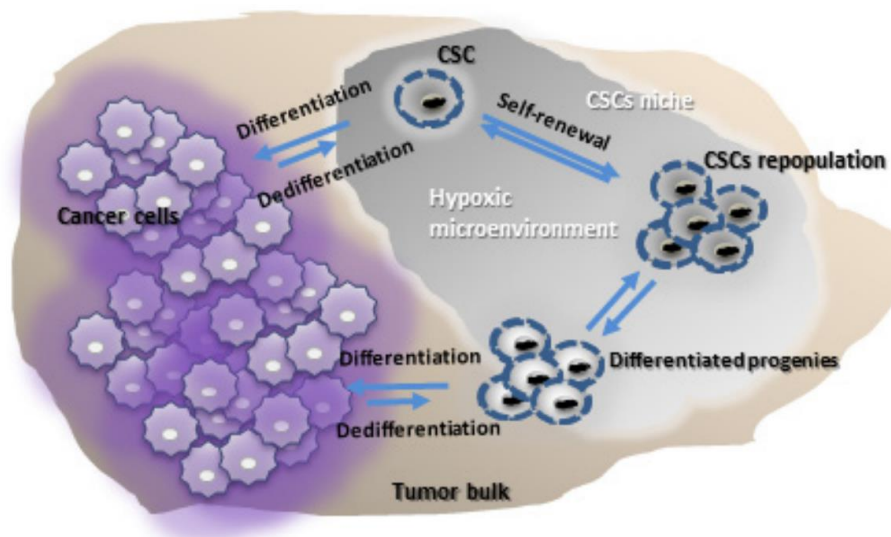
Podsumowanie

Wszystkie badane związki i ich połączenia mogą skutecznie eliminować zarówno komórki przerzutowe, jak i NKM. Związki te wykazują jednak różny wpływ na żywotność (mierzoną testem MTT), apoptozę, nekrozę i migrację komórek nowotworowych. Wogonina i jej połączenia z irynotekaniem lub melatoniną wykazują lepszą skuteczność w obniżeniu żywotności, indukcji apoptozy i hamowaniu migracji komórek przerzutowych raka jelita grubego. Można zaproponować wogoninę jako dobry, dodatkowy, naturalny środek do leczenia przerzutowego raka jelita grubego, jednocześnie wyróżniający się bezpieczeństwem dla zdrowych komórek. Połączenie celastrołu z irynotekaniem, natomiast, wydaje się być najskuteczniejszą strategią w eliminacji NKM, głównie poprzez działanie cytotoksyczne i proapoptotyczne. W przypadku bardzo agresywnego raka jelita grubego ta kombinacja może być obiecująco skuteczna. Ponadto, zastosowanie połączenia melatoniny z wogoniną lub celastrolem wykazuje skuteczniejsze działanie przeciwnowotworowe niż pojedyncze związki i mogą być wykorzystane do adjuwantowej w terapii przerzutowego raka jelita grubego.

H-5. Cancer stem cells - current knowledge and targeting with natural compounds

W prezentowanej pracy opisałam aktualny stan wiedzy dotyczący nowotworowych komórek macierzystych (NKM) oraz potencjału związków naturalnie występujących w przyrodzie do eliminacji tych komórek. Inspiracją do powstania tej pracy było moje zainteresowanie NKM oraz wyniki pierwszych badań oceniające właściwości przeciwnowotworowe oraz zdolność do niszczenia NKM przez związki: bajkaleiny i wogoniny (Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015;48(3):467-472), ekstraktów polifenolowych z czystka i granatu (Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017;74(2):688-698) oraz celastrołu (Oncotarget, 2018;9(30):21211-21223).

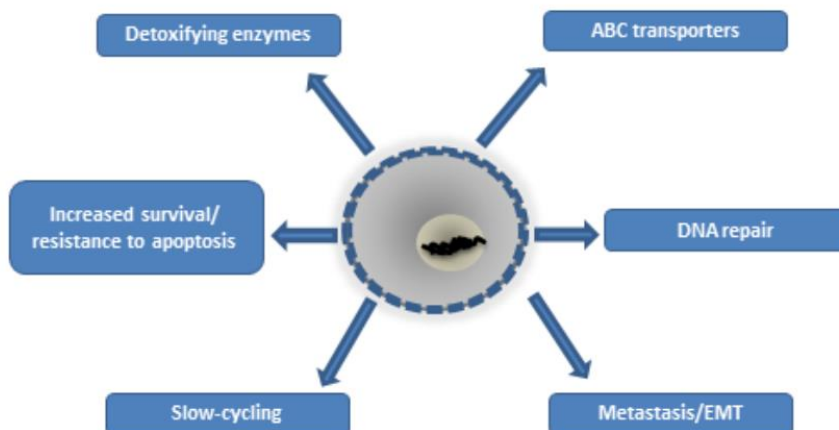
NKM, po raz pierwszy zostały zidentyfikowane *in vivo* w nowotworach hematologicznych. W kolejnych latach udokumentowano ich obecność również w guzach litych oraz *in vitro* w hodowlach ciągłych ludzkich komórek nowotworowych. Początkowo postulowano, że NKM stanowią niewielki procent, zwykle mniej niż 5%, spoczynkowych, niezróżnicowanych komórek w masie nowotworu. Wyniki nowszych badań sugerują jednak, że w niektórych typach nowotworów aż 25% komórek nowotworowych wykazuje cechy charakterystyczne dla komórek macierzystych. Obowiązujący aktualnie dynamiczny model NKM zakłada, że NKM reprezentują stan funkcjonalny, w którym się znajdują, a nie typ komórek, oraz, że podlegają stałej dwukierunkowej konwersji polegającej na różnicowaniu się w kierunku normalnych komórek nowotworowych (nie-NKM) i odróżnicowywaniu się nie-NKM do NKM. Oznacza to, że NKM mają zdolność do przekształcania się w normalne, zróżnicowane komórki nowotworowe, które z kolei mogą, poprzez odróżnicowanie i ponowne nabycie zdolności do samoodnawiania się, przekształcić się w NKM (rycina 6). Te wzajemne konwersje między NKM i nie-NKM mogą wyjaśniać różnice w odsetkach NKM w różnych typach nowotworów i w różnych stadiach choroby.



Rycina 6. Schematyczna ilustracja modelu nowotworowych komórek macierzystych (NKM): samoodnawianie, generowanie zróżnicowanych komórek progenitorowych i tworzenie nowotworów. (Źródło: Helena Moreira i wsp. *Postępy Biologii Komórki*, 2019;46(1):43-62)

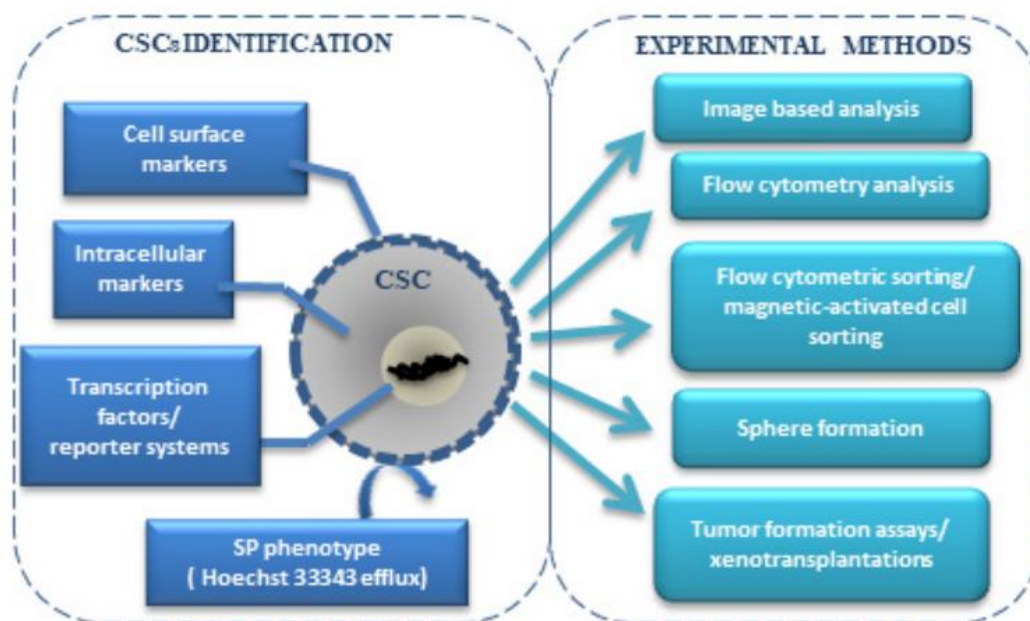
W pracy przedstawiłam najnowsze dane z zakresu biologii i regulacji NKM, w tym regulujący wpływ mikrośrodowiska guza nowotworowego (tzw. niszy, w której rezydują NKM) na heterogenność NKM i komórek nowotworowych. NKM stale dostosowują się do swojego mikrośrodowiska. W guzach litych skład macierzy zewnątrzkomórkowej oraz niedotlenienie są istotnymi elementami niszy NKM. Szczególnie niedotlenienie odgrywa istotną rolę w utrzymaniu funkcji NKM i ich zdolności do inwazji i oporności na terapię. Ponadto, niedotlenienie pośredniczy w przebudowie architektury niszy NKM poprzez aktywację proteaz macierzy pozakomórkowej (np. MT1-MMP, MMP-2) oraz indukuje tzw. przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT). Proces EMT jest związany z utratą fenotypu nabłonkowego komórki i nabyciem fenotypu mezenchymalnego, co prowadzi do nabywania zdolności do migracji i przyczynia się do przerzutowania. Zatem EMT odgrywa kluczową rolę w tworzeniu przerzutów i nawrotach nowotworów, które są ściśle powiązane z obecnością i funkcją NKM.

Cechą wyróżniającą i charakterystyczną NKM jest ich doskonała odporność na chemo- i radioterapię. Oporność komórek nowotworowych zwykle rozwija się po długotrwałej ekspozycji na chemioterapię i wiąże się ze wzbogaceniem guza nowotworowego w NKM. Uważa się, że leczenie przeciwnowotworowe indukuje przeprogramowanie i/lub odróżnicowanie normalnych komórek nowotworowych do komórek nowotworowych o wyraźnych cechach komórek macierzystych lub do komórek progenitorowych, które są w stanie przeżyć stosowaną terapię. NKM wykorzystują różne mechanizmy zapewniające im przetrwanie, w tym nadekspresja białek transportowych z nadrodziny ABC (ATP-binding cassette) (np. P-gp, MRD1, BCRP), zmniejszone wchłanianie leku i transport, nasilony metabolizm leków lub inaktywacja przez enzymy, wadliwe szlaki apoptotyczne (rycina 7).



Rycina 7. Schematyczne przedstawienie różnych mechanizmów związanych z lekoopornością nowotworowych komórek macierzystych. (Źródło: *Moreira H. i wsp. Postępy Biologii Komórki, 2019;46(1):43-62*)

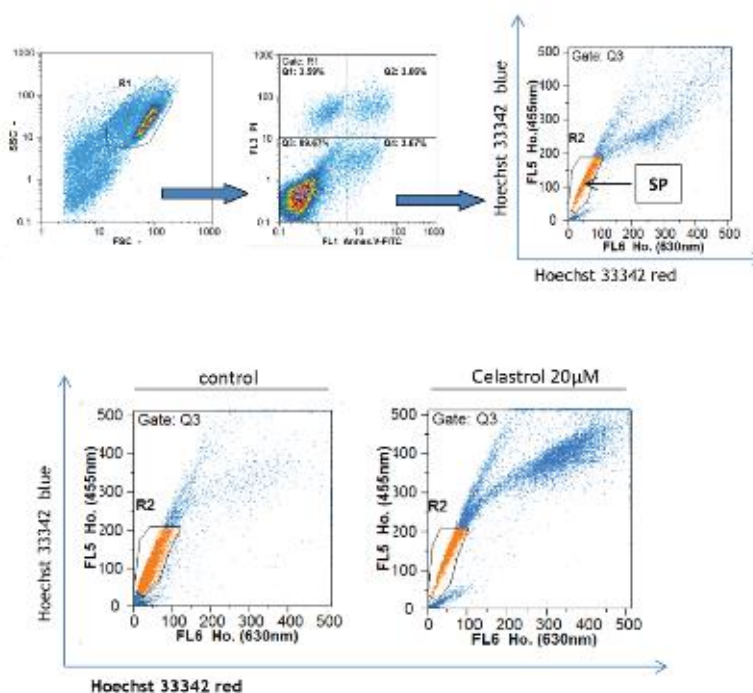
Identyfikacja NKM opiera się na unikalnych cechach biologicznych i molekularnych związanych z ich fenotypem, w tym na ekspresji specyficznych markerów powierzchniowych lub cytoplazmatycznych, ekspresji genów „macierzystości”, oraz nadekspresji transporterów kasety ABC. Ponadto do oceny wykorzystywane są testy funkcjonalne *in vitro* oraz ksenotransplantacje *in vivo*. Powyższe sposoby identyfikacji oraz powszechne metody stosowane obecnie w badaniach nad NKM zostały również omówione w tej pracy (rycina 8).



Rycina 8. Diagram przedstawiający markery używane do identyfikacji NKM i metody eksperymentalne stosowane do analizy i izolacji NKM. CSC – ang. Cancer Stem Cell (Źródło: *Moreira H. i wsp. Postępy Biologii Komórki, 2019;46(1):43-62*)

Niektóre z opisanych metod zostały wykorzystywane w moich pracach badawczych składających się na osiągnięcie naukowe będące podstawą postępowania habilitacyjnego. Należą do nich identyfikacja NKM w oparciu o markery powierzchniowe CD44 i CD133, ocena aktywności cytoplazmatycznej ALDH1, analiza metodą cytometrii przepływowej tzw. populacji bocznej SP (ang. Side Population) (metoda zaprezentowana na rycinie 9) oraz ocena ekspresji i funkcjonalna białek transportowych (P-gp, BCRP-1).

Współcześnie, ogromną rolę w braku skuteczności stosowanych w leczeniu onkologicznym strategii terapeutycznych przypisuje się NKM. Podkreśla się przy tym olbrzymi potencjał niektórych naturalnych związków do hamowania funkcji NKM, uszkodzenia i eliminacji tych komórek, przywracania wrażliwości na leki cytostatyczne, a także zdolność do poprawiania skuteczności aktualnych środków terapeutycznych. Uważa się, że fitochemikalia mają uprzywilejowane struktury chemiczne które umożliwiają im interakcję z różnymi białkami strukturalnymi i sygnalizacyjnymi komórki, prowadząc do zakłócania wielu szlaków komórkowych. Te właściwości czynią je doskonałymi narzędziami do zwalczania NKM, które wykorzystują wiele różnych mechanizmów przetrwania.



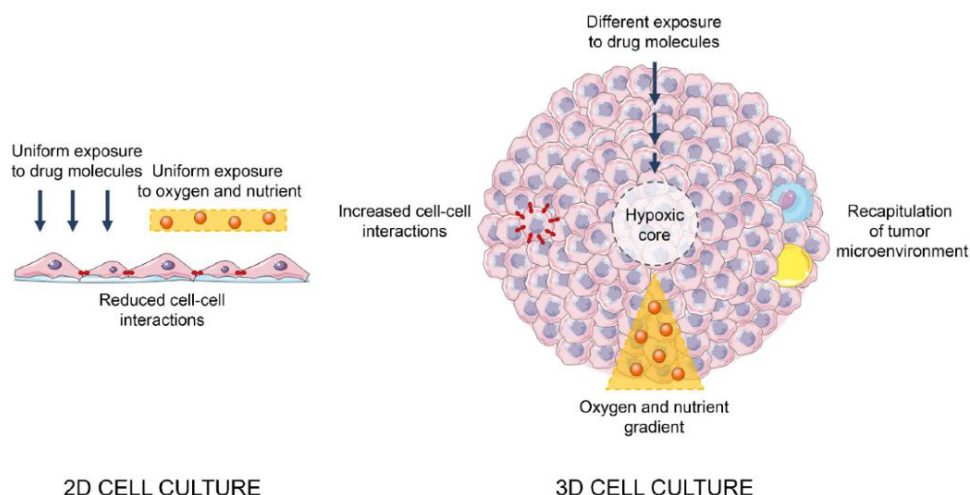
Rycina 9. Identyfikacja tzw. populacji bocznej SP (ang. Side Population) metodą cytometrii przepływowej. (Źródło: *Moreira H. i wsp. Postępy Biologii Komórki, 2019;46(1):43-62*)

W pracy omówiłam główne szlaki molekularne w NKM, w które ingerują związki naturalne przyczyniając się do ich eliminacji z masy guza (szlak apoptotyczny, szlaki sygnałowe i mechanizmy regulujące samoodnawianie NKM oraz mechanizmy oporności wielolekowej). Fitochemikalia wykazujące potencjał do bezpośredniego oddziaływania na mechanizmy

molekularne przeżyciowe NKM i do których odnoszę się w prezentowanej pracy obejmują celastrol, tryptolide, resveratrol, wogonina, baikaleina, kurkumina, sulforafan, polifenole zielonej herbaty (EGCG, galusan epigallokatechiny), kwercetyna, kwas retinowy, witamina D3, salinomycyna. Warto podkreślić, że niektóre fitochemikalia mogą również nasilać aktywność przeciwnowotworową środków chemioterapeutycznych, a tym samym poprawiać skuteczność konwencjonalnej terapii. Ponadto, jako produkty naturalnie występujące w przyrodzie, fitochemikalia wykazują szeroki profil bezpieczeństwa i są na ogół dobrze tolerowane, co czyni je dobrymi kandydatami do długoterminowej profilaktyki nowotworowej. Wydaje się przy tym, że ze względu na złożoność biologii nowotworów, połączenie nowych terapii ukierunkowanych na NKM (w tym fitochemikaliów) z konwencjonalnymi radio- i chemioterapią może poprawić skuteczność terapeutyczną w leczeniu nowotworów.

H-6. Three dimensional in vitro culture systems in anticancer drug discovery targeted on cancer stem cells

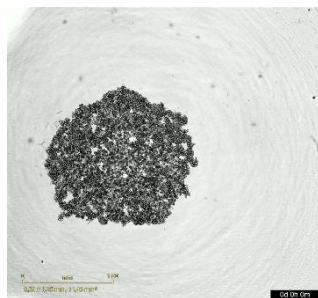
Prezentowana praca pogładowa powstała jako kontynuacja moich zainteresowań i badań nad NKM. Inspiracją do powstania tej pracy była współpraca z francuską grupą badawczą pod kierunkiem Christian D. Muller, DSc, (IPHC, UMR 7178, University of Strasbourg, Illkirch, Francja), zajmującej m.in. się stworzeniem i walidacją nowej technologii hodowli 3D tzw. „pearl drops”. Hodowle komórkowe stanowią ważny element badań *in vitro* właściwości nowych związków. Zastosowanie hodowli komórkowych umożliwia przeprowadzenie całych cykli doświadczeń z użyciem tego samego modelu komórkowego. Ponadto, hodowle komórkowe mają jeszcze dodatkową zaletę, gdyż pozwalają ograniczyć do niezbędnego minimum udział zwierząt w badaniach nad potencjalnie nowymi lekami. Najpowszechniej stosowane są dwuwymiarowe (2D) hodowle komórek. Są to proste modele, ale nie odzwierciedlają w pełni warunków panujących *in vivo*. Obecnie, zalecane jest uzupełnienie badań z wykorzystaniem hodowli 2D wynikami uzyskanymi w hodowlach 3D, m.in. w zakresie oceny cytotoksyczności. Ma to znaczenie szczególnie w odniesieniu do poszukiwania związków zdolnych do eliminacji NKM. W warunkach *in vivo*, NKM rezydują w niekorzystnych warunkach mikrośrodowiskowych, tzn. w głębszych warstwach masy guza, do których dostęp tlenu, składników odżywczych, ale też cytostatyków jest utrudniony. W centralnej części struktury sferoidowej panują podobne warunki jak w masie guza. Komórki hodowane w strukturze 3D cechują się większą żywotnością, odpornością na działanie cytostatyków i wykazują większą ekspresję cech typowych dla komórek macierzystych. Dlatego uważa się, że hodowle 3D są wzbogacone w NKM. W badaniach poszukujących nowe związki przeciwnowotworowe korzyści hodowli 3D przeważają nad hodowlami 2D, np. umożliwiają dokładniejsze określenie efektywnych stężeń badanych substancji, bardziej zbliżone do dawek które będą mogły mieć zastosowanie *in vivo*. Ponadto, hodowle 3D lepiej odzwierciedlają środowisko guza nowotworowego stanowiąc dobry model komórkowy do badań nad nowotworami (Ryc.10).



Rycina 10. Porównanie hodowli 2D i 3D. (Źródło: Fontana F. i wsp. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21: 6806).

Istnieje wiele technik prowadzenia hodowli 3D, jednak niemal każda z nich nadal wymaga pewnych ulepszeń i modyfikacji, m.in. w celu zwiększenia wydajności hodowli a także obniżenia kosztów jej prowadzenia. W omawianej pracy zostały zebrane różne systemy hodowli 3D z oceną ich zalet i wad oraz z uwzględnieniem ich zastosowania do badań nad aktywnością związków przeciwnowotworowych eliminujących NKM. Badania z wykorzystaniem NKM, ze względu na ich zmienność funkcjonalną wynikającą z biologii tych komórek, wymagają dobrze wybranego modelu komórkowego i hodowli komórkowej, odpowiednich metod identyfikacji i izolacji oraz doświadczonego zespołu badawczego. W wielu badaniach identyfikacja NKM oparta jest na ocenie ekspresji specyficznych markerów powierzchniowych. Analiza markerów powinna być jednak uzupełniona o inne metody identyfikacji NKM np. izolację NKM, ocenę ekspresji genów „macierzystości” NKM, analizę funkcjonalną NKM.

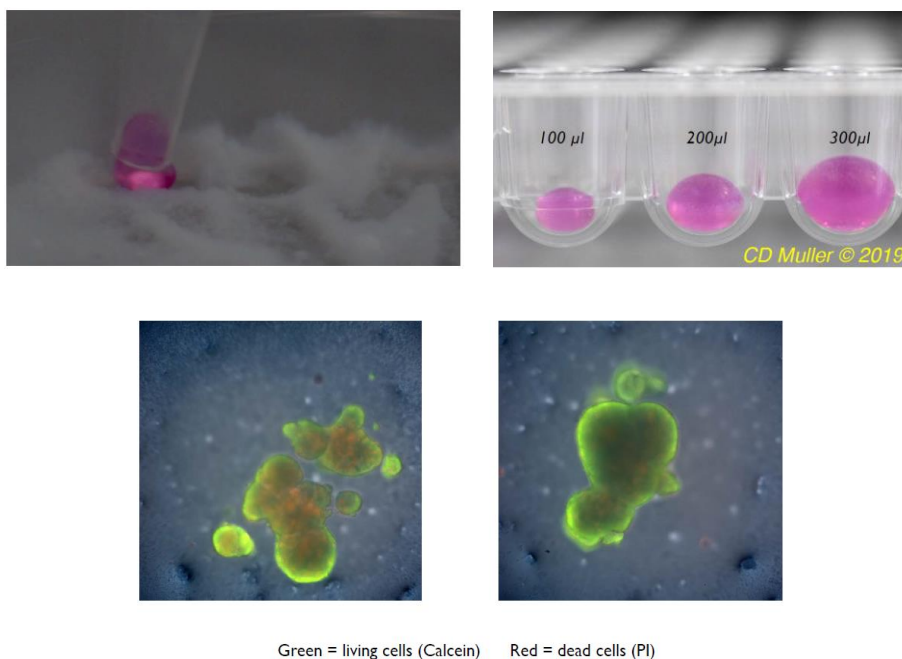
W moich pracach badawczych zastosowałam technikę hodowli sferoidowej na płytkach o niskim stopniu przylegania tzw. ULA plates (ang. ultra low attachment plates). Płytki te mają okrągłodenne dołki, a ich powierzchnia pokryta jest polimerową powłoką uniemożliwiającą adhezję komórek do ścianek. Taka technologia sprzyja agregacji komórek i tworzeniu struktur sferoidowych. Sferoidy są samoorganizującymi się hodowlami swobodnie pływającymi w systematycznie wymienianej pożywce odpowiedniej dla danego typu komórek (rycina 11).



Rycina 11. Komórki LOVO w hodowli sferoidowej na płytce ULA. (Źródło: zdjęcie własne)

Jedną z głównych zalet tej technologii jest brak „rusztowania” (scaffoldów), które mogłyby oddziaływać z komórkami i zmieniać ich charakterystykę oraz zdolność do wzrostu. Metoda jest odpowiednia szczególnie do badań przesiewowych, gdyż daje możliwość zobrazowania w czasie rzeczywistym „wzrostu” sferoidów w cytometrii obrazowej oraz określenia żywych i martwych komórek bez konieczności niszczenia struktury sferoidu.

W prezentowanej pracy została również opisana technika „pearl drops” zwana też „liquid marbles” (rycina 12). Nie jest to jeszcze metoda powszechnie stosowana w laboratoriach ze względu na trudności techniczne i pracochłonność. W swoich pracach badawczych prowadzonych we współpracy z grupą DSc Christiana D. Mullera, również wykorzystywałam tę technikę do oceny aktywności badanych związków. Metoda do niedawna była dopracowywana i walidowana przez zespół DSc Christian D. Muller, stąd nie ukazały się jeszcze prace z wykorzystaniem tej technologii.



Rycina 12. Technologia 3D „pearl drops”. (Źródło: zdjęcia własne udostępnione dzięki uprzejmości DSc-Christian D. Muller)

Poza omówieniem systemów hodowli 3D, w pracy opisałam złożoność biologii NKM. Wyodrębniłam kilka podrozdziałów obejmujących następujące zagadnienia: aktualne hipotezy dotyczące powstawania NKM i ich charakterystykę, plastyczność NKM, zdolności NKM do tworzenia przerzutów, oporność NKM na chemioterapię i ich zdolność do indukowania nawrotów nowotworów. Ponadto przedstawiłam różne strategie przeciwnowotworowe, aktualnie badane w ośrodkach naukowych, pozwalające eliminować NKM z masy guza. Strategie te zwykle ingerują w mechanizmy komórkowe i/lub mikrośrodowiskowe zaangażowane w normalne funkcjonowanie NKM. Niewątpliwie, hodowle 3D stanowią wartościowy model komórkowy do dalszego poznawania biologii tych komórek, ale także do badań przedklinicznych nowych potencjalnych leków celowanych w NKM. Chociaż, pozostaje konieczne dalsze rozwijanie i ulepszanie obecnych technik, w celu ograniczenia czasochłonności, pracochłonności i kosztów, tak aby hodowle 3D mogły być łatwiej dostępne dla każdego laboratorium naukowego zajmującego się tą tematyką.

