



UNIwersytet Medyczny Im. Karola Marcinkowskiego  
W POZNANIU

KATEDRA I KLINIKA DERMATOLOGII  
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Zygmunt Adamski

Adres :  
ul. Przybyszewskiego 49  
60-355 Poznań

tel. (0-61) 869-12-85, 869-16-12  
fax. (0-61) 869-15-72  
e-mail: dermatologia@spsk2.pl

**Ocena dorobku naukowego, organizacyjnego, dydaktycznego  
i osiągnięcia naukowego.**

**Postępowanie habilitacyjne.**

**dr Beata Osieckiej**

**z Zakładu Patomorfologii Katedry Patomorfologii WL Uniwersytetu  
Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.**

**I Wykształcenie i przebieg pracy zawodowej.**

Pani dr Beata Osiecka w 1988 r. ukończyła Wydział Lekarski Akademii Medycznej (dyplom lekarza nr 12559).

W 1997r. uzyskała **dyplom doktora nauk medycznych** w zakresie medycyny.

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Ocena ekspresji lamininy i cytokeratyny-10 w raku kolczystokomórkowym skóry”.

Promotorem pracy doktorskiej był prof. dr hab. Maciej Zabel.

Praca doktorska została wyróżniona przez Radę Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej we Wrocławiu.

W 1993 r. dr Osiecka uzyskała specjalizację w dziedzinie dermatologii i wenerologii

W 1999 uzyskała specjalizację w dziedzinie patomorfologii.

Posiada dyplom „Lasery w medycynie”; uzyskany w Centrum Techniki Laserowej Warszawa w 1996 r. oraz dyplom „Cytologia eksfoliatywna dla patomorfologów w zakresie cytodiagnostyki ginekologicznej i płynów z jam ciała” wydany przez Polską Szkołę Cytologii Klinicznej w Szczecinie w 2007r.

**1. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych**

Dr Beata Osiecka w latach 1989 - 1998 była asystentem w Katedrze Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu, a w latach 1998 - 2001 adiunktem

Od 2001r. do chwili obecnej jest adiunktem w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii; Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

Od 2015r. jest wykładowcą w Niepubliczna Wyższa Szkoła Medyczna we Wrocławiu.

## **II Tytuł osiągnięcia naukowego:**

### **Nowe metody modyfikacji terapii fotodynamicznej z miejscowym zastosowaniem kwasu aminolewulinowego w leczeniu wybranych schorzeń dermatologicznych.**

#### **1. Cel naukowy badań Dr Beaty Osieckiej**

Bazując na wiedzy teoretycznej podpartej wieloletnim doświadczeniem związanym z prowadzeniem badań nad terapią fotodynamiczną (PDT) w układach modelowych, dr B. Osiecka zainteresowała się możliwością wykorzystania posiadanego doświadczenia i zwrócenia się w stronę badań klinicznych, których efekty pozwoliłyby zmodyfikować i zoptymalizować terapię, z jak największą przydatnością i akceptacją przez pacjentów.

Dr Osiecka zainteresowała się poszukiwaniem nowych rozwiązań, zwiększających skuteczność terapii fotodynamicznej, wobec konwencjonalnych metod stosowanych w leczeniu dermatologicznym.

Podjęta przez Dr Osiecką tematyka badawcza zawierająca się w cyklu prac habilitacyjnych, skoncentrowała się na następujących celach:

1. poprawie skuteczności terapeutycznej PDT - pod kątem modyfikacji jej dotychczasowego stosowania,

2. wykazaniu potencjału PDT - jako metody o dużych możliwościach terapeutycznych i szerokim spektrum wykorzystania - także w leczeniu innych nienowotworowych schorzeń dermatologicznych,

3. zmniejszeniu odczuwania bólu, będącego głównym objawem ubocznym towarzyszącym leczeniu PDT.