Podsumowanie wyników badań stanowiących podstawę osiągnięcia habilitacyjnego oraz potencjalne ich wykorzystanie

W zaprezentowanych badaniach stanowiących podstawę osiągnięcia habilitacyjnego dokonałam oceny potencjału terapeutycznego trzech wybranych związków naturalnych, celastrolu, resweratrolu i wogoniny na komórki przerzutowe raka jelita grubego i nowotworowe komórki macierzyste (NKM). Przeprowadziłam analizę mechanizmów działania przeciwnowotworowego badanych związków w tych komórkach w monoterapii oraz w zaproponowanej przeze mnie terapii skojarzonej opartej na jednoczesnym podawaniu irynotekanu (standardowego cytostatyku) z melatoniny lub wogoniną lub celastrolem. Podjęta przeze mnie tematyka badawcza była ukierunkowana na zwiększenie możliwości terapeutycznych przerzutowej oraz agresywnej, lekoopornej postaci raka jelita grubego, z wyraźnym naciskiem na zwiększenie skuteczności eliminacji NKM.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że celastrol posiada silne właściwości chemoprewencyjne i chemouwrażliwiające na lekooporne komórki raka jelita grubego oraz wywiera negatywny wpływ na niektóre cechy funkcjonalne NKM, przyczyniając się do ich eliminacji. Główny mechanizm działania celastrolu polega na generowaniu reaktywnych form tlenowych (RFT) prowadzących do powstawania uszkodzeń DNA, zahamowania proliferacji i indukcji apoptotycznej śmierci komórki. Należy podkreślić, że NKM reagują silniej na prooksydacyjne działanie celastrolu niż komórki przerzutowe raka jelita grubego, co wskazuje na istotny potencjał tego związku do skutecznego niszczenia NKM. Ponadto zaproponowana strategia połączenia celastrolu z irynotekaniem w tzw. terapii skojarzonej, wykazuje zwiększoną skuteczność w porównaniu do samego irynotekanu, głównie w komórkach NKM. Co istotne, połączenie tych dwóch związków zwiększa działanie cytotoksyczne i proapoptotyczne irynotekanu. Uzyskane wyniki wskazują, że równoczesne podawanie celastrolu z irynotekaniem jest obiecującą potencjalną strategią terapeutyczną celowaną w NKM w przypadku bardzo

agresywnego raka jelita grubego, opornego na leczenie. Zaproponowane inne nietypowe połączenie, celastrołu z melatoniną, również wykazuje skuteczniejsze działanie przeciwnowotworowe niż zastosowanie pojedynczych związków, i ta strategia może być także wykorzystana w adjuwantowej terapii przerzutowego raka jelita grubego.

Resweratrol i wogonina, natomiast, wykazują większą skuteczność w przerzutowych komórkach raka jelita grubego, ale jedynie marginalny wpływ na NKM. Działanie resweratrolu na komórki nowotworowe polega m.in. na indukcji apoptozy, zahamowaniu proliferacji poprzez zatrzymanie progresji cyklu komórkowego w fazie S, indukcji uszkodzeń DNA. Resweratrol wykazuje działanie antyoksydacyjne, powodując obniżenie wewnątrzkomórkowego poziomu RFT. Wskazuje to na niezależny od RFT mechanizm działania genotoksycznego. Wogonina, w komórkach przerzutowych, zwiększa odsetek komórek apoptotycznych, nie indukując zmiany nekrotycznych, a także istotnie hamuje migrację tych komórek. Połączenie wogoniny z irynotekanem poprawia skuteczność przeciwnowotworową irynotekanu, zarówno w komórkach przerzutowych, jak i NKM. Zastosowanie tego połączenia powoduje znacznie lepszy efekty cytotoksyczny, wzrost odsetka komórek apoptotycznych oraz zmniejszenie migracji w porównaniu do efektu działania samego irynotekanu. Łączne zastosowanie melatoniny z wogoniną skutkuje istotnym obniżeniem żywotności oraz znaczącym zahamowaniem migracji zarówno komórek przerzutowych, jak i NKM.

Podsumowując, celastrol wykazuje silne działanie przeciwnowotworowe na NKM na poziomie molekularnym i komórkowym. Można go zatem zaproponować jako potencjalny terapeutyk celowany w NKM do zastosowania klinicznego w zwalczaniu agresywnych, opornych na konwencjonalną terapię, postaci raka jelita grubego. Resweratrol i wogonina wykazują znacznie większy wpływ na komórki przerzutowe raka jelita grubego o standardowej wrażliwości na cytostatyki, co sugeruje ich potencjalne zastosowanie u pacjentów z łagodniejszymi postaciami choroby. Ponadto, badane związki mogą znaleźć zastosowanie zarówno w adjuwantowej terapii, jak również być wykorzystane w terapii skojarzonej z irynotekanem. Uzyskane wyniki są mocno obiecujące i mogą mieć znaczenie kliniczne w leczeniu raka jelita grubego.

W świetle obecnego stanu wiedzy, wyniki przedstawionych badań przyczyniają się do zrozumienia działania wybranych związków na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego. W dostępnej literaturze nie znalazłam badań oceniających efektywność połączenia tych związków z irynotekanem, co czyni moje badania nowatorskimi. Zastosowanie ich w połączeniu z innymi chemioterapeutykami ma szansę wpłynąć na poprawę skuteczności stosowanej terapii i poprawić komfort życia pacjenta.

Literatura

1. Baidoun F, Elshiwly K, Elkeraie Y, et al. Colorectal cancer epidemiology: Recent trends and impact on outcomes. *Curr Drug Targets*. 2020;22(9):998-1009. doi: 10.2174/1389450121999201117115717
2. Xi Y, Xu P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Transl Oncol*. 2021;14(10):101174. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101174
3. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet*. 2019;394(10207):1467-1480. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0
4. Vogel JD, Felder SI, Bhama AR, et al. The American Society of Colon and Rectal Surgeons Clinical practice guidelines for the management of colon cancer. *Dis Colon Rectum*. 2022;65(2):148-177. doi: 10.1097/DCR.0000000000002323
5. Morris VK, Kennedy EB, Baxter NN, et al. Treatment of metastatic colorectal cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2023;41(3):678-700. doi: 10.1200/JCO.22.01690
6. Chakedis J, Schmidt CR. Surgical treatment of metastatic colorectal cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2018;27(2):377-399. doi: 10.1016/j.soc.2017.11.010
7. Hammond WA, Swaika A, Mody K. Pharmacologic resistance in colorectal cancer: a review. *Ther Adv Med Oncol*. 2016; 8: 57–84. doi: 10.1177/1758834015614530
8. Longley DB, Johnston PG. Molecular mechanisms of drug resistance. *J Pathol*. 2005; 205: 275–92. doi: 10.1002/path.1706
9. Hervieu C, Christou N, Battu S, Mathonnet M. The role of cancer stem cells in colorectal cancer: from the basics to novel clinical trials. *Cancers* 2021;13(5):1092. doi: 10.3390/cancers13051092.
10. Alisi A, Cho WC, Locatelli F, Fruci D. Multidrug resistance and cancer stem cells in neuroblastoma and hepatoblastoma. *Int J Mol Sci*. 2013;14:24706–25. doi: 10.3390/ijms141224706
11. Moitra K, Lou H, Dean M. Multidrug efflux pumps and cancer stem cells: Insights into multidrug resistance and therapeutic development. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89:491–502. doi: 10.1038/clpt.2011.14
12. Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel DJ, Medema JP. The developing cancer stem-cell model: Clinical challenges and opportunities. *Lancet Oncol*. 2012;13:e83–9. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70257-1
13. Mijatović S, Bramanti A, Nicoletti F, et al. Naturally occurring compounds in differentiation based therapy of cancer. *Biotechnol Adv*. 2018;36(6):1622-1632. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.04.001
14. Lin SR, Chang CH, Hsu CF, et al. Natural compounds as potential adjuvants to cancer therapy: preclinical evidence. *Br J Pharmacol* 2020;177(6):1409-1423. doi: 10.1111/bph.14816
15. Kubczak M, Szustka A, Rogalińska M. Molecular targets of natural compounds with anti-cancer properties. *Int J Mol Sci* 2021;22(24):13659. doi: 10.3390/ijms222413659
16. Efridlender M, Ekapulnik Y, Ekoltai H. Plant derived substances with anti-cancer activity: from folklore to practice. *Front. Plant Sci*. 2015,6:799. doi: 10.3389/fpls.2015.00799

17. Dandawate PR, Subramaniam D, Jensen RA, Anant S. Targeting cancer stem cells and signaling pathways by phytochemicals: novel approach for breast cancer therapy. *Semin Cancer Biol.* 2016;40-41:192-208. doi: 10.1016/j.semcancer.2016.09.001
18. Shi J, Li J, Xu Z, Chen L, et al. Celastrol: A review of useful strategies overcoming its limitation in anticancer application. *Front Pharmacol.* 2020;11:558741. doi: 10.3389/fphar.2020.558741
19. Allison AC, Cacabelos R, Lombardi VR, et al. Celastrol, a potent antioxidant and anti-inflammatory drug, as a possible treatment for Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2001;25(7):1341-57. doi: 10.1016/s0278-5846(01)00192-0
20. Kannaiyan R, Shanmugam MK, Sethi G. Molecular targets of celastrol derived from Thunder of God Vine: potential role in the treatment of inflammatory disorders and cancer. *Cancer Lett.* 2011;303(1):9-20. doi: 10.1016/j.canlet.2010.10.025
21. Lim HY, Ong PS, Wang L, et al. Celastrol in cancer therapy: recent developments, challenges and prospects. *Cancer Lett.* 2021;521:252–267. doi: 10.1016/j.canlet.2021.08.030
22. Liu Z, Ma L, Zhou GB. The main anticancer bullets of the chinese medicinal herb, thunder god vine. *Molecules.* 2011;16:5283–97. doi: 10.3390/molecules16065283
23. Ahmadi Z, Mohammadinejad R, Ashrafizadeh M. Drug delivery systems for resveratrol, a non-flavonoid polyphenol: emerging evidence in last decades. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2019;51:591–604. doi: 10.1016/j.jddst.2019.03.017
24. Kaur A, Tiwari R, Tiwari G, Ramachandran V. Resveratrol: A vital therapeutic agent with multiple health benefits. *Drug Res (Stuttg).* 2022;72(1):5-17. doi: 10.1055/a-1555-2919
25. Gawlik MT. Francuski paradoks (1992–2022) – trzy dekady badań nad kardioprotekcyjnymi właściwościami wina gronowego. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2021;54(3):229–249, doi: 10.32383/bct/159229
26. Almatroodi SA, A Alsahli M, S M Aljohani A, et al. Potential therapeutic targets of resveratrol, a plant polyphenol, and its role in the therapy of various types of cancer. *Molecules.* 2022;27(9):2665. doi: 10.3390/molecules27092665
27. Fu X, Li M, Tang C, Huang Z, Najafi M. Targeting of cancer cell death mechanisms by resveratrol: a review. *Apoptosis.* 2021;26(11-12):561-573. doi: 10.1007/s10495-021-01689-7
28. Rinkenbaugh AL, Baldwin AS. The NF-κB pathway and cancer stem cells. *Cells.* 2016;5(2):16. doi: 10.3390/cells5020016
29. Banik K, Khatoon E, Harsha C, et al. Wogonin and its analogs for the prevention and treatment of cancer: A systematic review. *Phytother. Res.* **2022**, 36, 1854–1883.
30. You W, Di A, Zhang L, Zhao G. Effects of wogonin on the growth and metastasis of colon cancer through the Hippo signaling pathway. *Bioengineered* **2022**, 13, 2586–2597.
31. Do LH, Neelesh S, Amit KS, , et al. Anti-tumor activity of wogonin, an extract from *Scutellaria baicalensis*, through regulating different signaling pathways. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(1): 15-40. doi: 10.3724/SP.J.1009.2017.00015

5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ

5.1. Podsumowanie dorobku naukowego na podstawie analizy bibliometrycznej

Mój dorobek naukowy na dzień wykonania dołączonej do autoreferatu analizy bibliometrycznej (19.09.2023 r.) obejmuje **35 publikacji**, w tym :

- **30 pełnotekstowych prac oryginalnych** - w tym 21 prac w czasopismach z IF; 26 prac po uzyskaniu stopnia doktora
- **5 prac poglądowych:** opublikowane w czasopiśmie z IF; 4 opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora

	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	Łącznie
Publikacje w czasopismach posiadających „impact factor”	2	24	26
Publikacje w czasopismach bez „impact factor”	3	6	9
Całkowita liczba publikacji	5	30	35
Całkowita liczba publikacji jako pierwszy autor	0	8	8
drugi autor	3	12	15
Sumaryczny IF - zgodnie z rokiem opublikowania	5,582	83,519	89,101
Sumaryczna liczba punktów MEiN	42	2218	2260
Liczba cytowań publikacji z wyłączeniem autocytowań	-	-	164*
			202**
Indeks Hirscha	-	-	8*
			9**
Udział w konferencjach krajowych	1	11	12
Udział w konferencjach zagranicznych lub międzynarodowych	2	11	13
Udział w projektach badawczych			
Granty statutowe	3	9	12
Granty konkursowe UMED***	0	3	3
Granty krajowe np. NCN/NCBiR	0	5	5

* wg Web of Science Core Collection

** wg SCOPUS

*** Projekty finansowane ze środków subwencyjnych, przyznawane na drodze konkursu przeprowadzonego w Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu

5.2. Opis aktywności naukowej poza osiągnięciem, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.

Aktywności i osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Swoją działalność naukową rozpoczęłam w roku 1997 w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu. Uczestniczyłam w pracach badawczych powierzonych mi przez ówczesnego kierownika Katedry Pana prof. dr hab. Kazimierza Gąsiorowskiego. Nurtem przewodnim moich badań była ocena immunomodulującego, przeciwzapalnego i antymutagennego działania nowych ekstraktów roślinnych i ich frakcji oraz związków chemicznych, testowanych *in vitro* na limfocytach i granulocytach wyizolowanych z krwi obwodowej. Do badanych przez mnie ekstraktów i związków naturalnych należą m.in. antocyjany izolowane z jagód aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* L.), alkilorezorcynole izolowane z otrąb żytnich, metanolowo-wodny ekstrakt z owoców kolcowoju chińskiego (*Lycium chinensis* Mill.), kolostryna (białko serwatkowe). Ponadto brałam udział w badaniach związków syntetycznych o znanym działaniu klinicznym takich jak flufenazyna (lek psychotropowy) i todralazyna (lek hipotensyjny), które w naszych pracach badawczych wykazały silne działanie immunomodulujące i antymutagenne. W ramach badań zostały wykonane przeze mnie: izolacje limfocytów i granulocytów z krwi obwodowej, hodowle limfocytów, ocena ilościowa subpopulacji limfocytów (CD4, CD8, NK, pan-T, pan-B) metodą immunocytochemiczną i cyklu komórkowego (na podstawie ekspresji antygenów Ki-67 i PCNA), testy cytogenetyczne (test mikrojądrowy i test wymiany siostrzanych chromatyd), testy NBT (test z błękitem nitrotetrazolowym pozwalający ocenić wytwarzanie wolnych rodników tlenowych) oraz testy MTT (oceniające aktywność metaboliczną limfocytów).

Uzyskane wyniki z tych badań zostały opublikowane w czasopismach naukowych:

Gąsiorowski Kazimierz, Brokos Barbara, **Tabaka (Moreira) Helena**: Evaluation of the immunomodulatory activity of four compounds exerting antimutagenic effects on human lymphocytes *in vitro*, *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2000, vol. 5, nr 4, s. 469-481

Gąsiorowski Kazimierz, **Tabaka Helena**, Działo E., Noculak-Palczewska Alicja, Lamer-Zarawska Eliza: *In vitro* immunomodulatory activity of the methanolic-water extract from Chinese wolfberry fruits (*Lycium chinensis* Mill.), *Herba Polonica*, 2003, vol. 49, nr 3/4, s. 222-228

Noculak-Palczewska Alicja, Matkowski Adam, Gąsiorowski Kazimierz, **Tabaka Helena**, Oszmiański Jan, Lamer-Zarawska Eliza: Chemical characterisation of methanolic-water extracts from the fruit of acclimated *Lycium chinense* Mill, *Herba Polonica*, 2004, vol. 50, nr 1, s. 47-53

W dalszym etapie mojej pracy naukowej skupiłam się na poszukiwaniu związków o działaniu hamującym wydzielanie TNF- α (czynnik martwicy nowotworów alfa), cytokiny prozapalnej odgrywającej istotną rolę w odpowiedzi immunologicznej i zapalnej, w regulacji proliferacji komórkowej, w kontroli apoptozy oraz w cytotoksyczności przeciwnowotworowej. Moje zainteresowanie tą cytokiną podyktowane było jej udziałem w patogenezie licznych chorób, zwłaszcza przewlekłych chorób zapalnych i autoimmunologicznych (chorobie Crohna, reumatoidalnym zapaleniu stawów, chorobie Alzheimera, stwardnieniu rozsianym), niektórych nowotworów, sarkoidozie, szoku septycznym. Nadekspresja TNF- α odpowiedzialna jest za powstawanie i utrzymywanie się przewlekłego stanu zapalnego w przebiegu tych schorzeń, a zastosowanie terapii mających na celu zmniejszenie produkcji lub inaktywację TNF- α (np. Etanercept, Infliximab, Adalimumab) okazało znaczną skuteczność w leczeniu niektórych z nich.

Pierwszy etap badań polegał na identyfikacji nowych związków, silnie hamujących uwalnianie TNF- α , które mogłyby posłużyć jako „narzędzia farmakologiczne” do badań proteolizy TNF- α . Badania wykonywałam w Laboratorium Pharmacologie et Physico-chimie des interactions cellulaires et moleculaire UMR CNRS 7034 w Illkirch (Francja) w latach 2003-2008. Wstępny screening związków zgromadzonych w tzw. chemiotece (7500 związków) należącej do IFR 85 Uniwersytetu Louisa Pasteura (Strasbourg, Francja) pozwolił na wyłonienie kilku aktywnych związków: 01-02-H08 i 01-04-F10 (struktura związków jest objęta klauzulą poufności), ND 1251 i ND 2333 (pochodzące z syntezy chemicznej, potencjalne inhibitory fosfodiesterazy IV), celastrol i thymoquinone (pochodzenia naturalnego, o silnych właściwościach przeciwutleniających i przeciwzapalnych). Ponadto, badałam pochodne 3-*O*-methylviridicatin pozyskane z syntezy chemicznej od Profesora L. Désaubry (laboratorium UMR 7175LC1, ULP-CNRS, Illkirch, Francja) oraz jako związek referencyjny zastosowałam Ro 32-7315 (Roche), selektywny inhibitor enzymu TACE, enzymu odpowiedzialnego za sekrecję TNF- α . Wyniki badań związków 01-02-H08 i 01-04-F10 zostały opisane w mojej pracy dyplomowej pt. "Analysis of the mechanisms of action of new anti-inflammatory compounds (DEA en pharmacologie et pharmaco-chimie, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Louis Pasteur, Strasbourg, Francja) znajdującej się w zasobach bibliotecznych Uniwersytetu. Wyniki badań pochodnych 3-*O*-methylviridicatin zostały opublikowane w czasopiśmie naukowym:

Ribeiro Nigel, **Tabaka Helena**, Peluso Jean [*i in.*]: Synthesis of 3-*O*-methylviridicatin analogues with improved anti-TNF-alpha properties, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2007;17,20:5523-5524

Pozostałe wyselekcjonowane związki były przedmiotem moich dalszych badań w ramach prac doktorskich. Do oceny skuteczności tych związków w blokowaniu wydzielania TNF- α przez różne typy komórek wykorzystałam trzy modele komórkowe: komórki jednojądrzaste krwi (PBMC), komórki monocytarne krwi (PBM) oraz linię komórek monocytarnych THP-1, wszystkie aktywowane przez LPS (lipopolisacharydy ścian bakteryjnych). Potencjał inhibitorowy tych związków oceniałam w oparciu o wyznaczone, dla każdego modelu komórkowego, wartości IC₅₀. Trzy spośród badanych związków: Ro 32-7315, Celastrol i Thymoquinone wykazały znaczną skuteczność w blokowaniu uwalniania TNF- α przez

wszystkie typy komórek: PBMC, PBM i THP-1. Pozostałe związki, ND 1251 i ND 2333, wykazały natomiast różnice w hamowaniu sekrecji TNF- α , zależne od typu komórek. ND 1251 okazał się być silnym inhibitorem TNF- α w komórkach PBMC i PBM, ale nie wykazywał takiej aktywności w komórkach THP-1. ND 2333 silnie blokował uwalnianie TNF- α przez komórki PBMC natomiast znacznie słabiej przez komórki PBM i THP-1. Badania cytotoksyczności komórkowej wykazały brak właściwości toksycznych tych związków we wszystkich badanych typach komórek. Ponadto, Thymoquinone, ND 1251 i ND 2333 okazały również znaczną aktywność anty-TNF- α w zastosowanym *in vivo* modelu ostrego zapalenia. Badanie to polega na indukcji LPS-em stanu zapalnego w obrębie tylnych łap szczura, co prowadzi do powstawania wysięku podskórnego bogatego w TNF- α . Wyżej wymienione związki, redukowały o ponad 50% ilość TNF- α mierzonego w powstałym wysięku podskórnym.

W kolejnym etapie badań zastosowałam technikę cytometrii przepływowej do oceny ekspresji TNF- α związanego z powierzchnią błony komórkowej i zmian w jego ekspresji pod wpływem badanych związków. Redukcja wydzielania TNF- α do środowiska może być spowodowana, między innymi, zablokowaniem procesu jego uwalniania z powierzchni komórek. W tym kontekście, zahamowanie aktywności enzymu odpowiedzialnego za ten proces powinno prowadzić do zatrzymania i gromadzenia TNF- α na błonie komórkowej i wzrostu błonowej ekspresji TNF- α . Badania z użyciem Ro 32-7315, selektywnego inhibitora TACE, enzymu odpowiedzialnego za konwersję TNF- α w wydzielaną molekułę, w istocie wykazały, że zablokowanie aktywności TACE prowadzi do kumulacji TNF- α na powierzchni komórek. Ponadto, równolegle przeprowadziłam badania kinetyki kumulacji i kinetyki sekrecji, które pokazały, że wzrostowi ekspresji TNF- α na błonie komórkowej w czasie towarzyszy redukcja ilości TNF- α uwolnionego do środowiska pozakomórkowego. Analiza obrazów uzyskanych z użyciem mikroskopu konfokalnego, pozwoliła mi na potwierdzenie błonowej lokalizacji niewydzielonego TNF- α , jednocześnie uwidaczniając jego punktową dystrybucję w obrębie błony komórkowej. Taka dystrybucja mogłaby być związana ze specyficzną lokalizacją TNF- α w częściach błony komórkowej bogatych w cholesterol tzw. lipid rafts i mogłaby odgrywać istotną rolę w sekrecji TNF- α . W istocie, zgodnie z doniesieniami literaturowymi, nowo zsyntetyzowane molekuły TNF- α , są transportowane właśnie do tych części błony plazmatycznej. Zaobserwowałam również, że zahamowanie aktywności metalloproteinazy powoduje wzrost proporcji TNF- α w tych przedziałach błony komórkowej. Dalsze badania z użyciem Celastrol i Thymoquinone pokazały iż obydwie związki, podobnie jak Ro 32-7315, powodują znaczną kumulację TNF- α na powierzchni błony komórkowej, niezależnie od typu komórek. Przeciwnie, zastosowanie ND 1251 i ND 2333 nie powodowało żadnych zmian w błonowej ekspresji TNF- α . Uzyskane wyniki pozwoliły mi na wysunięcie wniosku, że z spośród badanych związków jedynie Celastrol i Thymoquinone wykazują aktywność blokującą proteolizę TNF- α , sugerując tym samym aktywność anty-TACE.

W dalszej części pracy skoncentrowałam się na bezpośrednim badaniu aktywności enzymatycznej TACE na powierzchni komórek. W tym celu zastosowano fluorymetryczną metodę wykorzystującą tzw. FRET (fluorescence resonance energy transfert) peptydy jako substraty do monitorowania zmian w aktywności enzymatycznej pod wpływem badanych

związków. Enzymatyczna hydroliza tych peptydów prowadzi do wzrostu intensywności fluorescencji, który jest proporcjonalny do ilości zhydrolizowanego substratu i jest wykładnikiem aktywności enzymatycznej. W badaniach zastosowałam dwa substraty FRET: MOCAC-Lys-Pro-Leu-Gly-Leu-Dap(Dnp)-Ala-Arg-NH₂ (MOCA) o szerokim spektrum specyficzności substratowej (MMP-1,8,-13, TACE i ADAM10) oraz Abz-Leu-Ala-Gln-Ala-Val-Arg-Ser-Ser-Ser-Arg-Dap(Dnp)-NH₂ (ABZ) wykazujący wysoką specyficzność substratową dla TACE. Badania z użyciem nieaktywowanych komórek THP-1 oraz PBM wykazały, że obydwa typy komórek są zdolne do enzymatycznej hydrolizy tych substratów, wskazując na obecność konstytutywnej aktywności TACE na powierzchni tych komórek. Jednocześnie analiza cytometryczna z użyciem przeciwciał monoklonalnych anti-TACE pozwoliła mi potwierdzić obecność tego enzymu na powierzchni nieaktywowanych komórek THP-1 i PBM. Dalsza analiza wykazała, iż błonowa ekspresja TACE nie jest zależna od stanu aktywacji komórek, sugerując tym samym iż konstytutywny poziom aktywności TACE mógłby być wystarczający do uwalniania TNF- α z powierzchni tych komórek.

W kolejnym etapie badań poddałam ocenie wpływ badanych związków na zdolność komórek THP-1 i PBM do hydrolizy substratów MOCA i ABZ. Uzyskane wyniki pokazały iż w komórkach THP-1, Ro 32-7315, Celastrol i Thymoquinone wykazują silnie hamujący wpływ na hydrolizę peptydu MOCA oraz znikomy efekt hamujący na hydrolizę ABZ, substratu o wysokiej specyficzności dla enzymu TACE. Ro 32-7315, selektywny inhibitor TACE, indukował jedynie 20% redukcję hydrolizy substratu ABZ przez komórki THP-1. Przeciwnie, w komórkach PBM, ten sam związek blokował w 80% hydrolizę substratu ABZ i jedynie w 20% hydrolizę peptydu MOCA. Celastrol i Thymoquinone wykazały natomiast podobny profil inhibitorowy w komórkach THP-1 i PBM. Zdolność Celastrołu do hamowania hydrolizy substratów MOCA i ABZ była jednak znacznie mniejsza w komórkach PBM. Również Thymoquinone okazał się być słabszym inhibitorem hydrolizy substratu MOCA w komórkach PBM. Podobnie jak w komórkach THP-1, zaobserwowałam brak efektu Thymoquinone na hydrolizę substratu ABZ. W dalszych badaniach z użyciem rekombinowanego enzymu TACE, potwierdziłam silnie hamujący wpływ Ro 32-7315 na aktywność katalityczną tego enzymu. Jednocześnie wykazałam, iż Celastrol, ale nie Thymoquinone również indukuje silną inhibicję aktywności TACE. Pozostałe związki ND 1251 i ND 2333 wykazały znikomy efekt hamujący na hydrolizę substratów MOCA i ABZ zarówno w modelu komórkowym jak i w modelu z zastosowaniem enzymu rekombinowanego, potwierdzając tym samym brak wpływu tych związków na proteolizę TNF- α . Uzyskane wyników wskazują, że w konstytutywnym uwalnianiu TNF- α z powierzchni komórek uczestniczy obok TACE inny/e enzym/y, którego/yh aktywność może być hamowana przy pomocy Thymoquinone lub Celastrol. Ponadto, z powyższych analiz wynikałoby, iż w zależności od typu komórek enzymy te mogą pełnić mniej lub bardziej dominującą rolę w tym procesie. Wyniki uzyskane z Ro 32-7315 sugerują, iż w komórkach PBM TACE pełniłaby nadrzędną funkcję w sekrecji TNF- α , podczas, gdy w komórkach THP-1 inny enzym spełniałby tę samą rolę.

Podsumowanie wyników powyższych prac pozwoliło mi sformułować kilka istotnych wniosków:

- Efektem zahamowania aktywności TACE jest kumulacja TNF- α na powierzchni komórek i redukcja jego sekrecji do środowiska zewnątrzkomórkowego.
- W obrębie błony komórkowej TNF- α jest zlokalizowany w regionach bogatych w cholesterol, tzw. lipid raft.
- Ekspresja TACE na powierzchni komórek jest niezależna od stanu aktywacji komórek.
- Różne jednostki enzymatyczne obecne na powierzchni komórek THP-1 i PBM są odpowiedzialne za sekrecję TNF- α .
- TACE wydaje się pełnić funkcję dominującą w proteolizie TNF- α przez komórki PBM, podczas, gdy w komórkach THP-1 taką rolę odgrywałby inny enzym.

Uzyskane przeze mnie wyniki stanowiły moją rozprawę doktorską pt. „Study of the molecular mechanisms of TNF- α secretion, a key cytokine in chronic inflammation”. Pracę doktorską obroniłam publicznie w dniu 2 lipca 2009r. na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu I w Strasbourgu we Francji przed **Komisją w składzie:**

Promotor: DSc Christian D. Muller, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet I, Strasbourg

Recenzent wewnętrzny: DSc Helene Muller-Steffner, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet I, Strasbourg

Recenzent wewnętrzny: DSc Jean Suffert, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet I, Strasbourg

Recenzent zewnętrzny: Prof. Jean-Yves Jouzeau, Wydział Farmaceutyczny, UHP, Nancy

Recenzent zewnętrzny: DSc Bernhard Ryffel, CNRS Institut Transgenose, Orleans

Egzaminator: Prof. Sylvie Fournel, UdS, IBMC, Strasbourg

Uzyskałam w dniu 20.05.2010r. stopień **Doktora w dziedzinie „Aspekty Molekularne Biologii” (Diplôme de Doctorat de: Aspects moléculaire de la biologie)**. W dniu 20.12.2010r. nostryfikowałam stopień Doktora w dziedzinie „Aspekty Molekularne Biologii” i zgodnie z uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej (nr 251/VI/10) Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nadano mi stopień doktora nauk farmaceutycznych.

Wyniki badań pracy doktorskiej zaprezentowałam na konferencji międzynarodowej w San Francisco oraz zostały opublikowane w czasopiśmie:

Moreira-Tabaka Helena, Peluso Jean, Vonesch Jean-Luc [*i in.*]: Unlike for human monocytes after LPS activation, release of TNF- α by THP-1 cells is produced by a TACE catalytically different from constitutive TACE, PLoS ONE, 2012;7,3: art.e34184

Tabaka-Moreira Helena, Peluso Jean, Dumont Serge [*i in.*]: Is TACE the only effective TNF-alpha releasing protease on THP-1 cells?, Cytokine, 2007;39,1:41-42 poz.150. Konferencja: „Cytokines in health and disease” 15th Annual Meeting of the International Cytokine Society, 26-30 październik 2007, San Francisco, USA

Aktywności i osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam moje zainteresowania aktywnością biologiczną substancji naturalnych i związków syntetycznych, głównie w kontekście ich działania antyoksydacyjnego i przeciwnowotworowego oraz poszukiwania-opracowywania nowych strategii terapeutycznych w leczeniu różnych typów nowotworów. Częstość występowania chorób nowotworowych nieustannie wzrasta. Dotyczy obecnie prawie każdego narządu i dotyka pacjentów niezależnie od wieku. Dlatego ważne jest poszukiwanie nowych skutecznych terapii, metod prewencji i eliminacji czynników ryzyka. W ramach tych zainteresowań badałam szereg związków, w tym polifenolowe ekstrakty pozyskane z liści czystka (*Cistus incanus* L.), skórek granatu (*Punica granatum* L.), *polygonum cuspidatum*, *ganoderma lucidum* i jagód aronii, bajkaleinę, wogoninę, celatrol, resweratrol.

Wyniki badań dotyczące wybranych substancji opisałam w punkcie 4.3. i stanowią podstawę osiągnięcia habilitacyjnego.

Wiele spożywanego produktów pochodzenia roślinnego posiada potencjał terapeutyczny, za który odpowiada wyjątkowy skład chemiczny i różnorodność związków czynnych budujących roślinę. Należą do nich różne związki polifenolowe. Do takich produktów należy ziele czystka i owoc granatu. W swoich pracach badawczych oceniałam skuteczność bogatych w polifenole wodnych ekstraktów z liści czystka (*Cistus incanus* L.), skórek granatu (*Punica granatum* L.), w terapii chemoprewencyjnej nowotworów. Badałam ich aktywność antyoksydacyjną w komórkach prawidłowych V79 (prawidłowe fibroblasty płuca chomika chińskiego) i przeciwnowotworową w komórkach raka piersi i jelita grubego. Oba ekstrakty, dodane w stężeniach 25-100 µg/ml znacznie podwyższyły wewnątrzkomórkowy poziom ROS (reaktywne formy tlenu), w komórkach narażonych na działanie egzogenego utleniacza (H_2O_2), oraz tzw. komórkach „spoczynkowych”. Co więcej, wysokie stężenia ekstraktów hamowały funkcję białka P-gp w hodowlach V79. Natomiast w ludzkich liniach komórkowych raka piersi (MCF-7 i MCF/DX) i okrężnicy (LOVO i LOVO/DX) ekstrakty z czystka i granatu zmniejszały wzrost komórek nowotworowych zarówno w komórkach wrażliwych jak i opornych na ytostatyki. Dodatkowo, ekstrakty indukowały apoptozę w badanych liniach komórek nowotworowych. Uzyskane wyniki potwierdzają chemoprewencyjne działanie tych ekstraktów i wskazują na potencjalną przydatność jako uzupełniającą terapię przeciwnowotworową.

Wyniki tych prac zostały przedstawione w dwóch publikacjach naukowych i 4 doniesieniach konferencyjnych:

Moreira Helena, Ślęzak Aleksandra, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Antioxidant and cancer chemopreventive activities of cistus and pomegranate polyphenols, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s.688-698

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Conditions of prooxidant activity of cistus and pomegranate polyphenols in V79 cell cultures, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s.670-678

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of water extracts from *Cistus incanus* and *Punica granatum* on intracellular ROS in V79 cell cultures, W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts, Wrocław 2016, Wrocław Medical University, 161 poz.PS-105, ISBN 978-83-7055-591-7

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Wysoczańska Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz, Oszmiański Jan: *Cistus incanus* and *Punica granatum* as chemopreventive agents in cancer cell lines, W: III International Conference on Cell Biology. Kraków, 26-27 May 2017. Book of abstracts 2017, s. 102

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Wysoczańska Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz, Oszmiański Jan: Inhibition of P-glycoprotein transporter function after incubation with *Cistus incanus* and *Punica granatum* extracts in V79 cell line, W: III International Conference on Cell Biology. Kraków, 26-27 May 2017. Book of abstracts 2017, s. 103

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Wiatrak Benita, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Influence of *cistus* and pomegranate extracts on ROS generation in V79 cells, W: 2nd Wrocław Scientific Meetings [Wrocław, 2nd March 2018], (red.) Julita Kulbacka, Joanna Weźgowiec, Nina Rembiałkowska, Wrocław 2018, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 112 poz.P53, ISBN 978-83-65932-02-0

Poszukując nowych strategii terapeutycznych z wykorzystaniem związków pochodzenia naturalnego i kontynuując wcześniejsze badania zajęłam się oceną efektu przeciwnowotworowego kamptotecyny, celastrolu i resweratrolu w tzw. terapii skojarzonej. Badałam połączenia kamptotecyny z celastrolem lub resweratrolem jako potencjalną strategię terapeutyczną ukierunkowaną na komórki przerzutowe i NKM (nowotworowych komórek macierzystych) raka jelita grubego. Kamptotecynę wybrałam jako reprezentatywny cytostatyk, którego pochodne znalazły zastosowanie w leczeniu onkologicznym, m.in. irynotekan, półsyntetyczna pochodna kamptotecyny. Kamptotecyna jest inhibitorem topoizomerazy, wiążąc się z topoizomerazą I i kompleksem DNA, zapobiega ponownej ligacji DNA, a tym samym powoduje uszkodzenia DNA. W swoich wcześniejszych pracach wykazałam, że celastrol i resweratrol również indukują podwójne uszkodzenia DNA, a także wzbudzają apoptozę i prowadzą do zahamowania cyklu komórkowego w komórkach raka jelita grubego. Zatem uznałam, że połączenie tych związków z kamptotecyną mogłoby mieć potencjalnie większy efekt genotoksyczny i tym samym silniejsze działanie przeciwnowotworowe w komórkach raka jelita grubego.

Do oceny poziomu podwójnych uszkodzeń DNA użyłam dwóch testów: testu γ H2AX i testu FHA (Fast Halo Assay), które pozwalają ocenić, odpowiednio, wczesne i późne efekty genotoksyczne. W zastosowanych modelach komórkowych poziom γ H2AX generowanych przez samą kamptotecynę był niski, ale istotny statystycznie. Natomiast stopień fragmentacji DNA (ocenianej testem FHA) był nieco wyższy, szczególnie w NKM, choć wyraźnie słabszy niż efekt generowany przez celastrol lub resweratrol. Wyniki innych badań wykazały, że

komórki nowotworowe posiadające antygen CD44 na powierzchni charakteryzuje zmniejszona aktywność topoizomerazy, co powoduje oporność tych komórek na działanie kamptotecyny. We wcześniejszej pracy wykazałam, że komórki przerzutowe i NKM raka jelita grubego wykazują ekspresję antygenu CD44. Zatem, odnotowany umiarkowany efekt genotoksyczny wywołany przez kamptotecynę w tych komórkach może być związany z obecnością antygenu CD44 i obniżonej aktywności topoizomerazy.

Jednoczesne zastosowanie celastrolu i kamptotecyny daje znacznie lepszy efekt, szczególnie w NKM zwiększając zarówno wczesne, jak i późne efekty genotoksyczne. Komórki przerzutowe raka jelita grubego wykazują mniejszą wrażliwością na jednoczesne działanie celastrolu i kamptotecyny w porównaniu z NKM. W tych komórkach połączenie związków indukowało tylko późne efekty genotoksyczne, znacznie słabsze niż w NKM. We wcześniejszych badaniach wykazałam, że celastrol wiąże się z P-gp i hamuje jej funkcje transportowe. NKM charakteryzują się zwiększoną ekspresją transporterów błonowych, w tym P-gp. Kamptotecyna jest substratem dla P-gp i jest aktywnie usuwana przez ten transporter poza komórkę nowotworową. Zablokowanie funkcji transportowej P-gp przez celastrol powoduje wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego kamptotecyny. Mechanizm ten wyjaśnia skuteczniejsze efekty genotoksyczne kombinacji kamptotecyny i celastrolu w NKM.

Resweratrol wykazuje silniejsze działanie na komórki przerzutowe w porównaniu z NKM, i poprawia skuteczność kamptotecyny na te komórki, zwiększając poziom γ H2AX i fragmentacji DNA. W NKM, zastosowanie samego resweratrolu lub jego połączenia z kamptotecyną indukują jedynie wzrost fragmentacji DNA. γ H2AX jest uważany za wysoce czuły marker podwójnych uszkodzeń DNA, podczas gdy testem FHA wykrywane są efekty genotoksyczne spowodowane różnymi typami uszkodzeń DNA, które prowadzą do fragmentacji DNA. Można zatem wnioskować, że działanie genotoksyczne celastrolu, resweratrolu oraz ich połączeń z kamptotecyną oparte jest na różnych mechanizmach oddziaływania na DNA.

Związki genotoksyczne, indukujące podwójne uszkodzenia DNA, powodują wzrost poziomów γ H2AX podczas przejścia komórek z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Wyniki moich badań wykazały, że częstość występowania komórek γ H2AX+ wzrasta we wszystkich fazach cyklu komórkowego pod wpływem samej kamptotecyny, a także po podaniu łącznie z celastrolem lub resweratrolem. Najwyższy odsetek komórek γ H2AX+ odnotowałam w fazach G1 i S zarówno w komórkach przerzutowych, jak i NKM. Faza S jest bardzo ważnym etapem cyklu komórkowego, ponieważ w ciągu tej fazy zachodzi replikacja DNA. Natomiast faza G2/M stanowi ważny punkt kontrolny w zapobieganiu wejścia w mitozę komórek z uszkodzeniami DNA. Pojawienie się dużej liczby podwójnych uszkodzeń DNA zwłaszcza we wczesnych stadiach progresji cyklu komórkowego wiąże się z zatrzymaniem cyklu komórkowego, zahamowaniem proliferacji komórek i inicjacją procesów takich jak śmierć komórki (w tym apoptoza) lub starzenie się. Kamptotecyna powoduje zatrzymanie progresji cyklu komórkowego w fazie G1 poprzez blokowanie kompleksu topoizomerazy DNA,

natomiast celastrol i resweratrol w fazie S. Można zatem wnioskować, że genotoksyczne działania tych związków skutkują zahamowaniem proliferacji i indukcją apoptozy komórek.

Apoptoza jest wtórną odpowiedzią na uszkodzenie DNA i ważnym mechanizmem supresji nowotworu. W komórkach przerzutowych i NKM raka jelita grubego, kamptotecyna silnie indukuje apoptozę. Efekt ten nie koreluje jednak ze słabym działaniem genotoksycznym w tych komórkach. Wyniki te wskazują, że indukcja apoptozy przez kamptotecynę może również zachodzić poprzez mechanizmy niezależne od czynników genotoksycznych. Celastrol i resweratrol również wykazują silne działanie proapoptotyczne w komórkach nowotworowych raka jelita grubego. Celastrol indukuje nieco wyższy odsetek komórek apoptotycznych w hodowlach NKM, natomiast resweratrol w hodowlach komórek przerzutowych. Natomiast, zastosowanie połączenia kamptotecyny z celastrolem lub resweratrolem nie nasila działania proapoptotycznego samej kamptotecyny. Wyniki badań innych autorów wskazują, że różne typy śmierci komórkowej często mają wspólne ścieżki sygnałowe. Można na tej podstawie postawić hipotezę, że połączenia kamptotecyny z celastrolem lub resweratrolem, obok apoptozy, indukują krzyżowo inne nieapoptotyczne typy śmierci komórek, np. piroptozę, ferroptozę, autofagię lub onkozę. Możliwości „przełączania” pomiędzy różnymi rodzajami śmierci komórkowej są opisywane w literaturze.

Migracja komórek nowotworowych jest kluczowym etapem przerzutów i inwazji guzów litych. Potencjalne efekty antymigracyjne badanych połączeń oceniałam w hodowlach 2D wykorzystując tzw. „scratch test”. Wykazałam, że kamptotecyna, celastrol i resweratrol silnie hamują migrację komórek przerzutowych i NKM raka jelita grubego. Ponadto, połączenie kamptotecyny z celastrolem lub resweratrolem wzmacnia efekt antymigracyjny samej kamptotecyny, co może potencjalnie silniej blokować inwazyjność raka jelita grubego.

Podsumowując, w przedstawionych powyżej badaniach wykazałam, że przerzutowe komórki i NKM raka jelita grubego są wrażliwe na działanie genotoksyczne kamptotecyny, celastrolu i resweratrolu. Połączenie celastrolu lub resweratrolu z kamptotecyną poprawiają ogólną genotoksyczność samej kamptotecyny. Ocena podwójnych uszkodzeń DNA za pomocą czułego testu γ H2AX wskazują na silniejszy efekt połączenia kamptotecyny z celastrolem na NKM, natomiast kamptotecyny z resweratrolem na komórki przerzutowe raka jelita grubego. Żadne z badanych połączeń nie poprawiało efektu proapoptotycznego kamptotecyny, co sugeruje aktywację innych nieapoptotycznych śmierci komórek i hamowanie proliferacji komórek. Ponadto, połączenie kamptotecyny z celastrolem lub resweratrolem poprawia hamujący wpływ samej kamptotecyny na migrację komórek raka jelita grubego.

Powyzsze wyniki znajdują się w fazie przygotowań do publikacji.

Moim drugim nurtem zainteresowań naukowo-badawczych jest analiza mechanizmów immunologicznych w patogenezie chorób metabolicznych i autoimmunologicznych. Prace te realizuję we współpracy z Klinikami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. W przeprowadzanych badaniach wykorzystuję m.in. immunofenotypowanie i metodę cytometrii przepływową do oceny profilu leukocytów krwi obwodowej i oceny stężeń cytokin w surowicy krwi.

Oceniałam wpływ przebytej infekcji SARS-CoV-2 na komórki układu immunologicznego i ryzyko miażdżycy u pacjentów z Trisomią 21. Osoby z zespołem Downa (trisomią 21) wykazują wysoką podatność na infekcje i nawracające choroby układu oddechowego, a dodatkowo zaburzenia metaboliczne, biochemiczne oraz anatomiczne zwiększają ryzyko ciężkiego przebiegu infekcji. Inne choroby współistniejące, otyłość, choroby serca, miażdżyca, związane są z przewlekłym stanem zapalnym, stanowią dodatkowy czynnik ryzyka pogarszający przebieg zakażenia SARS-CoV-2, a tym samym wystąpienie powikłań. W rozwoju infekcji, jej przebiegu i występowaniu powikłań odgrywają rolę m.in. mieloidalne komórki supresorowe (MDSC) i komórki NK. MDSC to niejednorodna subpopulacja niedojrzałych komórek o zdolnościach immunosupresyjnych - hamują funkcje komórek T, blokując nadmierną odpowiedź układu odpornościowego. Zaobserwowano, że infekcja COVID-19 powiązana jest ze wzrostem ilości komórek MDSC u pacjentów. Im cięższy był przebieg infekcji, tym większą obserwowano ekspansję komórek MDSC. Dokładna rola MDSC w ostrych infekcjach dróg oddechowych oraz w innych chorobach o podłożu zapalnym nie została jednak jeszcze do końca poznana. Komórki NK (tzw. naturalne kilery) o działaniu cytotoksycznym mają kluczowe znaczenie w odpowiedzi immunologicznej. Wyniki badań oceniające fenotyp i funkcję komórek NK podczas SARS, MERS i COVID-19 wskazują na zmniejszenie liczby krążących komórek NK i hamowanie odpowiedzi komórek NK przez koronawirusy. Stwierdziliśmy, że u pacjentów z trisomią 21 (które nie przechorowały COVID-19) częściej występują komórki NK we krwi obwodowej w porównaniu z dziećmi bez trisomii 21. Istotna zatem jest ocena zmiany ilości komórek MDSC i NK u dzieci z trisomią 21 po przebytej infekcji COVID-19, co będzie przedmiotem dalszych badań.

Przeprowadziłam także ocenę profilu limfocytów i profilu cytokin u pacjentów chorujących na cukrzycę typu I, Hashimoto i na te dwie choroby równocześnie. Cukrzyca typu I oraz choroba Hashimoto są chorobami autoimmunizacyjnymi swoistymi narządowo, w których dominuje komórkowy mechanizm odpowiedzi immunologicznej (przewaga wpływu limfocytów Th1 i Th2). Cechą charakterystyczną dla chorób narządowo swoistych jest naciek limfatyczny w miejscu, gdzie zlokalizowany jest stan zapalny. Za infiltrację narządów odpowiadają autoreaktywne limfocyty T CD4+. W przeprowadzonych wstępnych badaniach wykazaliśmy zwiększony odsetek limfocytów pomocniczych T CD4+ oraz spadek limfocytów cytotoksycznych T CD8+, a zarazem zwiększony stosunek CD4+/CD8+ u pacjentów z cukrzycą typu I i/lub chorobą Hashimoto w porównaniu do grupy kontrolnej. Stwierdziliśmy również wyraźną przewagę limfocytów naiwnych w stosunku do limfocytów pamięci zarówno w przypadku limfocytów T CD4+, jak i CD8+ oraz wzrost ilości cytokin odpowiedzialnych za

regulację odpowiedzi Th1/Th2 w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki badań wskazują na mieszany patomechanizm Th1/Th2 w cukrzycy typu 1 i/lub chorobie Hashimoto.

Ponadto, zajmowałam się oceną subpopulacji limfocytów oraz wybranych cytokin we krwi obwodowej użytkowników papierosów elektronicznych. Analizowałam odsetek limfocytów T CD4+ i CD8+, limfocytów T CD45RA⁺ (tzw. *komórek „naiwnych”*), limfocytów T CD45RO⁺ (tzw. *komórek „pamięci”*), limfocytów B, limfocytów T regulatorowych oraz monocytów w krwi obwodowej użytkowników papierosów elektronicznych, jak również poziom cytokin wydzielanych przez limfocyty Th₁, Th₂ i Th₁₇: IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α . Uzyskane wyniki odniesiono do uzyskanych wartości w grupie kontrolnej, którą stanowiły osoby zdrowe nie palące tradycyjnych papierosów ani nie używające e-papierosów. Stwierdziliśmy, że użytkownicy papierosów elektronicznych mają wyższy odsetek naiwnych limfocytów T supresorowych CD8+ natomiast nie występowały różnice w odsetkach pozostałych analizowanych subpopulacji limfocytów. W ocenie poziomu poszczególnych cytokin w surowicy krwi stwierdzono istotne statystycznie różnice w poziomach IL-4 oraz IL-17A (stężenia tych cytokin były istotnie wyższe w grupie użytkowników papierosów elektronicznych). Nie wykazano różnic istotnych statystycznie w obrębie IFN- γ , IL-2, IL-6, IL-10 ani TNF pomiędzy użytkownikami papierosów elektronicznych a grupą kontrolną.

Współpraca z zagranicznymi instytucjami naukowymi

WSPÓŁPRACA Z UNIWERSYTYTEM I W STRASBOURG (FRANCJA)

Moja pierwsza współpraca z instytucją zagraniczną miała miejsce przed i w trakcie prowadzenia badań do pracy doktorskiej. W latach 2003-2008 byłam członkiem zespołu badawczego kierowanego przez DSc Christian D. Muller w Laboratorium Innowacji Terapeutycznych - grupie badawczej «Chroniczne choroby zapalne jelit i towarzyszące im nowotwory», UMR 7200, na Wydziale Farmaceutycznym, Uniwersytetu I w Sztrasburgu we Francji. Prowadzone w tym zespole prace badawcze, w których uczestniczyłam dotyczyły oceny aktywności i mechanizmów działania nowych substancji pozyskanych z syntezy chemicznej i naturalnych w zakresie przeciwwzapalnym i przeciwnowotworowym. Badania prowadziłam na liniach komórkowych, a także z udziałem zwierząt, wykorzystując różne techniki biologii komórkowej: ELISA, spektrofluorymetrii, spektrofotometrii, cytometrii przepływowej, mikroskopii konfokalnej. W zakresie pracy doktorskiej skupiłam się na analizie mechanizmów molekularnych wydzielania czynnika martwicy nowotworów (TNF- α), ze względu na jego kluczową rolę w patomechanizmie chorób zapalnych jelit, w tym Crohna oraz nowotworów jelit. Badałam potencjał nowych związków do blokowania wydzielania TNF- α w celu zapobiegania progresji tych chorób. Szczegółowy opis przeprowadzonych przez mnie w tym okresie badań i osiągnięcia opisałam w części: „Aktywności i osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora”.

Inne, nie zaprezentowane w części: „Aktywności i osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora”, publikacje i abstrakty konferencyjne będące efektem współpracy z tego okresu:

Peluso Jean, **Tabaka-Moreira Helena**, Taquet Nathalie [i in.]: Can flow cytometry play a part in cell based high-content screening?, *Cytometry Part A*, 2007;71,11:901-904

Peluso J., **Tabaka-Moreira Helena**, Taquet N. [i in.]: Innovative cell based high-content screening (HCS) by microcapillary cytometry as a pharmacological tool in anti-inflammatory drug discovery, *Cytometry Part A*, 2007;71,7:518 poz.L18

Od 2018 roku kontynuuję współpracę z DSc Christian D. Muller i kierowaną przez niego grupą badawczą, aktualnie będącą częścią Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC), UMR 7178, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu w Strasbourgu, a także działającej w ramach ostatnio utworzonego start-up „Pearl BioSystem”. Celem współpracy jest prowadzenie wspólnych badań nowych bioaktywnych związków i poszukiwanie-opracowywanie nowych strategii terapeutycznych w leczeniu różnych typów nowotworów. Przeprowadzone do tej pory wspólne badania obejmowały m.in. wykorzystanie hodowli 3D do oceny skuteczności przeciwnowotworowej związków takich jak: celastrol, baicaleina, wogonina, kurkumina, ekstrakty polifenolowe z *Cistus incanus* L. i z *Punica granatum* L., w tym ocenę potencjału tych związków do eliminacji nowotworowych komórek macierzystych.