W skład proponowanego cyklu publikacji, w ramach osiągnięcia naukowego, wchodzi 4 oryginalne prace, opatrzone zbiorczym tytułem: „Nowe metody modyfikacji terapii fotodynamicznej z miejscowym zastosowaniem kwasu aminolewulinowego w leczeniu wybranych schorzeń dermatologicznych”.

#### **2. Osiągnięcie naukowe**

Stanowi jednotematyczny cykl publikacji składający się z **4 oryginalnych artykułów** o łącznej **punktacji IF = 10, 507 i MNiSW/KBN = 125 pkt.**

Spis publikacji wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego:

1. **Beata Joanna Osiecka**, Kamil Jurczyszyn, Piotr Ziółkowski.:

The application of Levulan-based photodynamic therapy with imiquimod in the treatment of recurrent basal cell carcinoma.

**Med.Sci.Monit.** 2012 Vol.18 no.2; s.PI5-PI9

**IF : 1.358**

**Pkt. MNiSW/KBN: 20.000**

Wkład dr Beaty Osieckiej w powstanie publikacji polegał na stworzeniu koncepcji, hipotezy badawczej oraz celu badań, zebraniu danych klinicznych, przeprowadzeniu metody fotodynamicznej u pacjentów, analizie i interpretacji uzyskanych wyników, z



uwzględnieniem dotychczasowego stanu wiedzy oraz przygotowaniu manuskryptu. Udział procentowy Autorka szacuje na 75 %.

Uzyskane wyniki leczenia BCC, mogą być także rezultatem zastosowania nowatorskiej koncepcji powtarzania PDT w krótkim czasie, potwierdzając słuszność przyjętej hipotezy.

Istotną wartością kliniczną wynikającą z zastosowania leczenia BCC metodą łączoną, jest uzyskanie wysokiej akceptacji pacjentów, leczonych uprzednio standardowymi metodami inwazyjnymi. Największą wartością użytkową prezentowanego osiągnięcia naukowego jest przedstawienie skuteczniejszej - zmodyfikowanej metody (PDT i imikwimod) w leczeniu raka podstawnokomórkowego na twarzy. Duża skuteczność oraz bardzo dobre efekty kosmetyczne po leczeniu, wartościuje metodę łączoną i stanowi opcję dla pacjentów z nawrotową postacią BCC. Warto wspomnieć, że wyniki badań znalazły się w pracy przeglądowej S. Lucena i wsp. („Combined treatment with photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer”; International Journal of Molecular Sciences, 2015) omawiającej różne metody kojarzenia PDT w leczeniu raków niemelanocytowych skóry

2. **Beata J. Osiecka**, Piotr Nockowski, Stanisław Kwiatkowski, Jacek C. Szepietowski.:

Photodynamic therapy with red light and 5-aminolaevulinic acid for herpes simplex recurrence: preliminary results.

**Acta Derm.-Venereol. 2017** Vol. 97 no. 10; s. 1239-1240

**IF : 3.127**

**Pkt. MNiSW/KBN: 40.000**

Wkład Autorki w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji badawczej, sformułowaniu hipotezy i celu badania, zakwalifikowaniu pacjentów do grupy badawczej, przeprowadzeniu terapii fotodynamicznej u chorych, analizie i interpretacji wyników w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy, przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Udział procentowy Autorka szacuje na 75 %.

Największym osiągnięciem prezentowanej pracy, jest uzyskanie 12 miesięcznej remisji objawów klinicznych HSV u osób, u których liczba nawrotów wynosiła 4-7 w ciągu roku. Pionierski charakter przeprowadzonego badania z zastosowaniem ALA, nie daje możliwości skonfrontowania uzyskanych efektów leczenia opryszczki. Zaproponowana strategia terapeutyczna oparta była o rozważania teoretyczne, dotyczące możliwości wpływu działania PDT: bezpośredniego - cytotoksycznego i pośredniego - immunologicznego, na skutki wywołane obecnością wirusa w organizmie. Osiągnięty efekt dobrej odpowiedzi i długiej remisji HSV, mógł zostać osiągnięty dzięki stworzonej koncepcji zastosowania PDT: naświetlania we wczesnej fazie infekcji (przed pęcherzykami) oraz wykorzystania wyższych parametrów światła.