W ramach istniejącej współpracy odbyłam 3 staże naukowe (stypendium Erasmus + Staff Mobility for training) w laboratorium DSc Christian D. Muller.

Artykuły i abstrakty będące efektem współpracy:

Anna Radajewska, Oskar Przybyszewski, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller, Ewa Barg, **Helena Moreira**, Three dimensional in vitro culture systems in anticancer drug discovery targeted on cancer stem cells. *American Journal of Cancer Research*, 2021;11(10):4931-4946

Helena Moreira, Anna Szyjka, Justyna Grzesik, Katarzyna Pelc, Magdalena Żuk, Anna Kulma, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller, Kazimierz Gąsiorowski, Ewa Barg, Celastrol and resveratrol modulate SIRT genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells. *Cancers*, 2022;14(6):1372

Anna Radajewska, **Helena Moreira**, Dorota Bęben, Oliwia Siwiela, Anna Szyjka, Katarzyna Gębczak, Paulina Nowak, Jakub Frąszczak, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller and Ewa Barg, Combination of irinotecan and melatonin with natural compounds – wogonin and celastrol for colon cancer treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023;24: 9544

Radajewska Anna, Przybyszewski Oskar, **Moreira Helena**, Barg Ewa, Emhemmed F., Muller C.D.: Evaluation of tumor stem cells in LoVo, HT29 and MCF7 cell lines in three-dimensional cell cultures, W: 4th International Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 09-10 October 2020

Moreira Helena, Szyjka Anna, Emhemmed F., Muller C.D., Gackowska L., Zaleska O., Barg Ewa: Terpenoids in targeting colon cancer stem cells, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 100 poz.SP11-4

Bęben Dorota, Siwiela O., Radajewska Anna, Gębczak Katarzyna, Oszmiański J., Emhemmed F., Nabais M., Muller C.D., Barg Ewa, **Moreira Helena**: Polyphenol-riche extracts from pomegranate and cistus in the fight against breast cancer, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 101 poz.SP11-5

Radajewska Anna, Bęben Dorota, Siwiela O., Gębczak Katarzyna, Szyjka Anna, Emhemmed F., Nabais M., Muller C.D., Barg Ewa, **Moreira Helena**: Anticancer potential of melatonin in combination with irinotecan, wogonin or celastrol on sensitive and multidrug resistant colon cancer cells, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 102 poz.SP11-6

Aktualnie przygotowywana jest kolejna publikacja będąca efektem współpracy dotycząca badań aktywności przeciwnowotworowej ekstraktów z czystka i granatu pt. „*Punica granatum* and *Cistus incanus* in the fight against breast cancer”. Najbliższe plany dotyczące wspólnych badań obejmują ocenę potencjału przeciwnowotworowego, bezpieczeństwa oraz mechanizmów cytotoksyczności fitokannabinoidów wyizolowanych z *Cannabis sativa* L..

WSPÓŁPRACA Z UNIVERSITY COLLEGE DUBLIN (IRLANDIA), UNIVERSITY ROCHESTER (USA) i EXCYTE (USA)

Od 2016r. współpracuję z dr Alfonso Blanco-Fernandez z Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research University College Dublin w Irlandii oraz z dr Timothy P. Bushnell z Uniwersytetu Rochester (URMC) w Nowym Jorku.

Dr Alfonso Blanco Fernandez jest dyrektorem naukowym Core Technologies of Flow Cytometry oraz europejskim instruktorem firmy ExCyte (Expert Cytometry), która obecnie jest wiodącym liderem szkoleniowym z zakresu cytometrii przepływowej na świecie. Jest również założycielem i prezesem: Irlandzkiego Towarzystwa Cytometrycznego, Hiszpańskiego Towarzystwa Badawczego w Irlandii (SRSI), Towarzystwa Sieci Stowarzyszeń Hiszpańskich Naukowców i Badaczy za Granicą (RAICEx, Red de Asociaciones de Científicos e Investigadores Españoles en el Extranjero) oraz organizatorem Towarzystwa Cytometrycznego „Red de Citometría IberoLatAm” działającej na terenie Ameryki Łacińskiej. Ponadto jest doradcą naukowym firm związanych z cytometrią przepływową oraz organizatorem i zarazem prowadzącym wielu szkoleń cytometrycznych. Dr Timothy P. Bushnell jest dyrektorem laboratoriów Shared Resources Laboratories Medical Center i współzałożycielem firmy ExCyte (Expert Cytometry), która zrzessa grono ekspertów w dziedzinie cytometrii

przepływową i w oparciu o najaktualniejszą wiedzę organizuje liczne szkoły i warsztaty z zakresu cytometrii przepływową na całym świecie.

Dwukrotnie byłam stypendystką programu Erasmus +, w ramach którego odbyłam staż w laboratorium kierowanym przez dr Alfonso Blanco-Fernandez, w trakcie których poszerzałam swoją wiedzę i umiejętności praktyczne z zakresu metod badawczych z zastosowaniem cytometrii przepływową i obrazową wykorzystywanych w badaniach eksperymentalnych. Współpraca z dr Alfonso Blanco-Fernandez opiera się na wymianie doświadczeń i licznych konsultacjach naukowych. Ponadto, wspólnie z dr Alfonso Blanco-Fernandez, dr Timothy P. Bushnell z University of Rochester oraz dr Lidią Gackowską (Collegium Medicum, Bydgoszcz) organizujemy szkolenia i konferencje naukowo-szkoleniowe dotyczące zastosowania cytometrii przepływową w badaniach naukowych i medycznych. W najbliższym czasie planujemy rozszerzenie współpracy o badania mikropęcherzyków (EVs, Extracellular Vesicles) wydzielanych przez komórki nowotworowe. Organizujemy wspólnie konferencję pt. Cytometria przepływową – małe jest piękne, która odbędzie się w dniach 23-24.11.2023 i będzie dotyczyła badań mikropęcherzyków.

WSPÓŁPRACA Z AMSTERDAM UNIVERSITY MEDICAL CENTER

W tym roku nawiązałam współpracę z dr Juan J. Garcia Vallejo z Katedry Molekularnej Biologii Komórki i Immunologii Uniwersyteckiego Centrum Medycznego w Amsterdamie. W dniach 26.09 – 02.10.2023r. odbęde staż w laboratorium dr Juan J. Garcia Vallejo w ramach stypendium Erasmus + Staff Mobility for training. Planujemy wykorzystanie techniki cytometrii masowej do badań w zakresie biologii nowotworów i immunologii.

Pełny wykaz odbytych przeze mnie staży zagranicznych i krajowych umieściłam w punkcie II.11. załącznika 4.

Współpraca z polskimi instytucjami naukowymi

WSPÓŁPRACA Z UNIWERSYTETEM MIKOŁAJA KOPERNIKA W TORUNIU

➤ **Współpraca z Katedrą Immunologii Collegium Medicum w Bydgoszczy: dr n. med. Lidią Gackowską**

W ramach współpracy organizujemy szkolenia i konferencje naukowo-szkoleniowe polskie i międzynarodowe dotyczące cytometrii przepływową i jej wykorzystania w pracach badawczych i diagnostycznych. Wspólne prace badawcze dotyczą zastosowania cytometrii przepływową do badań nowotworowych komórek macierzystych. Ponadto planujemy rozszerzyć współpracę naukową o wspólny projekt badawczy dotyczący m.in. oceny oznak przedwczesnego starzenia się układu immunologicznego u dzieci i młodzieży z zespołem Downa oraz wpływu obserwowanego polimorfizmu w trisomii 21 na zaburzenia procesów aktywnej metylacji i demetylacji DNA.

We wrześniu 2019 roku odbyłam dwutygodniowy staż naukowy w laboratorium Katedry Immunologii Collegium Medicum, podczas którego uczestniczyłam w badaniach obejmujących izolację i hodowlę komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC) oraz ocenę proliferacji PBMC po stymulacji, analizę cyklu komórkowego i subpopulacji PBMC za pomocą cytometrii przepływową (BD FACS Canto II).

Wyniki prowadzonych wspólnie badań były prezentowane na konferencji:

Moreira Helena, Szyjka Anna, Emhemmed F., Muller C.D., Gackowska L., Zaleska O., Barg Ewa: Terpenoids in targeting colon cancer stem cells, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 100 poz.SP11-4

WSPÓŁPRACA Z POLITECHNIKĄ WROCŁAWSKĄ

➤ **Współpraca z Zakładem Inżynierii Chemicznej Wydziału Chemicznego: dr inż. Tomaszem Koźleckim**

W ramach współpracy z wykonywałam badania wpływu nanocząsteczkowych nośników leków na hodowle komórek nowotworowych. Oceniałam zawartość wewnątrzkomórkową nanocząsteczek NanoPEI-FITC i żywotność komórek linii ludzkiej przewlekłej białaczki szpikowej (K562) ze standardową wrażliwością na cytostatyki i opornych na cytostatyki oraz izolowanych limfocytów krwi żyłnej. Ponadto, oceniałam wpływ nanocząstek PEI:N2-N11 na żywotność i apoptozę komórek raka jelita grubego opornych na cytostatyki (LOVO/DX) oraz wnikanie znakowanych izotiocyanianem fluoresceiny (FITC) nanocząstek PEI-FITC do wnętrza komórek nowotworowych. Badania były wykonywane w ramach zadania 3 „Funkcjonalne materiały polimerowe” programu badawczego „Wykorzystanie nanotechnologii w nowoczesnych materiałach” (nr proj. POIG.01.01.02-02-002/08, finansowanego ze środków UE w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka).

➤ **Współpraca z Katedrą Mechaniki, Inżynierii Materiałowej i Biomedycznej Wydziału Mechanicznego Politechniki Wrocławskiej: z dr inż. Justyną Krzak oraz Katedrą Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu: z dr hab. Bogdanem Osińskim i dr Przemysławem Prządka**

Przedmiotem współpracy jest badanie biogodności biomateriału - syntetycznego więzadła, przeznaczonego do potencjalnego zastosowania w leczeniu dysfunkcji stawu kolanowego (czynnościowej niewydolności kolana po zerwaniu więzadła krzyżowego przedniego). Syntetyczne więzadło (implant) wykonane jest na bazie materiału standardowo stosowanego do operacyjnej restabilizacji kolana poprzez modyfikację powierzchni metodą zol-żel i funkcjonalizowanie celowanymi substancjami farmakologicznymi. Zmodyfikowany implant posiada powłokę krzemionkową (SiO₂) wysyconą bupiwakainą, betametazonem i kwasem hialuronowym. W ramach tej aktywności wykonuję badania cytotoksyczności (biogodności)

na komórkach normalnych ludzkich fibroblastów skóry właściwej (linia komórkowa NHDF) po kontakcie badanych materiałów z monowarstwą komórek. Ocena cytotoksyczności wykonywana jest zgodnie z kryteriami normy ISO 10993-5 metodą spektrofotometryczną w teście XTT oraz z wykorzystaniem mikroskopii fluorescencyjnej.

Wyniki prowadzonych wspólnie badań były prezentowane na konferencji:

Osiński Bogdan, Szyjka Anna, **Moreira Helena**, Barg Ewa, Prządka Przemysław, Krzak Justyna: Evaluation of the cytocompatibility of an innovative cruciate ligament prosthesis with a pharmacologically active surface - in vitro study, W: The World Small Animal Veterinary Association - WSAVA - Congress. Virtual congress, 21-24 March 2021. Program - abstracts [online], 2021, s.poz.P067

Aktualnie w przygotowaniu jest publikacja w oparciu o uzyskane wyniki badań.

WSPÓŁPRACA Z UNIWERSYTEM PRZYRODNICZYM WE WROCŁAWIU

➤ **Współpraca z Katedrą Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż Wydział Nauk o Żywności: prof. dr hab. Janem Oszmiańskim i dr hab. Joanną Kolniak-Ostek prof. UPWr**

Współpraca obejmuje ocenę właściwości immunomodulacyjnych, antyoksydacyjnych i przeciwnowotworowych ekstraktów roślinnych w hodowlach komórkowych *in vitro*. Badane ekstrakty są pozyskiwane i charakteryzowane w laboratorium Katedry Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż Wydział Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Do tej pory przebadaliśmy bogate w związki polifenolowe ekstrakty z ziela czystka, owoca granatu, jagód aronii, jagód goji. Aktualnie badane są ekstrakty z rdestowca ostrokończystego i grzyba *Ganoderma lucidum*.

W czerwcu tego roku, celem kontynuacji współpracy, złożyliśmy wspólny projekt w ramach konkursu Narodowego Centrum Nauki OPUS 25. Projekt obejmuje wielokierunkową analizę związków bioaktywnych pozyskanych z niekonwencjonalnych źródeł jakimi są dziko rosnące rośliny w Polsce. Badania mają na celu określenie właściwości biologicznych (przeciwutleniających, przeciwzapalnych, przeciwcukrzycowych, przeciwotyłościowych oraz chemoprewencyjnych) wyselekcjonowanych związków w odniesieniu do możliwości ich wykorzystania w profilaktyce niezakaźnych chorób przewlekłych. Z wyselekcjonowanych roślin powstaną modelowe preparaty związków bioaktywnych.

Aktualnie przygotowujemy się do rozpoczęcia realizacji wspólnego projektu w ramach pozyskanych funduszy w konkursie Preludium Bis Narodowego Centrum Nauki (Kierownik grantu: dr hab. Joanna Kolniak-Ostek, prof. UPWr). Celem tego projektu jest określenie efektu fermentacji alkoholowo-octowej prowadzonej przez firmę SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), na zwiększenie właściwości biologicznych i biodostępności substancji bioaktywnych w liściach czerwonych, żółtych i czarnych odmian malin. Oceniana będzie ich aktywność przeciwutleniająca, przeciwzapalna i chemoprewencyjna w hodowlach

komórkowych *in vitro*, a także biodostępność. Efektem projektu będzie uzyskanie preparatów związków bioaktywnych o podwyższonych właściwościach biologicznych, charakteryzujący się wysoką stabilnością przechowalniczą. W ramach tego projektu realizowana będzie praca doktorska Pani Marceliny Matusiak, której jestem promotorem pomocniczym (promotor: dr hab. Joanna Kolniak-Ostek, prof. UPWr).

Artykuły i abstrakty będące efektem współpracy:

Noculak-Palczewska Alicja, Matkowski Adam, Gąsiorowski Kazimierz, **Tabaka Helena**, Oszmiański Jan, Lamer-Zarawska Eliza: Chemical characterisation of methanolic-water extracts from the fruit of acclimated *Lycium chinense* Mill, *Herba Polonica*, 2004, vol. 50, nr 1, s. 47-53

Moreira Helena, Ślęzak Aleksandra, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Antioxidant and cancer chemopreventive activities of cistus and pomegranate polyphenols, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s.688-698

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Conditions of prooxidant activity of cistus and pomegranate polyphenols in V79 cell cultures, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s.670-678

Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Aktywność antyoksydacyjna soku i polifenoli z jagód aronii w hodowlach komórek linii V79, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2015, vol. 48, nr 3, s.322-327

Kolniak-Ostek Joanna, Szyjka Anna, **Moreira Helena**, Barg Ewa [i in.]: Anticancer and antioxidant activities in *Ganoderma lucidum* wild mushrooms in Poland, as well as their phenolic and triterpenoid compounds, *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, nr 16, art.9359 [15 s.]. DOI:10.3390/ijms23169359

Gąsiorowski Kazimierz, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Oszmiański Jan: Cytofluorimetryczna analiza efektu chemosensytyzującego dwóch chemopreventywnych związków na linii komórek ludzkiej leukemii, W: X Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa "Przewlekłe choroby mielo- i limfoproliferacyjne"; I Krajowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Cytometrii; III Konferencja Immunologia i Immunoterapia. Kazimierz Dolny, 12-15 maja 2010. Streszczenia 2010, s. 50

Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Aktywność antyoksydacyjna soku i polifenoli z jagód aronii w hodowlach komórek linii V79, W: XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka". Wrocław, 17-18 wrzesień 2015. Program i streszczenia 2015, 119 poz.PD4

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of water extracts from *Cistus incanus* and *Punica granatum* on intracellular ROS in V79 cell cultures, W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts, Wrocław 2016, Wrocław Medical University, 161 poz.PS-105, ISBN 978-83-7055-591-7

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Wysoczańska Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz, Oszmiański Jan: Cistus incanus and Punica granatum as chemopreventive agents in cancer cell lines, W: III International Conference on Cell Biology. Kraków, 26-27 May 2017. Book of abstracts 2017, s. 102

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Wysoczańska Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz, Oszmiański Jan: Inhibition of P-glycoprotein transporter function after incubation with Cistus incanus and Punica granatum extracts in V79 cell line, W: III International Conference on Cell Biology. Kraków, 26-27 May 2017. Book of abstracts 2017, s. 103

Ślęzak Aleksandra, **Moreira Helena**, Wiatrak Benita, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Influence of cistus and pomegranate extracts on ROS generation in V79 cells, W: 2nd Wrocław Scientific Meetings [Wrocław, 2nd March 2018], (red.) Julita Kulbacka, Joanna Weźgowiec, Nina Rembiałkowska, Wrocław 2018, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 112 poz.P53, ISBN 978-83-65932-02-0

Bęben Dorota, Siwiela O., Radajewska Anna, Gębczak Katarzyna, Oszmiański Jan, Emhemmed F., Nabais M., Muller C.D., Barg Ewa, **Moreira Helena**: Polyphenol-riche extracts from pomegranate and cistus in the fight against breast cancer, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 101 poz.SP11-5

WSPÓŁPRACA Z UNIWERSYTEM WROCŁAWSKIM

➤ Współpraca z Zakładem Biochemii Genetycznej: prof. Janem Szopa-Skórkowski i z dr hab. Anną Kulma prof. UWR

Przedmiotem współpracy były badania nad optymalizacją produktywności nowego lnu i jego zastosowanie jako źródła surowcowego preparatów biomedycznych (w ramach grantu Gr-3/BS/NCBiR/2013). Badania obejmowały analizę biomedyczną włókien i tkanin pozyskanych z roślin (typu M, B, i MB), w tym ocenę wpływu związków uwalnianych z tkaniny lnu modyfikowanego genetycznie i ekstraktów lnu na hodowle komórek skóry ludzkiej (fibroblasty, keratynocyty, śródbłonek naczyń skórnych, monocyty/makrofagi).

Ponadto, w ramach współpracy wykonywaliśmy badania ekspresji genów, w tym genów sirtuin w komórkach raka jelita grubego i ocenialiśmy wpływ związków pochodzenia naturalnego na ich ekspresję.

Artykuły i abstrakty będące efektem współpracy:

Moreira Helena, SzyjkaAnna, Pelc Katarzyna, Żuk Magdalena, Kulma Anna: Effects of selected plant polyphenol s on SIRT gene expression and antitumor activity in cultures of colorectal cancer cells, Journal of Medical Oncology and Therapeutics, 2019, vol. 4, nr suppl., s.20

Gąsiorowski Kazimierz, Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena** [i in.]: Impact of fabrics from transgenic flax on cultures of skin cells, *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2019, vol. 28, nr 4, s.431-438. DOI:10.17219/acem/92563

Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: V79 fibroblasts are protected against reactive oxygen species by flax fabric, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2018, vol. 184, nr 1, s.366-385. DOI:10.1007/s12010-017-2552-y

Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Impact of fabrics from transgenic flax plant on human dermal fibroblasts in vitro proliferation, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s.642-652

Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Gębczak Katarzyna, Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Emulsions made of oils from seeds of GM flax protect V79 cells against oxidative stress, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, vol. 2016, art.ID 7510759 [12 s.]. DOI:10.1155/2016/7510759

Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Wiatrak Benita, Kulma Anna, Szopa Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of fabric made from new varieties of flax plant on proliferation in vitro of human dermal fibroblasts, W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts, Wrocław 2016, Wrocław Medical University, 81 poz.PS-25, ISBN 978-83-7055-591-7

Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Gębarowski Tomasz, **Moreira Helena**, Gębczak Katarzyna, Gąsiorowski Kazimierz [i in.]: Prozdrowotne działania olejów z lnu. Wnioski z badań w hodowlach komórkowych, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2015, vol. 48, nr 3, s.522-527

Gębarowski Tomasz, Gąsiorowski Kazimierz, **Moreira Helena**, Gębczak Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz K., Szopa J.: Wpływ emulsji otrzymanych z olejów z odmian transgenicznych lnu na proliferację i generowanie rodników szeregu tlenowego przez fibroblasty i monocyty w hodowlach, W: *Poznańskie Dni Cytometrii i Immunopatologii*. Poznań, 16-17 maja 2013 r. Program, streszczenia, Poznań 2013, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, s. 28, ISBN 978-83-7597-204-7

WSPÓŁPRACA MIĘDZYWYDZIAŁOWA I W RAMACH WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO WE WROCLAWIU

➤ **Współpraca z Katedrą i Zakładem Chirurgii Stomatologicznej Wydziału Lekarskiego: prof. dr hab. Marzeną Dominiak i prof. dr hab. Tomaszem Gedrange**

Przedmiotem współpracy było opracowanie metody pozyskiwania i izolacji mezenchymalnych komórek zrębu (MCSs) z miazgi zębowej do celów regeneracji ubytków kostnych. Badania obejmowały izolację, hodowlę i identyfikację MCSs oraz opracowanie modelu produktu leczniczego na bazie scaffoldów kolagenowych i kostnych do potencjalnego zastosowania klinicznego w stomatologii. Prace badawcze były wykonywane w ramach projektu NCBiR nr POIR.04.01.01-00-0006/19-00 w Centrum Badawczo - Wdrożeniowym Zaawansowanych Terapii Komórkowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Aktualnie w przygotowaniu jest publikacja w oparciu o uzyskane wyniki badań.

➤ **Współpraca z Katedrą i Kliniką Neurologii Wydziału Lekarskiego: prof. Sławomirem Budrewiczem, dr hab. Magdaleną Koszewicz i dr hab. Edytą Dziadkowiak**

Współpraca obejmuje ocenę wybranych parametrów układu immunologicznego w epilepsji i postępujących zaburzeniach neurologicznych o podłożu autoimmunologicznym, w tym w przewlekłej zapalnej poliradikuloneuropatii demielinizacyjnej. Ponadto uczestniczę w projekcie pt: „ Długofalowa ocena kliniczna, elektrofizjologiczna i radiologiczna u pacjentów z rdzeniowym zanikiem mięśni typu 1,2,3 leczonych dokanałowym podaniem nusinersenu.”

Artykuły i abstrakty będące efektem współpracy:

Dziadkowiak Edyta, Baczyńska Dagmara, Olbromski Mateusz, **Moreira Helena**, Mrozowska Monika, Budrewicz Sławomir, Dziągiew Piotr, Barg Ewa, Koszewicz Magdalena [*i in.*]: miR-31-5p as a potential circulating biomarker and tracer of clinical improvement for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, vol. 2023, art.2305163 [11 s.]. DOI:10.1155/2023/2305163

Dziadkowiak Edyta, **Moreira Helena**, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Koszewicz Magdalena [*i in.*]: Correlations between electrophysiological parameters, lymphocyte distribution and cytokine levels in patients with chronic demyelinating inflammatory polyneuropathy, *Journal of Personalized Medicine*, 2021, vol. 11, nr 8, art.766 [13 s.]. DOI:10.3390/jpm11080766

Dziadkowiak Edyta, **Moreira Helena**, Szmyrka Magdalena, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Pokryszko-Dragan Anna [*i in.*]: Occult autoimmune background for epilepsy - the preliminary study on antibodies against neuronal surface antigens, *Frontiers in Neurology*, 2021, vol. 12, art.660126 [7 s.]. DOI:10.3389/fneur.2021.660126

Moreira Helena, Dziadkowiak Edyta, Buska Katarzyna, Janik Marta, Szmyrka Magdalena, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Pokryszko-Dragan Anna: Badanie obecności autoprzeciwciał antyneuronalnych w surowicy pacjentów ze zdiagnozowaną epilepsją, W: II. WSML - Wrocławskie Spotkanie Medycyny Laboratoryjnej. Wrocław, 26 marca 2021. Program konferencji i książka abstraktów 2021, 14 poz.P4

- **Współpraca z Kliniką Ortopedii, Traumatologii Narządu Ruchu i Chirurgii Ręki: prof. dr hab. Pawłem Reichert i dr Maciejem Dejnekiem oraz Katedrą Fizjoterapii Wydziału Nauk o Zdrowiu: dr hab. Aleksandrą Królikowską**

Przedmiotem współpracy są badania nad skutecznością leczenia entezopatii nadkłykcia bocznej kości ramiennej (tzw. łokcia tenisisty) z wykorzystaniem autologicznego osocza bogatopłytkowego (PRP). Badania obejmują analizę zawartości składników biologicznie aktywnych (cytokin i czynników wzrostowych, płytkowych i zapalnych) w osoczu bogatopłytkowym oraz ich korelacji z efektami leczenia.

Artykuły i abstrakty będące efektem współpracy:

Moreira Helena, Dobosz Agnieszka, CwynarZając Łucja, Nowak Paulina, Czyżewski Marek, Barg Marta, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra, Barg Ewa: Unraveling the role of Breg cells in digestive tract cancer and infectious immunity, *Frontiers in Immunology*, 2022, vol. 13, art.981847 [15 s.]. DOI:10.3389/fimmu.2022.981847

Dejneki Maciej, Witkowski Jarosław, **Moreira Helena**, Płaczkowska Sylwia, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra [i in.]: Content of blood cell components, inflammatory cytokines and growth factors in autologous platelet-rich plasma obtained by various methods, *World Journal of Orthopaedics*, 2022, vol. 13, nr 6, s.587-602. DOI:10.5312/wjo.v13.i6.587

Dejneki Maciej, **Moreira Helena**, Płaczkowska Sylwia, Barg Ewa, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Effectiveness of lateral elbow tendinopathy treatment depends on the content of biologically active compounds in autologous platelet-rich plasma, *Journal of Clinical Medicine*, 2022, vol. 11, nr 13, art.3687 [19 s.]. DOI:10.3390/jcm11133687

Dejneki Maciej, **Moreira Helena**, Płaczkowska Sylwia, Barg Ewa, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Leukocyte-rich platelet-rich plasma as an effective source of molecules that modulate local immune and inflammatory cell responses, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, vol. 2022, art.8059622 [10 s.]. DOI:10.1155/2022/8059622

Dejneki Maciej, **Moreira Helena**, Płaczkowska Sylwia, Barg Ewa, Witkowski Jarosław, Reichert Paweł [i in.]: Analysis and comparison of autologous platelet-rich plasma preparation systems used in the treatment of enthesopathies: a preliminary study, *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2021, vol. 30, nr 7, s.757-764. DOI:10.17219/acem/135045

➤ **Współpraca z Katedrą i Zakładem Biologii Molekularnej i Komórkowej Wydziału Farmaceutycznego: dr hab. Julitą Kulbacką prof. UMW**

Przedmiotem współpracy była ocena wpływu elektroporacji na komórki raka piersi i jelita grubego, której owocem jest publikacja w impaktowanym czasopiśmie naukowym. Planujemy dalsze wspólne badania z wykorzystaniem potencjału naukowego i technologicznego obu Katedr, szczególnie elektroporacji i jej wykorzystania w zwiększeniu wewnątrzkomórkowej zawartości substancji leczniczych, w tym przeciwnowotworowych.

Ponadto, współpracujemy w organizacji kolejnych edycji konferencji młodych naukowców „Wrocławskie Spotkania Naukowe” (WSN) i innych spotkań naukowych.

Artykuły i abstrakty będące efektem współpracy:

Kulbacka Julita, Rembiałkowska Nina, Szewczyk Anna, **Moreira Helena**, Szyjka Anna, Grela Kamil P. *[i in.]*: The impact of extracellular Ca²⁺ and nanosecond electric pulses on sensitive and drug-resistant human breast and colon cancer cells, *Cancers*, 2021, vol. 13, nr 13, art.3216 [17 s.]. DOI:10.3390/cancers13133216

Kulbacka Julita, Rembiałkowska Nina, Szewczyk Anna, **Moreira Helena**, Szyjka Anna *[i in.]*: Comparison of sub-microsecond calcium electroporation efficiency against doxorubicin-resistant and non-resistant human cancer cell lines, W: 3rd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies incorporating The 16th International Bioelectronics Symposium Bioelectronics 2019 and The Bio & Food Electrotechnologies (BFE) 2019 International Conference. Toulouse, France, 3-6 September, 2019. Program and book of abstracts, 2019, s.171-172 poz.OR-214

➤ **Współpraca z Katedrą Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego: prof. Agnieszką Piwowar, dr Ewą Sawicką i mgr Kamilą Boszkiewicz**

W ramach współpracy oceniamy wpływ metaloestrogenów i hiperglikemii na efektywność inhibitorów aromatazy wykorzystując model komórkowy hormonozależnego raka piersi. Badania są elementem projektu grantowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu pozyskanego na drodze konkursu, którego kierownikiem jest mgr Kamila Boszkiewicz.

Efektem dotychczasowej współpracy jest artykuł w indeksowanym czasopiśmie naukowym:

Boszkiewicz Kamila, **Moreira Helena**, Sawicka Ewa, Szyjka Anna, Piwowar Agnieszka: The effect of metalloestrogens on the effectiveness of aromatase inhibitors in a hormone-dependent breast cancer cell model, *Cancers*, 2023, vol. 15, nr 2, art.457 [18 s.]. DOI:10.3390/cancers15020457

Aktualne badania i zainteresowania

Głównym kierunkiem badań będących elementem moich aktualnych zainteresowań naukowych jest poszukiwanie nowych skutecznych strategii terapeutycznych opartych na substancjach bioaktywnych pozyskiwanych z konopii siewnych (*Cannabis sativa* L.). W ramach grantu Miniatura 5 z Narodowego Centrum Nauki badałam aktywność przeciwnowotworową oraz skuteczność w eliminacji nowotworowych komórek macierzystych dwóch terpenów konopnych: borneol i guaiol. Terpeny stanowią istotny składnik roślin konopii i wykazują szereg właściwości leczniczych w tym działanie przeciwnowotworowe. Odpowiadają także za wielokierunkowe właściwości tej rośliny, m.in. poprzez działania synergistyczne z kannabinoidami. Ponadto, terpeny mogą wzmacniać aktywność przeciwnowotworową znanych środków chemioterapeutycznych, a tym samym poprawiać efektywność terapii konwencjonalnej. Paclitaxel (Taxol®), oparta na terpenach cząsteczka, wyizolowana z *Taxus brevifolia*, używana od 1993 roku nadal odgrywa istotną rolę w terapii nowotworów. Poza terpenami, do istotnych związków bioaktywnych zawartych w konopiach należą fitokannabinoidy takie jak CBD (cannabidiol), CBG (cannabigerol), 8 Δ -THC (tetrahydrokannabinol) i CBT (cannabicitran). Fitokannabinoidy oddziałują na organizm między innymi poprzez układ endokannabinoidowy (ECS). Jednym z wielu zadań tego układu jest kontrolowanie układu pokarmowego, w tym funkcji jelit, nudności i wymiotów. Przypuszcza się, że przez jego pobudzenie można doprowadzić do śmierci komórek nowotworowych. Fitokannabinoidy, ze względu na działania przeciwwymiotne, przeciwzapalne, przeciwbólowe i pobudzające apetyt, mogą zrównoważyć skutki uboczne chemioterapii i radioterapii i tym być wykorzystywane w terapii wspomagającej leczenie nowotworów. Aktualnie, prowadzimy badania aktywności fitokannabinoidów we współpracy z firmą Biomi-Farm Sp. z o.o., Herbb Sp. z o.o. i DSc Christian D. Muller (IPHC, UMR 7178 Strasbourg, „Pearl BioSystem” Strasbourg). Związki te badane są pod kątem potencjału przeciwnowotworowego, bezpieczeństwa oraz mechanizmów cytotoksyczności, a także poprawy efektów leczenia nowotworów.

W najbliższym czasie planuję rozszerzenie prac badawczych o analizę mikropęcherzyków (EVs, Extracellular Vesicles) wydzielanych przez komórki nowotworowe. Tą tematykę badawczą będę rozwijała we współpracy z dr Alfonso Blanco-Fernandez z Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research University College Dublin w Irlandii. W ramach tych zainteresowań współorganizuję konferencję naukowo-szkoleniową pt. „Małe jest piękne” z udziałem wybitnych specjalistów zajmujących się tematyką mikropęcherzyków, która będzie miała miejsce w Bydgoszczy w dniach 23-24.11.2023r..

W centrum moich zainteresowań są również badania dotyczące chorób metabolicznych i hematologicznych. Planuję wspólnie z dr Lidią Gackowską z Collegium Medicum w Bydgoszczy złożyć projekt w ramach konkursów NCN, którego celem będzie ustalenie, czy obwodowe limfocyty (populacje i subpopulacje komórkowe) u dzieci i młodzieży z zespołem Downa wykazują oznaki przedwczesnego starzenia się i czy obserwowany polimorfizm trisomii 21 związany jest z zaburzeniami procesów aktywnej metylacji i demetylacji DNA.

Ponadto, będziemy badać poszukiwać związku pomiędzy „przedwczesnym starzeniem się” a zaburzeniem wybranych parametrów metabolizmu kostnego u tych pacjentów.

Ponadto, kontynuuję badania aktywności biologicznej i przeciwnowotworowej związków bioaktywnych pochodzenia roślinnego oraz związków z syntezy chemicznej z grupy pirydokarbazoli w ramach aktualnych współprac i prac doktorskich.

Udział w projektach badawczych

Byłam zaangażowana w realizację wielu projektów naukowych finansowanych zarówno ze źródeł zewnętrznych (w ramach konkursów NCN, NCBiR i MEiN), jak również źródeł wewnętrznych (projekty finansowane ze środków subwencyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, w tym przyznawane na drodze konkursu) w ramach których prowadziłam badania własne oraz badania będące przedmiotem współpracy z innymi grupami badawczymi.

W sumie uczestniczyłam w 5 zadaniach i grantach krajowych oraz 13 zadaniach subwencyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, w tym 1 konkursowym. Jestem w trakcie realizacji 2 zadań finansowanych ze środków subwencyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przyznawanych na drodze konkursu.

Pełny wykaz realizowanych projektów przed i po uzyskaniu stopnia doktora przedstawiłam w punkcie 9 i 15 załącznika 4.

Uzyskane nagrody i wyróżnienia naukowe

Za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej uzyskałam 3 nagrody JM Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, w tym 1 nagrodę zespołową I stopnia i 2 nagrody zespołowe II stopnia. Ponadto otrzymałam stypendium FRIDERIKA FISCHER FELLOWSHIP, przyznane w drodze konkursu przez International Cytokine Society na udział w konferencji pt. „Cytokines in health and disease” w ramach 15th Annual Meeting of the International Cytokine Society w San Francisco (USA).

Pełny wykaz uzyskanych nagród i wyróżnień zamieściłam w punkcie II.17. załącznika 4.

6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ

Działalność dydaktyczna

Dydaktyka stanowi istotną część mojej pracy zawodowej. Od 2011 roku prowadzę zajęcia dydaktyczne, w tym wykłady, ćwiczenia audytoryjne, seminaria, zajęcia praktyczne i zajęcia fakultatywne, z zakresu **anatomii, fizjologii i patofizjologii człowieka** dla studentów kierunku farmaceutycznego, analityki medycznej i dietetyki na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Ponadto, prowadzę wykłady z przedmiotu Fizjologia w ramach szkolenia podyplomowego „Studia Uzupełniające dla Osób Wykwalifikowanych” na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Opracowałam **autorski program zajęć fakultatywnych** z zakresu cytometrii przepływowej pt. **„Cytometria przepływowa w praktyce”** dla kierunku Analityka Medyczna. Byłam koordynatorem tych zajęć w latach 2016, 2017, 2019.

Współuczestniczę w nadzorowaniu jakości kształcenia na kierunku Analityka Medyczna.

- Od 2019 roku jestem członkiem **Rady Programowej dla kierunku Analityki Medycznej** na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
- W lipcu 2023 zostałam powołana jako członek **Kierunkowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku Analityka Medyczna** przez Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (zarządzenie nr 7/WF/2023 z dnia 4.07.2023r.)

Od 2018 roku jestem **opiekunem naukowym Studenckiego Koła Naukowego "Cytometrii przepływowej i badań biomedycznych"** (SKN nr. K174) działającego przy Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Pod moją opieką studenci SKN prowadzą prace badawcze i prezentują wyniki swoich badań na Konferencjach Naukowych. Studenci SKN prezentowali swoje prace na 22 konferencjach krajowych i zagranicznych, zdobywając w sumie 8 nagród i wyróżnień. Ponadto, studenci pod moim kierunkiem przygotowują artykuły poglądowe i naukowe, np. praca przeglądowa pt. „Transformacje nowotworowe komórek hematopoetycznych u osób z trisomią 21 chromosomu”, która ukazała się w recenzowanym czasopiśmie naukowym Postępy Biologii Komórki (IF=0.158, MNiSW = 20pkt). Kolejne publikacje są w trakcie przygotowywania.

W 2022 roku pełniłem rolę opiekuna i współopiekuna naukowego dwóch minigrantów studenckich pozyskanych w ramach Funduszu Aktywności Studenckiej FAST 2022 (program Miasta Wrocław zainicjowany przez Prezydenta Miasta):

- Pt. „Wpływ przebytej infekcji COVID-19 na komórki układu immunologicznego i ryzyko miażdżycy u dzieci z trisomią 21 w oparciu o zmiany subpopulacji komórek NK, Treg, MDSC oraz lipidogram.” – opiekun

- Pt. „Czy codzienne przyzwyczajenia żywieniowe mogą być induktorem chorób, którym towarzyszy mentalne osamotnienie? - badania in vitro neurotoksyczności związków glinu w rozwoju choroby Alzheimera w aspekcie protekcyjnego działania kofeiny i kawy kofeinowej” – współopiekun razem z dr. hab. Ewą Kratz prof. UMW i dr Izabelą Kokot.

Otrzymałam **NAGRODĘ REKTORA za opiekę nad organizacją studencką znajdującą się w pierwszej trójce w wydziałowym rankingu (II miejsce)**. Jest to nagroda indywidualna za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy dydaktycznej w roku 2021r..

Jestem promotorem pomocniczym rozprawy doktorskiej:

- **Lek. Gabrieli Chabowskiej** na temat: **„Ocena aktywności przeciwnowotworowej nowych związków z grupy pirydokarbazoli”**.
(uchwała Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 10 grudnia 2020r.).
Promotor: dr hab. Ewa Barg
Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
- **Mgr Marceliny Matusiak** na temat **"Modulowanie właściwości prozdrowotnych związków bioaktywnych pochodzących z kolorowych odmian malin z wykorzystaniem symbiotycznej kultury bakterii i drożdży (SCOBY)"**
(rozpoczęcie doktoratu od 1.10.2023r.)
Promotor: **dr hab. inż. Joanna Kolniak-Ostek, prof. UPWr**
Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Nutraceutyków Roślinnych Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Byłam promotorem 1 pracy licencjackiej i 11 prac magisterskich oraz recenzentem 24 prac magisterskich. Praca magisterska Justyny Gołuchowskiej-Grzesik „Badanie wpływu wybranych substancji pochodzenia naturalnego na nowotworowe komórki macierzyste” uzyskała wyróżnienie w konkursie na najlepszą pracę magisterską na Wydziale Farmaceutycznym w roku 2017/2018. Wyniki tej pracy studentka prezentowała na Konferencji naukowej NEO-STOP w Krakowie (2018r.) zajmując III miejsce.

W przeprowadzanej ankiecie **Studenckiej Oceny Nauczyciela Akademickiego (SONA)** w Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu **od wielu lat** otrzymuję ocenę powyżej 4.85.

W ramach doskonaenia kompetencji dydaktycznych uczestniczyłam w dwóch szkoleniach :

- W roku 2020 uzyskałam **Certyfikat Tutora** (Certyfikat nr STA-Z/441/I/2020/8), w ramach Ekspertckiego szkolenia z tutoring w Szkole Tutorów Akademickich Collegium Wratislaviense.
- W 2022 roku uzyskałam **Akredytację Tutorską** (nr świadectwa akredytacji: APT-Z/531/2022/13) w programie „Akredytowany Praktyk Tutoringu” Collegium Wratislaviense.

Działalność organizacyjna i popularyzująca naukę

W Katedrze Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, gdzie jestem zatrudniona od 1997r. kieruję pracami w dwóch pracowniach: **Pracowni Cytometrii przepływowej i pracowni Eksperymentalnych Badań Biomedycznych**. Pracownię cytometrii przepływowej prowadzę od początku jej powstania w roku 2011, kiedy razem z Profesorem Kazimierzem Gąsiorowskim, ówczesnym Kierownikiem Katedry, nawiązaliśmy współpracę z Profesorem Wolfgang Göhde założycielem niemieckiej firmy Partec GmbH (Münster, Niemcy). Firma Partec (aktualnie Sysmex-Partec) zajmuje się konstrukcją i dostarczaniem cytometrów przepływowych i opracowywaniem nowych rozwiązań cytometrycznych, w tym np. do diagnostyki HIV i malarii, które kierowane są m.in. do krajów afrykańskich. Pracownia Cytometrii przepływowej, którą kieruję wyposażona jest w dwa cytometry firmy Partec: CyFlow Space i CyFlow Cube 8. W ramach współpracy z Profesorem Wolfgang Göhde Pracownia podjęła funkcję ośrodka referencyjnego dla użytkowników cytometrów przepływowych firmy Partec oraz potencjalnych nabywców tych aparatów. W tym zakresie przeprowadzam pokazy demonstracyjne, zapewniam wsparcie merytoryczne polegające na rozwiązywaniu problemów i poszukiwaniu nowych rozwiązań, oraz organizuję warsztaty cytometryczne. Te działania w początkowym okresie były realizowane we współpracy z firmą ALAB sp. z o.o (Warszawa), która była dystrybutorem rozwiązań cytometrycznych firmy Partec na terenie Polski i następnie od 2014r. z firmą Sysmex sp. z o.o, która aktualnie jest właścicielem rozwiązań cytometrycznych firmy Partec. Ponadto, w ramach organizacji prac w Pracowni Cytometrii przepływowej opracowuję i wdrażam nowe metody analizy cytometrycznej wykorzystywane w pracach badawczych Katedry i w pracach badawczych realizowanych w zakresie prowadzonych współprac, organizuję pokazy cytometryczne, szkolę pracowników naukowych, doktorantów, stażystów i studentów. Również, prowadziłam przygotowania Pracowni do certyfikacji GLP (Good Laboratory Practice), opracowując i wdrażając procedury SOP (Standard Operating Procedure) .

Brałam czynny udział w organizacji **Centrum Badawczo-Wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych** działającego w Katedrze Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Centrum powstało w ramach programu RID („Regionalna Inicjatywa Doskonałości”) pt. „Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu jako Regionalny Ośrodek Doskonałości w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu” (RID.Z500.19.001; projekt MNiSW nr 016/RID/2018/19). Moje działania w tym zakresie obejmowały tworzenie i wdrażanie procedur - SOP’ów (Standard Operating Procedure) do certyfikacji GLP (ang. Good Laboratory Practice Dobrej - Praktyki Laboratoryjnej) i GMP (ang. Good Manufacturing Practice - Dobrej Praktyki Wytwarzania) oraz prowadzeniu dokumentacji na potrzeby Centrum. Odbyłam liczne szkolenia z zakresu: zasad i higieny pracy w pomieszczeniach typu Clean room, audytu wewnętrznego na potrzeby GMP, analiz ryzyka, dokumentacji i wymagań systemu zarządzania jakością (SZJ) dla GMP, GLP i BTiK (Bank Tkanek i Komórek), regulacji prawnych w GLP, GMP dla produktów ATMP (ang. Advanced Therapy Medicinal Product, produkty lecznicze terapii zaawansowanej) i HE-ATMP (ang. Advanced Therapy Medicinal Products-Hospital Exemption, produkty lecznicze terapii zaawansowanej – wyjątek szpitalny).

Wykaz odbytych w tym zakresie szkoleń zamieściłam w punkcie II.17.2. załącznika 4.

Ponadto, brałam udział w pracach badawczych prowadzonych w ramach działalności Centrum Badawczo - Wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych w zakresie:

- izolacji, hodowli, identyfikacji komórek macierzystych izolowanych z miazgi zębów i opracowywania modelu produktu leczniczego na bazie scaffoldów kolagenowych i kostnych. (aplikacja kliniczna: stomatologia). Realizacja grantu: „Opracowanie metody pozyskiwania i izolacji mezenchymatycznych komórek zrębu (MSCs) z zębów na potrzeby regeneracji ubytków kostnych w stomatologii”. [POIR.B040.20.002; projekt NCBiR nr POIR.04.01.01-00-0006/19-00]. Prace we współpracy z prof. dr hab. Marzeną Dominiak i prof. dr hab. Tomaszem Gedrange (omówione w punkcie 5.2.3. Autoreferatu).
- pracach wstępnych dotyczących izolacji, hodowli i identyfikacji glejowych komórek węchowych (aplikacja kliniczna: neurochirurgia) na potrzeby projektu WROCLAW WALK AGAIN. Prace we współpracy z prof. Pawłem Tabakowem, kierownikiem Kliniki Neurochirurgii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu i dr n. med. Wojciechem Fortuną z Kliniki Neurochirurgii Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu. Projekt „Wrocław Walk Again” jest kontynuacją nowatorskiej eksperymentalnej terapii rekonstrukcji przerwanego rdzenia kręgowego przy użyciu komórek glejowych pobranych z opuszki węchowej oraz wszczepów z nerwów obwodowych.

W zakresie popularyzacji nauki od 2014r. współorganizuję oraz prowadzę prelekcje i warsztaty w ramach **Dolnośląskiego Festiwalu Nauki (DFN) i Dni Otwartych Uniwersytetu Medycznego**. W sumie w latach 2014-2022 poprowadziłam 16 spotkań z okazji DFN oraz 1 warsztaty w ramach Dni Otwartych Wydziału Farmaceutycznego.

Inne działania dotyczące popularyzacji nauki:

- wygłosiłam 8 referatów na konferencjach i szkoleniach krajowych i międzynarodowych (wykaz w punkcie II.7.2. załącznika 4)
- jestem współautorem 37 doniesień konferencyjnych prezentowanych na konferencjach krajowych i zagranicznych, w tym dwóch prezentacji ustnych (wykaz w punkcie II.7.2. załącznika 4)
- byłam głównym współorganizatorem kolejnych edycji międzynarodowych szkoleń i konferencji naukowo-szkoleniowych z zakresu cytometrii przepływowowej we współpracy z Katedrą Immunologii Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz Excyte (Expert Cytometry, USA). Wszystkie szkolenia odbywają się z udziałem wybitnych specjalistów europejskich: dr Alfonso Blanco University College Dublin w Irlandii, dr Raif Yücel University of Exeter w Anglii oraz Michał Maj University of Oxford w Anglii. (wykaz w punkcie II.7.2. załącznika 4)

- byłam organizatorem i współorganizatorem 4 szkoleń krajowych z zakresu cytometrii przepływowej (wykaz w punkcie II.7.2. załącznika 4)
- byłam trzykrotnie członkiem komitetów organizacyjnych i naukowych kolejnych edycji konferencji międzynarodowej „Wroclaw Scientific Meetings”. Jestem członkiem komitetu organizacyjnego i naukowego piątej edycji tej konferencji, która odbędzie się w dniach 19-21.10.2023 oraz poprowadzę warsztaty cytometryczne zakończone certyfikatem z przyznanymi punktami edukacyjnymi dla diagnostów laboratoryjnych, farmaceutów i lekarzy. Ponadto pełnię funkcję wolontariusza na konferencjach zagranicznych European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA). (wykaz w punkcie II.7.2. załącznika 4)
- jestem członkiem Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL), Polskiego Towarzystwa Cytometrii (PTC), Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych (PTDL), International Society for Advancement of Cytometry (ISAC). (wykaz w punkcie II.10. załącznika 4)
- w roku 2022 pełniłam funkcję redaktora gościnnego w czasopiśmie Oxidative Medicine and Cellular Longevity, w wydaniu specjalnym „Redox Status, Inflammation, and Immunity in Metabolic Disorders and Chronic Autoimmune Inflammatory Diseases” opublikowanego 1 grudnia 2022 r. (wykaz w punkcie II.12. załącznika 4)
- byłam recenzentem 15 manuskryptów w renomowanych czasopismach zagranicznych oraz 2 manuskryptów do polskiego czasopisma (wykaz w punkcie II.13. załącznika 4)

7. OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE Podać INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ.

- Od początku swojej pracy naukowej regularnie uczestniczę w krajowych i zagranicznych konferencjach oraz warsztatach i kursach poświęconych tematom mojego obszaru naukowego. Nieustannie dążę do podnoszenia moich kwalifikacji zawodowych i dydaktycznych. Ukończyłam 3 studia podyplomowe: studia z zakresu farmakologii i farmako-chemii (DEA en pharmacologie et pharmaco-chimie), studia uprawniające do prac badawczych z udziałem zwierząt (DU Expérimentation animale niveau I), studia dotyczące nauk politycznych (DESS „Politiques Publique en Europe”), dzięki którym zdobyłam wiedzę między innymi na temat pozyskiwania funduszy na cele badawcze. Ponadto ukończyłam szkołę online - Mastery Class Expert Cytometry (organizator: Expert Cytometry, USA) podnosząc swoje kwalifikacje w dziedzinie cytometrii przepływowej.
- Byłam dwukrotnie członkiem Komisji Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich na Kierunku Analityka Medyczna (2018r. i 2019r.), członkiem Komisji przetargowej (2012r.).

- W ocenie okresowej Adiunkta uzyskałam **ocenę wyróżniającą** za okres 01.01.2016 – 31.12.2019 (91.43% za działalność naukową, 64.08% za działalność dydaktyczną i 70% za działalność organizacyjną). W ostatniej ocena za lata 01.10.2020 – 31.12.2021 uzyskałam 92.5% za działalność naukową, 50,57% za działalność dydaktyczną i 30% za działalność organizacyjną i 90% w ocenie Kierownika.
- **Współpraca z sektorem gospodarczym.** Od wielu lat współpracuję z firmami zajmującymi się rozwiązaniami cytometrycznymi. W ramach tych współprac organizujemy i prowadzimy szkolenia aplikacyjno-naukowe, wymieniamy się wiedzą i doświadczeniem. Ponadto, udzielam wsparcia merytorycznego, prowadzę konsultacje i ekspertyzy oraz testuję nowe rozwiązania techniczne. Współpraca dotyczy aplikacji naukowych i diagnostycznych, w tym również wykorzystania cytometrii przepływowej w badaniach mikrobiologicznych. Ponadto, współpracuję z firmą bio-farmaceutyczną (**Biomi-Farm Sp. z o.o.**) w zakresie badań działania przeciwnowotworowego fitozwiązków (kannabinoidów) i ich potencjalnego zastosowania w terapiach przeciwnowotworowych. Planujemy rozwinięcie współpracy naukowo-badawczej o analizy i standaryzacje wyciągów z surowców zielarskich, m.in. Mierznicy czarnej *Ballota nigra*, Chmielu zwyczajnego *Humulus lupulus* i Konopi włóknistej *Cannabis sativa* oraz badania ich potencjału leczniczego (działanie uspokajające, przeciwzapalne, przeciwbólowe, antynowotworowe). Obecnie przygotowujemy umowę współpracy i projekt badawczy, który będzie realizowany w ramach doktoratu wdrożeniowego. (wykaz firm w punkcie III.2. załącznika 4)



.....
(podpis wnioskodawcy)



WYKAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, STANOWIĄCYCH ZNACZNY WKŁAD W ROZWÓJ OKREŚLONEJ DYSCYPLINY

Spis treści

I. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY.....	3
Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b ustawy:.....	3
Tytuł osiągnięcia naukowego	3
Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.....	3
II. WYKAZ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ	5
1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).	5
2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.....	5
3. Wykaz członkostwa w redakcjach naukowych monografii	5
4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).....	5
5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).	9
6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).	9
7. Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.....	10
8. Wykaz udziału w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.....	17
9. Wykaz uczestnictwa 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.....	19
10. Wykaz członkostwa w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.....	21
11. Wykaz staży w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.....	21
12. Wykaz członkostwa w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).	22

13. Wykaz recenzowanych prac naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopiśmie międzynarodowych.	23
14. Wykaz uczestnictwa w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.....	23
15. Wykaz udziału w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.	23
16. Wykaz uczestnictwa w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.	25
17. Inne wykazy aktywności naukowej nie ujęte w punktach II.1-II.16.....	25
17.1. Wykaz uzyskanych nagród i wyróżnień naukowych.....	25
17.2. Wykaz odbytych szkoleń z zakresu dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP) i dobrej praktyki wytwarzania (GMP).....	26
III. WSPÓLPRAC Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM.....	26
1. Wykaz dorobku technologicznego.	26
2. Współpraca z sektorem gospodarczym.	26
3. Wykaz uzyskanych praw własności przemysłowej, w tym uzyskanych patentów krajowych lub międzynarodowych.	27
4. Wykaz wdrożonych technologii.	27
5. Wykaz wykonanych ekspertyz lub innych opracowań wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.....	28
6. Wykaz udziału w zespołach eksperckich lub konkursowych.....	28
7. Wykaz projektów artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi. ...	28
IV. DANE NAUKOMETRYCZNE.....	28
1. Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny).....	28
2. Liczba cytowań publikacji z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.	28
3. Indeks Hirscha.	28

I. WYKAZ OSIĄGNIĘĆ 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 ustawy:

Tytuł osiągnięcia naukowego

Działanie wybranych związków naturalnych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego - badania *in vitro*.

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 6 pełnotekstowych, powiązanych tematycznie prac naukowych, w tym czterech oryginalnych artykułów naukowych i dwóch artykułów przeglądowych. Wszystkie opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych.

Łączna wartość punktacji KBN/MEiN: 540,0

Wartość wskaźnika IF: 21,981

Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

H-1. Helena Moreira*, Anna Szyjka, Kazimierz Gąsiorowski

Chemopreventive activity of celastrol in drug-resistant human colon carcinoma cell cultures
Oncotarget, 2018;9(30):21211-21223, doi:10.18632/oncotarget.25014

MEiN: 40 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-2. Helena Moreira*, Anna Szyjka, Kamila Paliszkiewicz, Ewa Barg

Prooxidative activity of celastrol induces apoptosis, DNA damage, and cell cycle arrest in drug-resistant human colon cancer cells

Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019;2019:6793957 [12s.],
doi:10.1155/2019/6793957

Impact Factor: 5,076; MEiN: 100 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-3. Helena Moreira*, Anna Szyjka, Justyna Grzesik, Katarzyna Pelc, Magdalena Żuk, Anna Kulma, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller, Kazimierz Gąsiorowski, Ewa Barg
Celastrol and resveratrol modulate *SIRT* genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells

Cancers, 2022;14(6):1372 [18 s.], doi:10.3390/cancers14061372

Impact Factor: 6,575; MEiN: 140 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-4. Anna Radajewska^{#*}, **Helena Moreira**^{#*}, Dorota Bęben, Oliwia Siwiela, Anna Szyjka, Katarzyna Gębczak, Paulina Nowak, Jakub Frąszczak, Fathi Emhemmed, Christian D. Muller and Ewa Barg

Combination of irinotecan and melatonin with natural compounds – wogonin and celastrol for colon cancer treatment.

International Journal of Molecular Sciences, 2023; 24: 9544 [21s.],

doi.org/10.3390/ijms24119544

Impact Factor: 6,208; MEiN: 140 pkt

#równorzędny pierwszy autor

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w opracowaniu koncepcji badania, wykonaniu części badań, przeprowadzeniu analiz statystycznych, interpretacji wyników badań, współredakcji pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-5. Helena Moreira*, Ewa Barg

Cancer stem cells - current knowledge and targeting with natural compounds

Postępy Biologii Komórki, 2019;46(1):43-62 j

Impact Factor: 0,163; MEiN: 20 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i przeprowadzeniu analizy piśmiennictwa, przygotowaniu pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

H-6. Anna Radajewska, Oskar Przybyszewski, Fathi Emhemmed, Christian D., Muller Ewa Barg*, **Helena Moreira***

Three dimensional in vitro culture systems in anticancer drug discovery targeted on cancer stem cells

American Journal of Cancer Research, 2021;11(10):4931-4946

Impact Factor: 5,942; MEiN: 100 pkt

***autor korespondencyjny**

Mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współpracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i przeprowadzeniu analizy piśmiennictwa, współredakcji pierwszej wersji manuskryptu, modyfikacji artykułu zgodnie z sugestiami recenzentów.

II. WYKAZ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).

– brak

2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

– brak

3. Wykaz członkostwa w redakcjach naukowych monografii

– brak

4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).

PRACE WYKONANE PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

- w czasopismach posiadających „impact factor”

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty ministerialne
1	Ribeiro Nigel, Tabaka Helena , Peluso Jean, Fetzer Ludivine, Nebigil Can, Dumont Serge, Muller Christian D., Desaubry Laurent: Synthesis of 3-O-methylviridicatin analogues with improved anti-TNF-alpha properties, <i>Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters</i> , 2007, vol. 17, nr 20, s. 5523-5524	2,604	24

- w czasopismach bez „impact factor”

Lp.	Opis bibliograficzny	Punkty ministerialne
1	Gąsiorowski Kazimierz, Brokos Barbara, Tabaka Helena : Evaluation of the immunomodulatory activity of four compounds exerting antimutagenic effects on human lymphocytes in vitro, <i>Cellular & Molecular Biology Letters</i> , 2000, vol. 5, nr 4, s. 469-481	4
2	Gąsiorowski Kazimierz, Tabaka Helena , Działo E., Noculak-Palczewska Alicja, Lamer-Zarawska Eliza: In vitro immunomodulatory activity of the methanolic-water extract from Chinese wolfberry fruits (<i>Lycium chinense</i> Mill.), <i>Herba Polonica</i> , 2003, vol. 49, nr 3/4, s. 222-228	2
3	Noculak-Palczewska Alicja, Matkowski Adam, Gąsiorowski Kazimierz, Tabaka Helena , Oszmiański Jan, Lamer-Zarawska Eliza: Chemical characterisation of methanolic-water extracts from the fruit of acclimated <i>Lycium chinense</i> Mill, <i>Herba Polonica</i> , 2004, vol. 50, nr 1, s. 47-53	2

- prace poglądowe w czasopismach posiadających „impact factor”

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty ministerialne
1	Peluso Jean, Tabaka-Moreira Helena , Taquet Nathalie, Dumont Serge, Muller Christian D., Reimund Jean-Marie: Can flow cytometry play a part in cell based high-content screening?, Cytometry Part A, 2007, vol. 71, nr 11, s. 901-904	2,978	10

PRACE WYKONANE PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA**- w czasopismach posiadających „impact factor”**

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty ministerialne
1	Moreira-Tabaka Helena , Peluso Jean, Vonesch Jean-Luc, Hentsch Didier, Kessler Pascal, Reimund Jean-Marie, Dumont Serge, Muller Christian D.: Unlike for human monocytes after LPS activation, release of TNF- α by THP-1 cells is produced by a TACE catalytically different from constitutive TACE, PLoS ONE, 2012, vol. 7, nr 3, art.e34184 [12 s.]	3,73	40
2	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz Karolina, Gębarowski Tomasz, Kulma Anna, Moreira Helena , Kostyn Kamil, Gębczak Katarzyna, Szyjka Anna, Wojtasik Wioletta, Gąsiorowski Kazimierz: Emulsions made of oils from seeds of GM flax protect V79 cells against oxidative stress, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, vol. 2016, art.ID 7510759 [12 s.], DOI:10.1155/2016/7510759	4,593	30
3	Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Wiatrak Benita, Wojtasik Wioletta, Kulma Anna, Szopa Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of fabrics from transgenic flax plant on human dermal fibroblasts in vitro proliferation, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, vol. 74, nr 2, s. 642-652	0,531	15
4	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Conditions of prooxidant activity of cistus and pomegranate polyphenols in V79 cell cultures, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, vol. 74, nr 2, s. 670-678	0,531	15
5	Moreira Helena , Ślęzak Aleksandra, Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Antioxidant and cancer chemopreventive activities of cistus and pomegranate polyphenols, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, vol. 74, nr 2, s. 688-698	0,531	15
6	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Kulma Anna, Gębarowski Tomasz, Wojtasik Wioletta, Kostyn Kamil, Moreira Helena , Szyjka Anna, Boba Aleksandra, Preisner Marta, Mierziak Justyna, Arendt Małgorzata, Kostyn Anna, Szatkowski Michał, Szopa Jan, Gąsiorowski Kazimierz: V79 fibroblasts are protected against reactive oxygen species by flax fabric, Applied Biochemistry and Biotechnology, 2018, vol. 184, nr 1, s. 366-385, DOI:10.1007/s12010-017-2552-y	2,14	25

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty ministerialne
7	Gąsiorowski Kazimierz, Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Kulma Anna, Szatkowski Michał, Szopa Jan: Impact of fabrics from transgenic flax on cultures of skin cells, <i>Advances in Clinical and Experimental Medicine</i> , 2019, vol. 28, nr 4, s. 431-438, DOI:10.17219/acem/92563	1,514	70
8	Moreira Helena , Szyjka Anna, Paliszkiewicz Kamila, Barg Ewa: Prooxidative activity of celastrol induces apoptosis, DNA damage, and cell cycle arrest in drug-resistant human colon cancer cells, <i>Oxidative Medicine and Cellular Longevity</i> , 2019, vol. 2019, art.6793957 [12 s.], DOI:10.1155/2019/6793957	5,076	100
9	Dejnek Maciej, Moreira Helena , Płaczowska Sylwia, Morasiewicz Piotr, Barg Ewa, Witkowski Jarosław, Reichert Paweł: Analysis and comparison of autologous platelet-rich plasma preparation systems used in the treatment of enthesopathies: a preliminary study, <i>Advances in Clinical and Experimental Medicine</i> , 2021, vol. 30, nr 7, s. 757-764, DOI:10.17219/acem/135045	1,736	70
10	Kulbacka Julita, Rembiałkowska Nina, Szewczyk Anna, Moreira Helena , Szyjka Anna, Girkontaitė Irutė, Grela Kamil P., Novickij Vitalij: The impact of extracellular Ca ²⁺ and nanosecond electric pulses on sensitive and drug-resistant human breast and colon cancer cells, <i>Cancers</i> , 2021, vol. 13, nr 13, art.3216 [17 s.], DOI:10.3390/cancers13133216	6,575	140
11	Dziadkowiak Edyta, Moreira Helena , Buska-Mach Katarzyna, Szmyrka Magdalena, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Janik Marta, Pokryszko-Dragan Anna: Occult autoimmune background for epilepsy - the preliminary study on antibodies against neuronal surface antigens, <i>Frontiers in Neurology</i> , 2021, vol. 12, art.660126 [7 s.], DOI:10.3389/fneur.2021.660126	4,086	100
12	Dziadkowiak Edyta, Moreira Helena , Wieczorek Małgorzata, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Koszewicz Magdalena: Correlations between electrophysiological parameters, lymphocyte distribution and cytokine levels in patients with chronic demyelinating inflammatory polyneuropathy, <i>Journal of Personalized Medicine</i> , 2021, vol. 11, nr 8, art.766 [13 s.], DOI:10.3390/jpm11080766	3,508	70
13	Chabowska Gabriela, Moreira Helena , Tylińska Beata, Barg Ewa: S16020 pyridocarbazole derivatives display high activity to lung cancer cells, <i>Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry</i> , 2022, vol. 22, nr 13, s. 2419-2428, DOI:10.2174/1871520621666211214104926	2,8	70
14	Moreira Helena , Szyjka Anna, Grzesik Justyna, Pelc Katarzyna, Żuk Magdalena, Kulma Anna, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Gąsiorowski Kazimierz, Barg Ewa: Celastrol and resveratrol modulate SIRT genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells, <i>Cancers</i> , 2022, vol. 14, nr 6, art.1372 [18 s.], DOI:10.3390/cancers14061372	5,2	140
15	Hetman Marta, Moreira Helena , Barg Ewa: The best tool for the assessment of developmental disorders in children with down syndrome: comparison of standard and specialized growth charts - cross sectional study, <i>Frontiers in Endocrinology</i> , 2022, vol. 13, art.928151 [11 s.], DOI:10.3389/fendo.2022.928151	5,2	100

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty ministerialne
16	Kolniak-Ostek Joanna, Oszmiański Jan, Szyjka Anna, Moreira Helena , Barg Ewa: Anticancer and antioxidant activities in Ganoderma lucidum wild mushrooms in Poland, as well as their phenolic and triterpenoid compounds, International Journal of Molecular Sciences, 2022, vol. 23, nr 16, art.9359 [15 s.], DOI:10.3390/ijms23169359	5,6	140
17	Dejnek Maciej, Moreira Helena , Płaczkowska Sylwia, Barg Ewa, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Effectiveness of lateral elbow tendinopathy treatment depends on the content of biologically active compounds in autologous platelet-rich plasma, Journal of Clinical Medicine, 2022, vol. 11, nr 13, art.3687 [19 s.], DOI:10.3390/jcm11133687	3,9	140
18	Boszkiewicz Kamila, Moreira Helena , Sawicka Ewa, Szyjka Anna, Piwowar Agnieszka: The effect of metalloestrogens on the effectiveness of aromatase inhibitors in a hormone-dependent breast cancer cell model, Cancers, 2023, vol. 15, nr 2, art.457 [18 s.], DOI:10.3390/cancers15020457	5,2*	140
19	Radajewska Anna, Moreira Helena , Bęben Dorota, Siwiela Oliwia, Szyjka Anna, Gębczak Katarzyna, Nowak Paulina, Frąszczak Jakub, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Barg Ewa: Combination of irinotecan and melatonin with the natural compounds wogonin and celastrol for colon cancer treatment, International Journal of Molecular Sciences, 2023, vol. 24, nr 11, art.9544 [21 s.], DOI:10.3390/ijms24119544	5,6*	140

* IF 2022

- w czasopismach bez „impact factor”

Lp.	Opis bibliograficzny	Punkty ministerialne
1	Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Aktywność antyoksydacyjna soku i polifenoli z jagód aronii w hodowlach komórek linii V79, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, vol. 48, nr 3, s. 322-327	6
2	Moreira Helena , Gębarowski Tomasz, Szyjka Anna, Flank Magda, Gąsiorowski Kazimierz: Wpływ bajkaleiny i wogoniny na liczebność populacji bocznej w komórkach raka piersi i raka jelita grubego, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, vol. 48, nr 3, s. 467-472	6
3	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz Karolina, Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Gębczak Katarzyna, Kulma Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Prozdrowotne działania olejów z lnu. Wnioski z badań w hodowlach komórkowych, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, vol. 48, nr 3, s. 522-527	6
4	Moreira Helena , Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Chemopreventive activity of celastrol in drug-resistant human colon carcinoma cell cultures, Oncotarget, 2018, vol. 9, nr 30, s. 21211-21223, DOI:10.18632/oncotarget.25014 prooxid	40
5	Dejnek Maciej, Witkowski Jarosław, Moreira Helena , Płaczkowska Sylwia, Morasiewicz Piotr, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Content of blood cell components, inflammatory cytokines and growth factors in autologous platelet-rich plasma obtained by various methods, World Journal of Orthopaedics, 2022, vol. 13, nr 6, s. 587-602, DOI:10.5312/wjo.v13.i6.587	140

Lp.	Opis bibliograficzny	Punkty ministerialne
6	Dejnek Maciej, Moreira Helena , Płaczowska Sylwia, Barg Ewa, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Leukocyte-rich platelet-rich plasma as an effective source of molecules that modulate local immune and inflammatory cell responses, <i>Oxidative Medicine and Cellular Longevity</i> , 2022, vol. 2022, art.8059622 [10 s.], DOI:10.1155/2022/8059622	100
7	Dziadkowiak Edyta, Baczyńska Dagmara, Wieczorek Małgorzata, Olbromski Mateusz, Moreira Helena , Mrozowska Monika, Budrewicz Sławomir, Dzięgiel Piotr, Barg Ewa, Koszewicz Magdalena: miR-31-5p as a potential circulating biomarker and tracer of clinical improvement for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, <i>Oxidative Medicine and Cellular Longevity</i> , 2023, vol. 2023, art.2305163 [11 s.], DOI:10.1155/2023/2305163	100

- prace poglądowe w czasopismach posiadających „impact factor”

Lp.	Opis bibliograficzny	IF	Punkty ministerialne
1	Moreira Helena , Barg Ewa: Cancer stem cells - current knowledge and targeting with natural compounds, <i>Postępy Biologii Komórki</i> , 2019, vol. 46, nr 1, s. 43-62	0,163	20
2	Czyż Anna, Król Magdalena, Przybyszewski Oskar, Radajewska Anna, Moreira Helena , Barg Ewa: Transformacje nowotworowe komórek hematopoetycznych u osób z trisomią 21 chromosomu, <i>Postępy Biologii Komórki</i> , 2019, vol. 46, nr 2, s. 111-127	0,163	20
3	Radajewska Anna, Przybyszewski Oskar, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Barg Ewa, Moreira Helena : Three dimensional in vitro culture systems in anticancer drug discovery targeted on cancer stem cells, <i>American Journal of Cancer Research</i> , 2021, vol. 11, nr 10, s. 4931-4946	5,942	100
4	Moreira Helena , Dobosz Agnieszka, Cwynar-Zajac Łucja, Nowak Paulina, Czyżewski Marek, Barg Marta, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra, Barg Ewa: Unraveling the role of Breg cells in digestive tract cancer and infectious immunity, <i>Frontiers in Immunology</i> , 2022, vol. 13, art.981847 [15 s.], DOI:10.3389/fimmu.2022.981847	7,3	140

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

– brak

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

– brak

7. Wykaz wystąpień na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
1	Ślesak Barbara, Pyra-Rzeszutko Marta, Tabaka Helena: Ocena ekspresji onkoproteiny c-erbB-2 w rakach i stanach zapalnych żołądka, W: XXX Konferencja PTHC [Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików]. Wrocław, 7-9 września 1995 r. Streszczenia referatów 1995, s. 113 (prezentacja plakatowa)	1995
2	Tabaka-Moreira Helena, Peluso Jean, Dumont Serge, Muller Christian D.: Is TACE the only effective TNF-alpha releasing protease on THP-1 cells?, Cytokine, 2007, vol. 39, nr 1, 41-42 poz.150, [16th Annual Meeting of the International Cytokine Society "Cytokines in health and disease". San Francisco, 26-30 October 2007] (prezentacja plakatowa)	2007
3	Peluso J., Tabaka-Moreira Helena, Taquet N., Dumont S., Reimund J.M., Muller C.D.: Innovative cell based high-content screening (HCS) by microcapillary cytometry as a pharmacological tool in anti-inflammatory drug discovery, Cytometry Part A, 2007, vol. 71, nr 7, 518 poz.L18, [12. Leipziger Workshop Cytomics and Translational Medicine. Leipzig, Germany, 19-21 April 2007] (prezentacja plakatowa)	2007

PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Wygłoszone referaty na konferencjach i szkoleniach krajowych i międzynarodowych

- „Podstawy zjawiska fluorescencji i jego zastosowanie w badaniach biologicznych i medycznych. Barwniki fluorescencyjne.” Spotkanie naukowo - szkoleniowe “Zastosowanie fluorescencji w badaniach naukowych.” Politechnika Krakowska, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Kraków 5.06.2013r (**wykład na zaproszenie**)
- „Cytometria przepływowa - specjalistyczne narzędzie do wieloparametrowej analizy pojedynczej komórki.” Spotkanie naukowo - szkoleniowe “Zastosowanie fluorescencji w badaniach naukowych.” Politechnika Krakowska, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Kraków 5.06.2013r (**wykład na zaproszenie**)
- „Celastrol for chemoprevention of multidrug-resistant colon carcinoma.” I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Człowiek - żywność - zdrowie”. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, 11-12.03.2016 (**prezentacja ustna**)

- „Effects of selected plant polyphenols on *SIRT* gene expression and antitumor activity in cultures of colorectal cancer cells.” 12th International Conference on Cancer Stem Cells and Oncology Research, Valencia, Spain, 18-19.07.2019 (**prezentacja ustna**)
- „Hodowle komórek nowotworowych jako podstawowe narzędzie do badań.” Szkoła cytometrii „Cytometria przepływowa - podstawowe narzędzie badawcze.” Collegium Medicum, Bydgoszcz, 14-18.02.2022 (**wykład na zaproszenie**)
- „Komórki macierzyste.” Szkoła cytometrii „Cytometria przepływowa - podstawowe narzędzie badawcze.” Collegium Medicum, Bydgoszcz, 14-18.02.2022 (**wykład na zaproszenie**)
- „Nowotworowe komórki macierzyste (NKM): izolacje i hodowle NKM, określanie frakcji tzw. populacji bocznej (side population), ekspresja markerów powierzchniowych NKM.” Interaktywna konferencja cytometryczna „Cytometria przepływowa - chcę wiedzieć więcej.” Immbionic, Bydgoszcz, 19-20.02.2022 r. (**wykład na zaproszenie**)
- „Mezenchymalne komórki macierzyste z miazgi zębowej (DPSC): izolacje i hodowle DPSC, ekspresja markerów powierzchniowych DPSC.” Interaktywna konferencja cytometryczna „Cytometria przepływowa - chcę wiedzieć więcej.” Immbionic, Bydgoszcz, 19-20.02.2022 r. (**wykład na zaproszenie**)

Udział w konferencjach krajowych i międzynarodowych

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
1	Gąsiorowski Kazimierz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański J.: Cytofluorimetric analysis of chemosensitizing effect of two chemopreventive compounds on human leukemic cell line, W: X Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa "Przewlekłe choroby mielo- i limfoproliferacyjne"; I Krajowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Cytometrii; III Konferencja Immunologia i Immunoterapia. Kazimierz Dolny, 12-15 maja 2010. Streszczenia 2010, s. 50 (prezentacja plakatu)	2010
2	Moreira Helena , Gąsiorowski Kazimierz, Szyjka Anna: Badanie wpływu celastrolu na ekspresję i funkcję glikoproteiny P, W: II Zjazd Polskiego Towarzystwa Cytometrii. Kazimierz Dolny, 7-8 września 2012 r. Streszczenia 2012, s. 38 (prezentacja plakatu)	2012
3	Gębarowski Tomasz, Gąsiorowski Kazimierz, Moreira Helena , Gębczak Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz K., Szopa J.: Wpływ emulsji otrzymanych z olejów z odmian transgenicznych lnu na proliferację i generowanie rodników szeregu tlenowego przez fibroblasty i monocyty w hodowlach, W: Poznańskie Dni Cytometrii i Immunopatologii. Poznań, 16-17 maja 2013 r. Program, streszczenia, Poznań 2013, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, s. 28, ISBN 978-83-7597-204-7 (prezentacja plakatu)	2013

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
4	Moreira Helena , Gąsiorowski Kazimierz, Skórniak A., Gębarowski Tomasz: Badania właściwości chemoprewencyjnych celastrolu, W: Poznańskie Dni Cytometrii i Immunopatologii. Poznań, 16-17 maja 2013 r. Program, streszczenia, Poznań 2013, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, s. 45, ISBN 978-83-7597-204-7 (prezentacja plakatowa)	2013
5	Gąsiorowski Kazimierz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Stąsiek K.: Ocena wpływu Celastrolu na liczebność nowotworowych komórek macierzystych, W: III Zjazd Polskiego Towarzystwa Cytometrii. Kazimierz Dolny, 17-19 września 2014 r. Streszczenia [CD-ROM] 2014, [15-16] (prezentacja plakatowa)	2014
6	Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański J., Gąsiorowski Kazimierz: Aktywność antyoksydacyjna soku i polifenoli z jagód aronii w hodowlach komórek linii V79, W: XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka". Wrocław, 17-18 wrzesień 2015. Program i streszczenia 2015, 119 poz.PD4 (prezentacja plakatowa)	2015
7	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz K., Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Gębczak Katarzyna, Kulma A., Szopa J., Gąsiorowski Kazimierz: Prozdrowotne działania olejów z lnu wnioski z badań w hodowlach komórkowych, W: XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka". Wrocław, 17-18 wrzesień 2015. Program i streszczenia 2015, 120 poz.PD5 (prezentacja plakatowa)	2015
8	Moreira Helena , Gębarowski Tomasz, Szyjka Anna, Flank M., Gąsiorowski Kazimierz: Wpływ bajkaleiny i wogoniny na liczebność populacji bocznej/SP w komórkach raka piersi i raka jelita grubego, W: XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka". Wrocław, 17-18 wrzesień 2015. Program i streszczenia 2015, 125 poz.PD10 (prezentacja plakatowa)	2015
9	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of water extracts from Cistus incanus and Punica granatum on intracellular ROS in V79 cell cultures, W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts, Wrocław 2016, Wrocław Medical University, 161 poz.PS-105, ISBN 978-83-7055-591-7 (prezentacja plakatowa)	2016
10	Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Wiatrak Benita, Kulma Anna, Szopa Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of fabric made from new varieties of flax plant on proliferation in vitro of human dermal fibroblasts, W: 2nd International Young Scientists Symposium "Plants in pharmacy and nutrition". Wrocław, 15-17 September 2016. Book of abstracts, Wrocław 2016, Wrocław Medical University, 81 poz.PS-25, ISBN 978-83-7055-591-7	2016

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
	<i>(prezentacja plakatowa)</i>	
11	Moreira Helena , Szyjka Anna, Skórniak A., Stąsiec K., Gąsiorowski Kazimierz: Celastrol for chemoprevention of multidrug-resistant colon carcinoma, W: I Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Człowiek - żywność - zdrowie". Wrocław, 11-12 marca 2016. Streszczenia - abstracts 2016, s. 80 <i>(prezentacja ustna)</i>	2016
12	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Kostrzewa Benita, Gajek Kornelia: Granat <i>Punica granatum</i> - owoc o dobroczynnym wpływie na mięsień sercowy, W: Konferencja BioMedTech Silesia 2016 - Sesja Junior. [Zabrze, 8 kwietnia 2016 r.]. Referaty - streszczenia [online] 2016, poz.31 <i>(prezentacja plakatowa)</i>	2016
13	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Kostrzewa Benita: <i>Cistus incanus</i> i <i>Punica granatum</i> - charakterystyka i właściwości, W: Puzzel 2016 - V Wrocławska Konferencja Studentów Nauk Technicznych i Ścisłych. Wrocław, 16-17 kwietnia 2016 2016, s. 86 <i>(prezentacja plakatowa)</i>	2016
14	Moreira Helena : Użyteczność cytometrii przepływowej w charakterystyce i izolacji materiału biologicznego w Biobankach, W: I Naukowo-Szkoleniowa Krajowa Konferencja Biobanków Polskich "Biobankowanie - narzędzie warunkujące rozwój medycyny spersonalizowanej". Wrocław, 13-14 października 2017 r. Książka abstraktów 2017, 46 poz.P13 <i>(prezentacja plakatowa)</i>	2017
15	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Szyjka Anna, Wysoczańska Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz, Oszmiański Jan: <i>Cistus incanus</i> and <i>Punica granatum</i> as chemopreventive agents in cancer cell lines, W: III International Conference on Cell Biology. Kraków, 26-27 May 2017. Book of abstracts 2017, s. 102 <i>(prezentacja plakatowa)</i>	2017
16	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Szyjka Anna, Wysoczańska Anna, Wiatrak Benita, Gąsiorowski Kazimierz, Oszmiański Jan: Inhibition of P-glycoprotein transporter function after incubation with <i>Cistus incanus</i> and <i>Punica granatum</i> extracts in V79 cell line, W: III International Conference on Cell Biology. Kraków, 26-27 May 2017. Book of abstracts 2017, s. 103 <i>(prezentacja plakatowa)</i>	2017
17	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Wiatrak Benita, Oszmiański J., Gąsiorowski Kazimierz: Influence of <i>cistus</i> and pomegranate extracts on ROS generation in V79 cells, W: 2nd Wrocław Scientific Meetings [Wrocław, 2nd March 2018], (red.) Julita Kulbacka, Joanna Weźgowiec, Nina Rembiałkowska, Wrocław 2018, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 112 poz.P53, ISBN 978-83-65932-02-0 <i>(prezentacja plakatowa)</i>	2018
18	Gołuchowska J., Moreira Helena , Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Anticancer effects of celastrol and resveratrol on sensitive and drug-resistant colon cancer cells, W: 2nd Wrocław Scientific Meetings [Wrocław, 2nd March 2018], (red.) Julita Kulbacka, Joanna Weźgowiec, Nina Rembiałkowska,	2018

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
	Wrocław 2018, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 68 poz.P14, ISBN 978-83-65932-02-0 (prezentacja plakatu)	
19	Paliszkiwicz K., Moreira Helena , Gąsiorowski Kazimierz: Celastrol induce reactive oxygen species and apoptosis in drug resistant colon cancer cells, W: 2nd Wrocław Scientific Meetings [Wrocław, 2nd March 2018], (red.) Julita Kulbacka, Joanna Weźgowiec, Nina Rembiałkowska, Wrocław 2018, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 94 poz.P37, ISBN 978-83-65932-02-0 (prezentacja plakatu)	2018
20	Moreira Helena , Szyjka Anna, Gołuchowska Justyna, Mierziak-Derecka Justyna, Kulma Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Effect of celastrol and resveratrol on the level of spontaneous DNA damage in lovo cell cultures - cytophotometric approach and SIRT genes' expression study, W: CYTO 2018 - 33rd Congress of the International Society for Advancement of Cytometry. Prague, April 28 - May 2, 2018. Abstract and program book 2018, 181 poz.210/B121 (prezentacja plakatu)	2018
21	Wysoczańska-Klaczyńska Anna, Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Wiatrak Benita, Barg Ewa: Zbiór modelowych linii komórkowych i zakres badań prowadzonych w KiZPNM = The collection of model cell lines and the scope of research executed in KiZPNM, European Journal of Translational and Clinical Medicine, 2018, vol. 1, nr suppl.4, s. 49-50, [II Krajowa Naukowo-Szkoleniowa Konferencja Biobanków Polskich "Próbki, kolekcje, dane w biobankowaniu". Wrocław, 11-12 października 2018 r.] (prezentacja plakatu)	2018
22	Moreira Helena , Szyjka Anna, Paliszkiwicz K., Pelc K., Mierziak-Derecka J., Kulma A., Gąsiorowski Kazimierz: Cancer stem-like properties in cultures of colorectal cancer cell lines, W: III Poznańskie Dni Cytometrii i Immunologii. Poznań, 24-25 maja 2018 r. 2018, s. 32 (prezentacja plakatu)	2018
23	Kulbacka Julita, Novickij Vitalij, Rembiałkowska Nina, Szewczyk Anna, Moreira Helena , Szyjka Anna: Comparison of sub-microsecond calcium electroporation efficiency against doxorubicin-resistant and non-resistant human cancer cell lines, W: 3rd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies incorporating The 16th International Bioelectronics Symposium Bioelectronics 2019 and The Bio & Food Electrotechnologies (BFE) 2019 International Conference. Toulouse, France, 3-6 September, 2019. Program and book of abstracts 2019, 171-172 poz.OR-214 (prezentacja plakatu)	2019
24	Moreira Helena , Szyjka Anna, Barg Ewa: Tripterine induces DNA double-strand breaks in colon cancer cells, W: 3rd Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 1st-2nd March 2019, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska, Joanna Weźgowiec, Wrocław 2019, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 130 poz.P76, ISBN 978-83-65932-64-8	2019

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
	<i>(prezentacja plakatu)</i>	
25	Tądel K., Wakulik K., Wiatrak Benita, Moreira Helena : Impact of polyethylenimine on cell viability in culture of normal and cancer cells, W: 3rd Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 1st-2nd March 2019, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska, Joanna Weźgowiec, Wrocław 2019, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 175 poz.P121, ISBN 978-83-65932-64-8 <i>(prezentacja plakatu)</i>	2019
26	Wakulik K., Tądel K., Pawelska M., Młynarska K., Piasny Janusz, Wiatrak Benita, Moreira Helena : Cytotoxic effect of Celastrol and Camptothecin on drug-resistant and drug-sensitive cancer cells, W: 3rd Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 1st-2nd March 2019, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska, Joanna Weźgowiec, Wrocław 2019, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., 177 poz.P123, ISBN 978-83-65932-64-8 <i>(prezentacja plakatu)</i>	2019
27	Moreira Helena , Szyjka Anna, Pelc Katarzyna, Żuk Magdalena, Kulma Anna: Effects of selected plant polyphenols on SIRT gene expression and antitumor activity in cultures of colorectal cancer cells, Journal of Medical Oncology and Therapeutics, 2019, vol. 4, nr suppl., s. 20, [12th International Conference on Cancer Stem Cells and Oncology Research], Valencia, Spain <i>(prezentacja ustna)</i>	2019
28	Machynia Magdalena, Matuszewska Karolina, Moreira Helena , Barg Ewa: Anticancer activity of curcumin and wogonin in colon cancer cells, W: 4th International Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 09-10 October 2020, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska, Joanna Weźgowiec, Wrocław 2020, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., s. 166-167, ISBN 978-83-66489-37-0 <i>(prezentacja plakatu)</i>	2020
29	Moreira Helena , Grzesik Małgorzata, Wiatrak Benita, Szyjka Anna, Barg Ewa: Genotoxic effects of resveratrol, celastrol and camptothecin in mono- and combined therapy in colon cancer cells lines, W: 4th International Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 09-10 October 2020, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska, Joanna Weźgowiec, Wrocław 2020, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., s. 177, ISBN 978-83-66489-37-0 <i>(prezentacja plakatu)</i>	2020
30	Radajewska Anna, Przybyszewski Oskar, Moreira Helena , Barg Ewa, Emhemmed F., Muller C.D.: Evaluation of tumor stem cells in LoVo, HT29 and MCF7 cell lines in three-dimensional cell cultures, W: 4th International Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 09-10 October 2020, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska, Joanna Weźgowiec, Wrocław 2020, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., s. 202, ISBN 978-83-66489-37-0 <i>(prezentacja plakatu)</i>	2020
31	Wysoczańska-Klaczyńska Anna, Moreira Helena , Barg Ewa: Vaping-associated lung injury, W: 4th International Wrocław Scientific Meetings. Wrocław, 09-10 October 2020, (red.) Julita Kulbacka, Nina Rembiałkowska,	2020

Lp	Opis bibliograficzny	Rok
	Joanna Weźgowiec, Wrocław 2020, Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o., s. 270, ISBN 978-83-66489-37-0 (prezentacja plakatowa)	
32	Moreira Helena , Szyjka Anna, Emhemmed F., Muller C.D., Gackowska L., Zaleska O., Barg Ewa: Terpenoids in targeting colon cancer stem cells, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 100 poz.SP11-4 (prezentacja plakatowa)	2021
33	Bęben Dorota, Siwiela O., Radajewska Anna, Gębczak Katarzyna, Oszmiański J., Emhemmed F., Nabais M., Muller C.D., Barg Ewa, Moreira Helena : Polyphenol-riche extracts from pomegranate and cistus in the fight against breast cancer, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 101 poz.SP11-5 (prezentacja plakatowa)	2021
34	Radajewska Anna, Bęben Dorota, Siwiela O., Gębczak Katarzyna, Szyjka Anna, Emhemmed F., Nabais M., Muller C.D., Barg Ewa, Moreira Helena : Anticancer potential of melatonin in combination with irinotecan, wogonin or celastrol on sensitive and multidrug resistant colon cancer cells, W: 24e congrès annuel de l'Association Française de Cytométrie "Cytométrie 2021". Strasbourg [France], 6-8 octobre 2021. Livre des résumés 2021, 102 poz.SP11-6 (prezentacja plakatowa)	2021
35	Moreira Helena , Dziadkowiak Edyta, Buska Katarzyna, Janik Marta, Szmyrka Magdalena, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Pokryszko-Dragan Anna: Badanie obecności autoprzeciwciał antyneuronalnych w surowicy pacjentów ze zdiagnozowaną epilepsją, W: II. WSML - Wrocławskie Spotkanie Medycyny Laboratoryjnej. Wrocław, 26 marca 2021. Program konferencji i książka abstraktów 2021, 14 poz.P4 (prezentacja plakatowa) Nagroda: II miejsce za prezentację pracy	2021
36	Osiński B., Szyjka Anna, Moreira Helena , Barg Ewa, Prządka P., Krzak J.: Evaluation of the cytocompatibility of an innovative cruciate ligament prosthesis with a pharmacologically active surface - in vitro study, W: The World Small Animal Veterinary Association - WSAVA - Congress. Virtual congress, 21-24 March 2021. Program - abstracts [online] 2021, poz.P067 (prezentacja plakatowa)	2021
37	Moreira Helena , Biraska Monika, Mróz Aleksandra, Białas Marcel, Barg Ewa: Lymphocyte and cytokine profiles in patients with type 1 diabetes and Hashimoto's disease, W: ESCCA 2022. Belfast, Northern Ireland, UK. 21-24 September 2022. Abstracts 2022, 46-47 poz.IMM-09 (prezentacja plakatowa)	2022

8. Wykaz udziału w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

– brak

PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Udział w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji krajowych i międzynarodowych

- **Członek Komitetu Organizacyjnego konferencji międzynarodowej** „2nd Wrocław Scientific Meetings” , Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, 2.03.2018
 - **Członek Komitetu Naukowego i Organizacyjnego konferencji międzynarodowej** „3rd Wrocław Scientific Meetings”, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, 1-2.03.2019
 - ✓ Prowadzenie sesji tematycznej
 - ✓ Prowadzenie warsztatów cytometrycznych
 - **Członek Komitetu Naukowego i Organizacyjnego konferencji międzynarodowej** „4th Wrocław Scientific Meetings”, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, 9-10.10.2020
 - ✓ Prowadzenie sesji tematycznej
 - ✓ Prowadzenie warsztatów cytometrycznych
 - **Wolontariat na międzynarodowych konferencjach** European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA), certyfikowanych z punktami the European Accreditation Council for Continuing Medical Education (EACCME®)
 - ✓ ESCCA 2022, 21-24.09.2022, Belfast, Irlandia
wspomaganie organizacyjne i logistyczne przebiegu konferencji
 - ✓ ESCCA 2023, 27-30.09.2023, Utrecht, Holandia
wspomaganie organizacyjne i logistyczne przebiegu konferencji
- oraz udział w konferencji, która odbędzie się w dniach 19-21.10.2023:**
- **Członek Komitetu Naukowego i Organizacyjnego konferencji międzynarodowej** „5th Wrocław Scientific Meetings”, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, 19-21.10.2023
 - Prowadzenie warsztatów cytometrycznych

Udział w komitetach organizacyjnych i naukowych szkoleń/kursów międzynarodowych

Byłam głównym współorganizatorem kolejnych edycji międzynarodowych szkoleń i konferencji naukowo szkoleniowych we współpracy z Katedrą Immunologii Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz ExCyte (Expert Cytometry, USA). Szkolenia w języku angielskim, z udziałem wybitnych specjalistów europejskich, potwierdzone certyfikatem, z punktami „twardymi” KIDL w ramach ciągłego szkolenia zawodowego dla diagnostów laboratoryjnych:

- **„Flow Cytometry Boot Camp”**: I edycja międzynarodowego kursu w ramach współpracy z Expert Cytometry, światowego lidera szkoleń z zakresu cytometrii przepływowej oraz Beckman Coulter,
Miejsce: Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego, Wrocław, 18-19.05.2016r.
- **„Principles of Flow Cytometry”**: II edycja międzynarodowego kursu w ramach współpracy z Expert Cytometry (światowego lidera szkoleń z zakresu cytometrii przepływowej), Katedrą Immunologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz firmą Beckman Coulter,
Miejsce: Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego, Wrocław, 20-21.10.2018r.
- **„Flow Cytometry Conference”**: III edycja międzynarodowego kursu w ramach współpracy z Expert Cytometry (światowego lidera szkoleń z zakresu cytometrii przepływowej), Katedrą Immunologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz firmą Beckman Coulter,
Miejsce: Katedra Immunologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Bydgoszcz, 5-7.09.2019
- **„4th Annual Flow Cytometry Conference”**: IV edycja międzynarodowego kursu w ramach współpracy z Expert Cytometry (światowego lidera szkoleń z zakresu cytometrii przepływowej), Katedrą Immunologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy oraz firmą Beckman Coulter,
Miejsce: Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Medycznego, Wrocław, 22-24.09.2021r

Udział w komitetach organizacyjnych i naukowych szkoleń/kursów krajowych

- I Polski Kongres Farmakogenetyki „Geny i Leki”, Poznań, 27-28.11.2012
„Budowa, działanie oraz przykładowe aplikacje wykonane na cytometrze przepływowym Cube 8 firmy PARTEC”.
Funkcja: organizacja i prowadzenie warsztatów cytometrycznych we współpracy z firmą "ALAB" sp. z o.o.

- Spotkanie naukowo – szkoleniowe “Zastosowanie fluorescencji w badaniach naukowych.”, Politechnika Krakowska, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Kraków 5.06.2013r.
Funkcja: organizacja i poprowadzenie warsztatów dotyczących przykładowych aplikacji na cytometrze Cube 8 (PARTEC) we współpracy z firmą "ALAB" sp. z o.o., oraz przeprowadzenie dwóch wykładów (wymienionych w punkcie 7.2)
- Główny organizator dwudniowego szkolenia naukowego „Cytometria przepływowa w ocenie proliferacji komórek, śmierci komórek i cyklu komórkowego. Aspekty praktyczne i dobre praktyki cytometryczne.” dla pracowników naukowych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w ramach projektu „*Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu jako Regionalny Ośrodek Doskonałości w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu*” (RID), obszar strategiczny 2. Szkolenie z udziałem wybitnych specjalistów z zagranicznym doświadczeniem w dziedzinie cytometrii przepływowej.
Funkcja: organizacja całości wydarzenia - pozyskanie funduszy, opracowanie programu i nadzór merytoryczny, organizacja techniczna, realizacja, rozliczenie kosztów i sprawozdanie merytoryczne
Miejsce: Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Wydział Farmaceutyczny Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, 20-21.12.2019r.
- Współorganizator dwudniowego szkolenia naukowego „Cytometria przepływowa specjalistyczne narzędzie do wieloparametrowej analizy”, zorganizowanego dla pracowników dydaktycznych i naukowo-dydaktycznych Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego w ramach projektu: „*Zintegrowany Program Kształcenia na Uniwersytecie Zielonogórskim*” (Program Operacyjny Wiedza Edukacja Rozwój Oś priorytetowa III Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju. Działanie 3.5. Kompleksowe programy szkół wyższych).
Funkcja: opracowanie merytoryczne i przygotowanie techniczne, prowadzenie całości szkolenia. Organizacja szkolenia we współpracy z firmą Sysmex Polska sp. z o.o.
Miejsce: Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego, 11-12.01.2022 Zielona Góra

9. Wykaz uczestnictwa 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.

PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

– brak

PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Granty krajowe (NCN, NCBiR, MEiN)

Kierownik zadania badawczego (w ramach konkursów NCN):

- **MINIATURA 5** (nr: 2021/05/X/NZ7/01657)
MINI.D130.21.009 pt. „Ocena aktywności terpenów obecnych w konopiach przeciw nowotworowym komórkom macierzystym raka jelita grubego. Badania in vitro.”
Okres realizacji 15.12.2021-14.12.2022 (**projekt zrealizowany**)

– inne projekty zrealizowane

- **Gr-3/BS/NCBiR/2013** (projekt NCBiR), pt. „Optymalizacja produktywności nowego lnu i jego zastosowanie jako źródła surowcowego preparatów biomedycznych”.
Wykonawca i członek zespołu badawczego. Okres realizacji: 2012-2015
- **GR-797** (projekt Harmonia NCN, nr UMO-2012/06/M/NZ4/00138), pt. „Badania nad zastosowaniem glejowych komórek węchowych w leczeniu całkowitych urazowych uszkodzeń rdzenia kręgowego u ludzi”. **Wykonawca i członek zespołu badawczego.**
Okres realizacji: 09.04.2013-08.04.2018
- **RID.Z500.19.001** (projekt MNiSW nr 016/RID/2018/19, obszar strategiczny I, realizowany w ramach programu „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” RID), pt. „Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu jako Regionalny Ośrodek Doskonałości w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu - Obszar strategiczny nr 1 - Utworzenie Centrum Badawczo - Wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych”.
Wykonawca i członek zespołu badawczego. Okres realizacji: 16.01.2019-13.09.2022
- **POIR.B040.20.002** (projekt NCBiR nr POIR.04.01.01-00-0006/19-00, realizowany w ramach poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego), pt. „Opracowanie metody pozyskiwania i izolacji mezenchymatycznych komórek zrębu (MSCs) z zębów na potrzeby regeneracji ubytków kostnych w stomatologii”.
Wykonawca i członek zespołu badawczego. Okres realizacji: 01.01.2020-30.09.2021

Projekty finansowane ze środków subwencyjnych, przyznawane na drodze konkursu przeprowadzonego w Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu

– projekt zrealizowany

- **SUBK.D130.22.055**, pt. “Dzieci i młodzi dorośli z trisomią chromosomu 21 – badania metabolomiczne”. **Wykonawca i członek zespołu badawczego.**
Okres realizacji 01.01.2022 – 31.12.2022

– projekty w trakcie realizacji

- **SUBK.D150.22.039**, pt. “Wpływ metaloestrogenów i hiperglikemii na efektywność inhibitorów aromatazy w modelu komórkowym hormonozależnego raka piersi”.
Wykonawca i członek zespołu badawczego.
Okres realizacji 01.01.2022 – 31.12.2023
- **SUBK.D130.22.065**, pt. “Ocena wpływu antyoksydacyjnej i przeciwzapalnej aktywności luteoliny na żywotność i apoptozę stymulowanych PMA ludzkich synowocytów fibroblastycznych oraz chondrocytów”.
Wykonawca i członek zespołu badawczego.
Okres realizacji 01.01.2022 – 31.12.2023

10. Wykaz członkostwa w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.**PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA**

- Członek Krajowej Izby Diagnostów Laboratoryjnych (KIDL). Prawo wykonywania zawodu diagnosty laboratoryjnego nr 03150, od 27.02.2006r.

PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

- Członek Polskiego Towarzystwa Cytometrii (PTC), od 2010r.
- Członek International Society for Advancement of Cytometry (ISAC), od 2018r. do 2019r.
- Członek Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych (PTDL), od 2023r.

11. Wykaz staży w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.**PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA**

- Dwumiesięczny staż w Dyrekcji ds. Badań, Szkolnictwa Wyższego i Transferu Technologii Regionu Alzacji w Strasburgu dotyczący oceny badań klinicznych przeprowadzanych w instytucjach badawczych i szpitalach w regionie Alzacji we Francji (lipiec-sierpień 2000).

PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

STAŻE ZAGRANICZNE

- **Erasmus+ Staff Mobility for training:** Staż szkoleniowy w Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research, Laboratorium Cytometrii Przepływowej, University College Dublin, Irlandia (19.06.2017-23.06.2017)
- **Erasmus+ Staff Mobility for training:** Staż szkoleniowy w Faculty of Pharmacy, Strasbourg University, Strasbourg, Francja (16.09.2019-20.09.2019)
- **Erasmus+ Staff Mobility for training:** Staż szkoleniowy w Faculty of Pharmacy, Strasbourg University, Strasbourg, Francja (12.07.2021 – 16.07.2021)
- **Erasmus+ Staff Mobility for training:** Staż szkoleniowy w Faculty of Pharmacy, Strasbourg University, Strasbourg, Francja (23.08.2021 – 03.09.2021)
- **Erasmus+ Staff Mobility for training:** Staż szkoleniowy w Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Research, Laboratorium Cytometrii Przepływowej, University College Dublin, Irlandia (19.09.2022-23.09.2022)

oraz udział w stażu, który odbędzie się w dniach 26.09.2023-02.10.2023:

- **Erasmus+ Staff Mobility for training:** Staż szkoleniowy w Department of molecular cell biology and immunology, Amsterdam University Medical Center

STAŻE KRAJOWE

- **Staż naukowy** w Katedrze Immunologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Medyczny w Toruniu (29.08.2019-11.09.2019)

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

- **Funkcja redaktora gościnnego** w wydaniu specjalnym „Redox Status, Inflammation, and Immunity in Metabolic Disorders and Chronic Autoimmune Inflammatory Diseases”, opublikowanego 1 grudnia 2022 r. w czasopiśmie Oxidative Medicine and Cellular Longevity (Hindawi).

13. Wykaz recenzowanych prac naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Recenzowałam łącznie 15 manuskryptów dla renomowanych czasopism zagranicznych oraz 2 manuskrypty do polskiego czasopisma (IF czasopisma na dzień 21.09.2023):

- Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry - 1 recenzja, IF: 2.8
- Oncotarget - 1 recenzja, IF: 0.0
- Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals - 4 recenzje, IF: 3.4
- BMC Plant Biology - 2 recenzje, IF: 5.26
- European Journal of Cell Biology - 1 recenzja, IF: 6.02
- Journal of Gastroenterology and Hepatology - 1 recenzja, IF: 4.1
- Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences - 1 recenzja, IF: 0.0
- Oxidative Medicine and cellular longevity - 2 recenzje, IF: 0.0
- Molecular Pharmaceutics - 1 recenzja, IF: 5.364
- Farmacja Polska - 1 recenzja, IF: 0.0
- Pediatric Endocrinology, Diabetes, and Metabolism- 1 recenzja, IF: 0.0

14. Wykaz uczestnictwa w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

– brak

15. Wykaz udziału w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Projekty finansowane ze środków subwencyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

- „Badania mechanizmów antymutagennego i antykarcinogennego działania czynników pochodzenia naturalnego i syntetycznego”. **Wykonawca i członek zespołu badawczego.** Okres realizacji: 1996-2003
- „Ocena wpływu immunotropowego ekstraktów chemicznych izolowanych z roślin” **Wykonawca i członek zespołu badawczego.** Okres realizacji: 1999-2000
- „Immunomodulujące i antymutagenne działanie antocyjanów izolowanych z jagód aronii czarnoowocowej (aronia melanocarpa L.)”. **Wykonawca i członek zespołu badawczego.** Okres realizacji: 1999-2000

PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

Pełniłam funkcję opiekuna i uczestniczyłam w badaniach w dwóch projektach konkursowych, które zostały wyłonione w ramach programu FAST (Funduszu Aktywności Studenckiej) Miasta Wrocław zainicjowanego przez Prezydenta Miasta.

- FAST 2022: „Wpływ przebytej infekcji COVID-19 na komórki układu immunologicznego i ryzyko miażdżycy u dzieci z trisomią 21 w oparciu o zmiany subpopulacji komórek NK, Treg, MDSC oraz lipidogram.” – *opiekun* (2022r.)
- FAST 2022: „Czy codzienne przyzwyczajenia żywieniowe mogą być induktorem chorób, którym towarzyszy mentalne osamotnienie? - badania *in vitro* neurotoksyczności związków glinu w rozwoju choroby Alzheimera w aspekcie protekcyjnego działania kofeiny i kawy kofeinowej” – *współopiekun* (2022r.)

Projekty finansowane ze środków subwencyjnych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

- **ST-413**, pt. „Wpływ pochodnych flufenazyny i wpływ antocyjanów z jagód aronii na odsetek komórek trzonowych nowotworów w liniach o malej wrażliwości na cytostatyki (lekoopornych)”. **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 2009-2011
- **ST-414**, pt. Opracowanie strategii optymalizacji terapii nowotworów na przykładzie linii nowotworowych opornych na cytostatyki z zastosowaniem badanych pochodnych flufenazyny, antocyjanów z jagód aronii i standardowych cytostatyków. **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 2009-2011
- **ST**, pt. „Analiza różnic pomiędzy komórkami macierzystymi linii nowotworowych wrażliwych na cytostatyki i linii opornych na cytostatyki (side population) w zakresie wewnątrzkomórkowej zawartości cytostatyków, częstości apoptozy, naprawy indukowanych *in vitro* uszkodzeń DNA.” **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 2012
- **ST-775**, pt. „Wpływ wybranych flawonoidów i terpenów na odsetek komórek trzonowych w hodowlach ludzkich linii nowotworowych.” **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 2013-2015
- **ST.D130.16.009**, pt. „Ocena ekspresji i funkcji sirtuiny w nowotworowych komórkach macierzystych (NKM) z różnych typów nowotworów.” **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 2016-2019
- **SUB.D130.19.040**, pt. „Badania skринingowe aktywności biologicznej substancji pochodzenia naturalnego oraz związków syntetycznych na wybranych liniach komórkowych *in vitro*.” **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 2019-2020
- **SUB.D130.21.024**, pt. „Badania aktywności biologicznej substancji pochodzenia naturalnego oraz związków syntetycznych na wybranych liniach komórkowych *in vitro*.” **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 01.01.2021-31.12.2021
- **SUBZ.D130.22.029**, pt. „Badania aktywności biologicznej substancji pochodzenia naturalnego oraz związków syntetycznych na wybranych liniach komórkowych *in vitro*.” **Wykonawca i członek zespołu badawczego**. Okres realizacji: 01.01.2022-31.12.2022

- **SUBZ.D130.23.001**, pt. „Badania aktywności biologicznej związków syntetycznych oraz substancji pochodzenia naturalnego na liniach komórkowych (badania *in vitro*).”
Wykonawca i członek zespołu badawczego. Okres realizacji: 01.01.2023-31.12.2023

16. Wykaz uczestnictwa w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

- Członek Komisji Wydziałowego Konkursu Prac Magisterskich na Kierunku Analityka Medyczna (2018r. i 2019r.), członek Komisji przetargowej (2012r.).
- Członek **Rady Programowej dla kierunku Analityki Medycznej** na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (od 2019 roku)
- Członek **Kierunkowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku Analityka Medyczna** powołana przez Dziekana Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (zarządzenie nr 7/WF/2023 z dnia 4.07.2023r.)

17. Inne wykazy aktywności naukowej nie ujęte w punktach II.1-II.16

17.1. Wykaz uzyskanych nagród i wyróżnień naukowych

PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

- **FRIDERIKA FISCHER FELLOWSHIP**, stypendium przyznane w drodze konkursu przez International Cytokine Society na udział w konferencji pt. „Cytokines in health and disease”; 15th Annual Meeting of the International Cytokine Society, 26-30.2007, San Francisco, USA

PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

- **NAGRODA REKTORA**, Nagroda zespołowa II stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej, 2020r.
- **NAGRODA REKTORA**, Nagroda zespołowa II stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej w roku 2021
- **NAGRODA REKTORA**, Nagroda zespołowa I stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej, 2021r.
- **NAGRODA REKTORA**, Nagroda indywidualna za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy dydaktycznej w roku 2021r.

17.2. Wykaz odbytych szkoleń z zakresu dobrej praktyki laboratoryjnej (GLP) i dobrej praktyki wytwarzania (GMP)

- „Opracowanie i wdrożenie systemów jakości do hodowli GWK dla Katedry i Zakładu Podstaw Nauk Medycznych UMW - szkolenie wstępne”; 27.11.2013; organizator: LABKONSULTING
- „System jakości GMP - Dobra Praktyka Wytwarzania”; 19.02.2014; organizator: LABKONSULTING
- „System jakości GLP - Dobra Praktyka Laboratoryjna; 20.02.2014; organizator: LABKONSULTING
- „Wymagania prawne dla produktów HE-ATMP”; 17.06.2019, organizator: Helplab
- „Produkty lecznicze ATMP - wymagania GMP Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products”; 17-18.06.2019; organizator: Helplab
- „System jakości GLP - regulacje prawne i podstawowe wymagania”; warsztaty; 30-31.10.2019; organizator: Helplab
- „Analiza ryzyka FMEA Podobieństwa/ różnice w SZJ dla wymagań GMP, GLP, BTiK; 10-11.12.2019; organizator: Helplab
- „Audyt wewnętrzny GMP - jak skutecznie przygotować, przeprowadzić i udokumentować audyt”; 13.12.2019; organizator: LABKONSULTING
- „Zasady pracy oraz higieny w pomieszczeniach typu clean room zgodnie z nowymi normami PN-EN ISO14644-1:2016-03 i PN-EN ISO 14644-2:2016-03 oraz GMP.”; 16.12.2019; organizator: LABKONSULTING
- „Nowe GLP/GMP wraz z wymaganiami dla prowadzenia działalności banku tkanek do wytwarzania produktów leczniczych terapii zaawansowanej (HE ATMP); 27-28.06.2016; organizator: LABKONSULTING

III. WSPÓŁPRA Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.

– brak

2. Współpraca z sektorem gospodarczym.

- **Od 2011 roku współpracuję z firmą Partec GmbH (Münster, Niemcy).** Pracownia cytometrii przepływowej, którą kieruję pełni funkcję ośrodka referencyjnego dla użytkowników cytometrów przepływowych firmy Partec (aktualnie Sysmex) oraz potencjalnych nabywców tych aparatów. W tym zakresie przeprowadzam pokazy demonstracyjne, zapewniam wsparcie merytoryczne polegające na rozwiązywaniu

problemów i poszukiwaniu nowych rozwiązań, oraz organizuję warsztaty cytometryczne.

- **W latach 2011-2014 współpracowałam z firmą ALAB sp. z o.o** (ul. Stępińska 22/30 00-739 Warszawa), która była w tym okresie dystrybutorem rozwiązań cytometrycznych firmy Partec.
- **Od 2014 roku współpracuję z firmą Sysmex Polska Sp. z o.o.** (Al. Jerozolimskie 176, 02-486 Warszawa). W ramach tej współpracy organizujemy i prowadzimy szkolenia aplikacyjno-naukowe z metod analizy cytometrycznej z wykorzystaniem cytometrów CyFlow Space i CuFlow Cube (Partec-Sysmex), udzielam wsparcia merytorycznego, prowadzę konsultacje i ekspertyzy oraz testuję nowe rozwiązania techniczne.
- **Od 2016 roku współpracuję z firmą Beckman Coulter Polska sp. z o.o.** (Al. Jerozolimskie 181A, 02-222 Warszawa) w zakresie organizacji szkoleń cytometrycznych, w tym międzynarodowych.
- **Od 2016 roku współpracuję z firmą Excyte (Expert Cytometry, USA)** reprezentowaną przez dr Timothy P. Bushnell z University of Rochester obejmującą m.in wprowadzanie programów szkoleniowych z zakresu cytometrii przepływowej, organizacji międzynarodowych szkoleń cytometrycznych, i cytometrycznych konferencji nauko-szkoleniowych. Ponadto, współpraca opiera się na wymianie wiedzy i doświadczenia w zakresie projektowania, wykonywania i analizy próbek do cytometrii przepływowej.
- **Od 2021 roku współpracuję z firmą Sanprobi Sp. z o.o.** (ul. Kurza Stopka 5/C 70-535 Szczecin) w zakresie wykorzystania cytometrii przepływowej w badaniach mikrobiologicznych. Współpraca opiera się na obustronnych konsultacjach merytorycznych, wymianie wiedzy i doświadczenia, szerzeniu wiedzy i umiejętności. Planujemy wspólne projekty i ekspertyzy.
- **Od lutego 2022r. współpracuję z firmą Biomi-Farm Sp. z o.o.** (ul. Gdańskiej 55/13, 85-005 Bydgoszcz) reprezentowaną przez mgr Daniela Rzepka i mgr Aleksandrę Rzepka w zakresie badań działania przeciwnowotworowego fitozwiązków (kannabinoidów) i ich potencjalnego zastosowania w terapiach przeciwnowotworowych. Planujemy rozwinięcie współpracy naukowo-badawczej o analizie i standaryzacje wyciągów z surowców zielarskich (z Mierznicy czarnej (*Ballota nigra*), Chmielu zwyczajnego (*Humulus lupulus*) i Konopi włóknistej (*Cannabis sativa*)) oraz badania ich potencjału leczniczego (działanie uspokajające, przeciwzapalne, przeciwbólowe, antynowotworowe). Obecnie przygotowujemy umowę współpracy i projekt badawczy, który będzie realizowany w ramach doktoratu wdrożeniowego.

3. Wykaz uzyskanych praw własności przemysłowej, w tym uzyskanych patentów krajowych lub międzynarodowych.

– brak

4. Wykaz wdrożonych technologii.

– brak

5. Wykaz wykonanych ekspertyz lub innych opracowań wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.

- Opinia sporządzona w dniu 15.05.2020r. na wniosek firmy „ASA” Spółka z o.o. ul. Oświęcimska 11 48-100 Głubczyce, na potrzeby konkursu (poddziałanie 2.1.3) „*Nowe produkty i usługi w MSP na obszarach przygranicznych w ramach RPO WO 2014-2020*”. Opinia dotyczyła zastosowania innowacyjnej metody cytometrii przepływowej w analizie kultur bakterii probiotycznych. Opinię przygotowałam jako niezależny i niezwiązany z Wnioskodawcą ekspert.

6. Wykaz udziału w zespołach eksperckich lub konkursowych.

- brak

7. Wykaz projektów artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

- brak

IV. DANE NAUKOMETRYCZNE

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

2. Liczba cytowań publikacji z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.

3. Indeks Hirscha.

Dane naukometryczne dostępne na dzień 19.09.2023 r. zostały zebrane w poniższych tabelach:

	Liczba punktów		Impact factor (liczba prac)	
	całość	bez cyklu	całość	bez cyklu
A. Publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora	42,0	42,0	5,582 (2)	5,582 (2)
B. Publikacje po uzyskaniu stopnia doktora	2218,0	1678,0	83,519 (24)	61,538 (18)
Razem	2260,0	1720,0	89,101 (26)	67,120 (20)

Źródło danych (baza)	Liczba cytowań		Indeks Hirscha
	z autocytowaniami	bez autocytowań	
wg Web of Science Core Collection	174	164	8
wg SCOPUS	216	202	9

.....
(podpis wnioskodawcy)

Wrocław, dn. 19



PODPIS ZAUFANY

HELENA
MOREIRA
25.09.2023 19:39:52 [GMT+2]
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Dr Helena Moreira

Punktacja za publikacje

	Liczba punktów		Impact factor (liczba prac)	
	całość	bez cyklu	całość	bez cyklu
A. Publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora	42,0	42,0	5,582 (2)	5,582 (2)
B. Publikacje po uzyskaniu stopnia doktora	2218,0	1678,0	83,519 (24)	61,538 (18)
RAZEM:	2260,0	1720,0	89,101 (26)	67,120 (20)

LICZBA CYTOWAŃ:

ogółem: 174 ; h-index = 8

bez autocytowań: 164

(wg Web of Science Core Collection)

ogółem: 216; h-index = 9

bez autocytowań: 202; ; h-index = 9

(wg SCOPUS)

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Biblioteka Główna
DZIAŁ BIBLIOGRAFII I BIBLIOMETRII
ul. Marcinkowskiego 2-6, 50-368 Wrocław
tel. 71 784 19 25

25.09.2023 r. *Beata Majewska*
(data i podpis osoby sporządzającej punktację)

Wykaz opublikowanych prac naukowych

A. PRACE WYKONANE PRZED UZYSKANIEM STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

I. Wykaz opublikowanych monografii naukowych -

II. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych -

III. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii -

IV. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych -

1. Oryginalne pełnotekstowe prace naukowe

1.1. w czasopismach posiadających "impact factor"

Lp	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Ribeiro Nigel, Tabaka Helena , Peluso Jean, Fetzner Ludivine, Nebigil Can, Dumont Serge, Muller Christian D., Desaubry Laurent: Synthesis of 3-O-methylviridicatin analogues with improved anti-TNF-alpha properties, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2007, vol. 17, nr 20, s. 5523-5524	2,604	24
	Podsumowanie	2,604	24

1.2. w czasopismach bez "impact factor"

Lp	Opis bibliograficzny	Punkty
1	Gąsiorowski Kazimierz, Brokos Barbara, Tabaka Helena : Evaluation of the immunomodulatory activity of four compounds exerting antimutagenic effects on human lymphocytes in vitro, Cellular & Molecular Biology Letters, 2000, vol. 5, nr 4, s. 469-481	4
2	Gąsiorowski Kazimierz, Tabaka Helena , Działo E., Noculak-Palczewska Alicja, Lamer-Zarawska Eliza: In vitro immunomodulatory activity of the methanolic-water extract from Chinese wolfberry fruits (Lycium chinense Mill.), Herba Polonica, 2003, vol. 49, nr 3/4, s. 222-228	2
3	Noculak-Palczewska Alicja, Matkowski Adam, Gąsiorowski Kazimierz, Tabaka Helena , Oszmiański Jan, Lamer-Zarawska Eliza: Chemical characterisation of methanolic-water extracts from the fruit of acclimated Lycium chinense Mill, Herba Polonica, 2004, vol. 50, nr 1, s. 47-53	2
	Podsumowanie	8

2. Opisy przypadków -

3. Prace poglądowe

3.1. w czasopismach posiadających "impact factor"

Lp	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Peluso Jean, Tabaka-Moreira Helena , Taquet Nathalie, Dumont Serge, Muller Christian D., Reimund Jean-Marie: Can flow cytometry play a part in cell based high-content screening?, Cytometry Part A, 2007, vol. 71, nr 11, s. 901-904	2,978	10
	Podsumowanie	2,978	10

3.2. w czasopismach bez "impact factor" -

4. Publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism -

5. Listy naukowe do redakcji -

6. Publikacje z udziałem autora w badaniach wielośrodkowych w czasopismach (kontrybutorskie) -

B. PRACE WYKONANE PO UZYSKANIU STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA

I. Wykaz opublikowanych monografii naukowych -

II. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych -

III. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii -

IV. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych -

1. Oryginalne pełnotekstowe prace naukowe

1.1. w czasopismach posiadających "impact factor"

Lp	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Moreira-Tabaka Helena , Peluso Jean, Vonesch Jean-Luc, Hentsch Didier, Kessler Pascal, Reimund Jean-Marie, Dumont Serge, Muller Christian D.: Unlike for human monocytes after LPS activation, release of TNF- α by THP-1 cells is produced by a TACE catalytically different from constitutive TACE, PLoS ONE, 2012, vol. 7, nr 3, art.e34184 [12 s.]	3,73	40
2	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz Karolina, Gębarowski Tomasz, Kulma Anna, Moreira Helena , Kostyn Kamil, Gębczak Katarzyna, Szyjka Anna, Wojtasik Wioletta, Gąsiorowski Kazimierz: Emulsions made of oils from seeds of GM flax protect V79 cells against oxidative stress, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, vol. 2016, art.ID 7510759 [12 s.], DOI:10.1155/2016/7510759	4,593	30
3	Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Wiatrak Benita, Wojtasik Wioletta, Kulma Anna, Szopa Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Impact of fabrics from transgenic flax plant on human dermal fibroblasts in vitro proliferation, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, vol. 74, nr 2, s. 642-652	0,531	15
4	Ślęzak Aleksandra, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Conditions of prooxidant activity of cistus and pomegranate polyphenols in V79 cell cultures, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, vol. 74, nr 2, s. 670-678	0,531	15
5	Moreira Helena , Ślęzak Aleksandra, Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Antioxidant and cancer chemopreventive activities of cistus and pomegranate polyphenols, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2017, vol. 74, nr 2, s. 688-698	0,531	15
6	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Kulma Anna, Gębarowski Tomasz, Wojtasik Wioletta, Kostyn Kamil, Moreira Helena , Szyjka Anna, Boba Aleksandra, Preisner Marta, Mierziak Justyna, Arendt Małgorzata, Kostyn Anna, Szatkowski Michał, Szopa Jan, Gąsiorowski Kazimierz: V79 fibroblasts are protected against reactive oxygen species by flax fabric, Applied Biochemistry and Biotechnology, 2018, vol. 184, nr 1, s. 366-385, DOI:10.1007/s12010-017-2552-y	2,14	25
7	Gąsiorowski Kazimierz, Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Kulma Anna, Szatkowski Michał, Szopa Jan: Impact of fabrics from transgenic flax on cultures of skin cells, Advances in Clinical and Experimental Medicine, 2019, vol. 28, nr 4, s. 431-438, DOI:10.17219/acem/92563	1,514	70
8	Moreira Helena , Szyjka Anna, Paliszkiwicz Kamila, Barg Ewa: Prooxidative activity of celastrol induces apoptosis, DNA damage, and cell cycle arrest in drug-resistant human colon cancer cells, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, vol. 2019, art.6793957 [12 s.], DOI:10.1155/2019/6793957	5,076	100

9	Dejnek Maciej, Moreira Helena , Płaczkowska Sylwia, Morasiewicz Piotr, Barg Ewa, Witkowski Jarosław, Reichert Paweł: Analysis and comparison of autologous platelet-rich plasma preparation systems used in the treatment of enthesopathies: a preliminary study, <i>Advances in Clinical and Experimental Medicine</i> , 2021, vol. 30, nr 7, s. 757-764, DOI:10.17219/acem/135045	1,736	70
10	Kulbacka Julita, Rembiałkowska Nina, Szewczyk Anna, Moreira Helena , Szyjka Anna, Girkontaitė Irutė, Grela Kamil P., Novickij Vitalij: The impact of extracellular Ca ²⁺ and nanosecond electric pulses on sensitive and drug-resistant human breast and colon cancer cells, <i>Cancers</i> , 2021, vol. 13, nr 13, art.3216 [17 s.], DOI:10.3390/cancers13133216	6,575	140
11	Dziadkowiak Edyta, Moreira Helena , Buska-Mach Katarzyna, Szmyrka Magdalena, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Janik Marta, Pokryszko-Dragan Anna: Occult autoimmune background for epilepsy - the preliminary study on antibodies against neuronal surface antigens, <i>Frontiers in Neurology</i> , 2021, vol. 12, art.660126 [7 s.], DOI:10.3389/fneur.2021.660126	4,086	100
12	Dziadkowiak Edyta, Moreira Helena , Wieczorek Małgorzata, Budrewicz Sławomir, Barg Ewa, Koszewicz Magdalena: Correlations between electrophysiological parameters, lymphocyte distribution and cytokine levels in patients with chronic demyelinating inflammatory polyneuropathy, <i>Journal of Personalized Medicine</i> , 2021, vol. 11, nr 8, art.766 [13 s.], DOI:10.3390/jpm11080766	3,508	70
13	Chabowska Gabriela, Moreira Helena , Tylińska Beata, Barg Ewa: S16020 pyridocarbazole derivatives display high activity to lung cancer cells, <i>Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry</i> , 2022, vol. 22, nr 13, s. 2419-2428, DOI:10.2174/1871520621666211214104926	2,8	70
14	Moreira Helena , Szyjka Anna, Grzesik Justyna, Pelc Katarzyna, Żuk Magdalena, Kulma Anna, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Gąsiorowski Kazimierz, Barg Ewa: Celastrol and resveratrol modulate SIRT genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells, <i>Cancers</i> , 2022, vol. 14, nr 6, art.1372 [18 s.], DOI:10.3390/cancers14061372	5,2	140
15	Hetman Marta, Moreira Helena , Barg Ewa: The best tool for the assessment of developmental disorders in children with down syndrome: comparison of standard and specialized growth charts - cross sectional study, <i>Frontiers in Endocrinology</i> , 2022, vol. 13, art.928151 [11 s.], DOI:10.3389/fendo.2022.928151	5,2	100
16	Kolniak-Ostek Joanna, Oszmiański Jan, Szyjka Anna, Moreira Helena , Barg Ewa: Anticancer and antioxidant activities in <i>Ganoderma lucidum</i> wild mushrooms in Poland, as well as their phenolic and triterpenoid compounds, <i>International Journal of Molecular Sciences</i> , 2022, vol. 23, nr 16, art.9359 [15 s.], DOI:10.3390/ijms23169359	5,6	140
17	Dejnek Maciej, Moreira Helena , Płaczkowska Sylwia, Barg Ewa, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Effectiveness of lateral elbow tendinopathy treatment depends on the content of biologically active compounds in autologous platelet-rich plasma, <i>Journal of Clinical Medicine</i> , 2022, vol. 11, nr 13, art.3687 [19 s.], DOI:10.3390/jcm11133687	3,9	140
18	Dejnek Maciej, Witkowski Jarosław, Moreira Helena , Płaczkowska Sylwia, Morasiewicz Piotr, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Content of blood cell components, inflammatory cytokines and growth factors in autologous platelet-rich plasma obtained by various methods, <i>World Journal of Orthopaedics</i> , 2022, vol. 13, nr 6, s. 587-602, DOI:10.5312/wjo.v13.i6.587	1,9	140
19	Boszkiewicz Kamila, Moreira Helena , Sawicka Ewa, Szyjka Anna, Piwowar Agnieszka: The effect of metalloestrogens on the effectiveness of aromatase inhibitors in a hormone-dependent breast cancer cell model, <i>Cancers</i> , 2023, vol. 15, nr 2, art.457 [18 s.], DOI:10.3390/cancers15020457	5,2*	200

20	Radajewska Anna, Moreira Helena , Bęben Dorota, Siwiela Oliwia, Szyjka Anna, Gębczak Katarzyna, Nowak Paulina, Frąszczak Jakub, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Barg Ewa: Combination of irinotecan and melatonin with the natural compounds wogonin and celastrol for colon cancer treatment, International Journal of Molecular Sciences, 2023, vol. 24, nr 11, art.9544 [21 s.], DOI:10.3390/ijms24119544	5,6*	140
	Podsumowanie	69,951	1760

*IF 2022

1.2. w czasopismach bez "impact factor

Lp	Opis bibliograficzny	Punkty
1	Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Szyjka Anna, Oszmiański Jan, Gąsiorowski Kazimierz: Aktywność antyoksydacyjna soku i polifenoli z jagód aronii w hodowlach komórek linii V79, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, vol. 48, nr 3, s. 322-327	6
2	Moreira Helena , Gębarowski Tomasz, Szyjka Anna, Flank Magda, Gąsiorowski Kazimierz: Wpływ bajkaleiny i wogoniny na liczebność populacji bocznej w komórkach raka piersi i raka jelita grubego, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, vol. 48, nr 3, s. 467-472	6
3	Skórkowska-Telichowska Katarzyna, Hasiewicz-Derkacz Karolina, Gębarowski Tomasz, Moreira Helena , Gębczak Katarzyna, Kulma Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Prozdrowotne działania olejów z lnu. Wnioski z badań w hodowlach komórkowych, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, vol. 48, nr 3, s. 522-527	6
4	Moreira Helena , Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Chemopreventive activity of celastrol in drug-resistant human colon carcinoma cell cultures, Oncotarget, 2018, vol. 9, nr 30, s. 21211-21223, DOI:10.18632/oncotarget.25014	40
5	Dejnek Maciej, Moreira Helena , Płaczowska Sylwia, Barg Ewa, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra: Leukocyte-rich platelet-rich plasma as an effective source of molecules that modulate local immune and inflammatory cell responses, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, vol. 2022, art.8059622 [10 s.], DOI:10.1155/2022/8059622	100
6	Dziadkowiak Edyta, Baczyńska Dagmara, Wieczorek Małgorzata, Olbromski Mateusz, Moreira Helena , Mrozowska Monika, Budrewicz Sławomir, Dziegiel Piotr, Barg Ewa, Koszewicz Magdalena: miR-31-5p as a potential circulating biomarker and tracer of clinical improvement for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2023, vol. 2023, art.2305163 [11 s.], DOI:10.1155/2023/2305163	20
	Podsumowanie	178

2. Opisy przypadków -

3. Prace poglądowe

3.1. w czasopismach posiadających "impact factor"

Lp	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Moreira Helena , Barg Ewa: Cancer stem cells - current knowledge and targeting with natural compounds, Postępy Biologii Komórki, 2019, vol. 46, nr 1, s. 43-62	0,163	20
2	Czyż Anna, Król Magdalena, Przybyszewski Oskar, Radajewska Anna, Moreira Helena , Barg Ewa: Transformacje nowotworowe komórek hematopoetycznych u osób z trisomią 21 chromosomu, Postępy Biologii Komórki, 2019, vol. 46, nr 2, s. 111-127	0,163	20

3	Radajewska Anna, Przybyszewski Oskar, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Barg Ewa, Moreira Helena : Three dimensional in vitro culture systems in anti-cancer drug discovery targeted on cancer stem cells, American Journal of Cancer Research, 2021, vol. 11, nr 10, s. 4931-4946	5,942	100
4	Moreira Helena , Dobosz Agnieszka, Cwynar-Zajac Łucja, Nowak Paulina, Czyżewski Marek, Barg Marta, Reichert Paweł, Królikowska Aleksandra, Barg Ewa: Unraveling the role of Breg cells in digestive tract cancer and infectious immunity, Frontiers in Immunology, 2022, vol. 13, art.981847 [15 s.], DOI:10.3389/fimmu.2022.981847	7,3	140
	Podsumowanie	13,568	280

3.2. w czasopismach bez "impact factor" -

4. Publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism -

5. Listy naukowe do redakcji -

6. Publikacje z udziałem autora w badaniach wielośrodkowych w czasopismach (kontrybutorskie) -

Wrocław, dn . 19.09.2023 r.

Dr Helena Moreira

Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych

Potencjał działania wybranych związków polifenolowych na nowotworowe komórki macierzyste i przerzutowe raka jelita grubego. Badania in vitro.

Oryginalne prace naukowe:

Lp	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Moreira Helena , Szyjka Anna, Gąsiorowski Kazimierz: Chemopreventive activity of celastrol in drug-resistant human colon carcinoma cell cultures, <i>Oncotarget</i> , 2018, vol. 9, nr 30, s. 21211-21223, DOI:10.18632/oncotarget.25014	-	40
2	Moreira Helena , Szyjka Anna, Paliszkievicz Kamila, Barg Ewa: Prooxidative activity of celastrol induces apoptosis, DNA damage, and cell cycle arrest in drug-resistant human colon cancer cells, <i>Oxidative Medicine and Cellular Longevity</i> , 2019, vol. 2019, art.6793957 [12 s.], DOI:10.1155/2019/6793957	5,076	100
3	Moreira Helena , Szyjka Anna, Grzesik Justyna, Pelc Katarzyna, Żuk Magdalena, Kulma Anna, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Gąsiorowski Kazimierz, Barg Ewa: Celastrol and resveratrol modulate SIRT genes expression and exert anticancer activity in colon cancer cells and cancer stem-like cells, <i>Cancers</i> , 2022, vol. 14, nr 6, art.1372 [18 s.], DOI:10.3390/cancers14061372	5,2	140
4	Radajewska Anna, Moreira Helena , Bęben Dorota, Siwiela Oliwia, Szyjka Anna, Gębczak Katarzyna, Nowak Paulina, Frąszczak Jakub, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Barg Ewa: Combination of irinotecan and melatonin with the natural compounds wogonin and celastrol for colon cancer treatment, <i>International Journal of Molecular Sciences</i> , 2023, vol. 24, nr 11, art.9544 [21 s.], DOI:10.3390/ijms24119544	5,6*	140
	Podsumowanie	15,876	420

*IF 2022

Prace poglądowe :

Lp	Opis bibliograficzny	IF	Punkty
1	Moreira Helena , Barg Ewa: Cancer stem cells - current knowledge and targeting with natural compounds, <i>Postępy Biologii Komórki</i> , 2019, vol. 46, nr 1, s. 43-62	0,163	20
2	Radajewska Anna, Przybyszewski Oskar, Emhemmed Fathi, Muller Christian D., Barg Ewa, Moreira Helena : Three dimensional in vitro culture systems in anticancer drug discovery targeted on cancer stem cells, <i>American Journal of Cancer Research</i> , 2021, vol. 11, nr 10, s. 4931-4946	5,942	100
	Podsumowanie	6,105	120

Łączny impact factor : 21,981

Punkty ministerialne : 540,0

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
Biblioteka Główna
DZIAŁ BIBLIOGRAFII I BIBLIOMETRII
ul. Marcinkowskiego 2-6, 50-368 Wrocław
tel. 71 784 19 25

25.09.2023r. Beata Majewska
(data i podpis osoby sporządzającej punktację)