Efektywność działania fotodynamicznego w dużej mierze zależy od dozymetrii światła. Parametry PDT zapewniające optymalny efekt antywirusowy nie zostały do końca zdefiniowane, dlatego dyskutowane są różne warianty dawek energii, a uzyskane wyniki publikowanych badań dają sprzeczne wyniki. Ogólnie jednak w schorzeniach nieonkologicznych, PDT bazuje na stosowaniu mniejszych dawek światła, których efektem jest działanie przeciwzapalne.

Pacjenci zostali naświetleni większą dawką światła, niż stosowana przez innych autorów, którzy leczyli opryszczkę nawrotową z użyciem barwników syntetycznych. Motywem takiego postępowania było założenie, że wywołanie nasilonego stanu zapalnego może wpłynąć na odpowiedź immunologiczną, osłabioną przez wpływ wirusa na supresję cytokin.

W efekcie pozwoliło to na osiągnięcie skuteczności terapeutycznej, co znalazło potwierdzenie u pacjentów - w braku nawrotów objawów klinicznych HSV.

Chociaż badanie to zostało przeprowadzone na niewielkiej grupie pacjentów, niemniej stanowi fundamentalne osiągnięcie naukowe, które po raz pierwszy potwierdza skuteczność ALA PDT w uzyskaniu tak długiej remisji objawów klinicznych HSV.

Praca udowadnia skuteczność ALA PDT w leczeniu i zapobieganiu nawrotom opryszczki zwykłej. Udowodnienie tego działania jest niezwykle istotne, ponieważ wskazuje opcję terapeutyczną zwłaszcza dla pacjentów ze znacznie upośledzoną odpornością (po przeszczepach, pacjenci onkologiczni), w różnym stanie klinicznym, jak również obciążonych innymi równolegle stosowanymi terapiami. Ponadto, wskazuje kierunek dalszym badaniom nad efektywnością eradykacji opryszczki zwykłej, ze zwróceniem szczególnej uwagi na zasadność użycia wyższych dawek światła, w celu indukcji ostrego stanu zapalnego i wykorzystania wpływu potencjału PDT na układ immunologiczny.

3. **Beata J. Osiecka**, Kamil Jurczyszyn, Piotr Nockowski, Marek Murawski, Piotr Ziółkowski.:

Photodynamic therapy with green light for the treatment of vulvar lichen sclerosus - preliminary results.

**Photodiagn. Photodyn. Ther.** 2017 Vol. 17; s. 185-187

**IF : 2.895**

**Pkt. MNiSW/KBN: 25.000**

Udział dr Osieckiej w powstaniu pracy, polegał na stworzeniu koncepcji pracy, sformułowaniu hipotezy badawczej i celu badań, zebraniu danych, przeprowadzeniu terapii fotodynamicznej u pacjentów, analizie i interpretacji osiągniętych wyników w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy oraz przygotowaniu manuskryptu. Autorka udział procentowy szacuje na 75%.

Prezentowana praca ma charakter innowacyjny i jest pierwszym w piśmiennictwie raportem naukowym, przedstawiającym zastosowanie ALA PDT z użyciem zielonego światła, w leczeniu schorzenia nieonkologicznego skóry. Największym osiągnięciem prezentowanej pracy, istotnym jest wykazanie, że zastosowanie zielonego światła w leczeniu objawowym LS - a zwłaszcza świądu - jest skuteczne, a naświetlanie przebiega z dobrą tolerancją i przy wysokiej akceptacji metody przez pacjentki.

Największym sukcesem terapeutycznym jest całkowite ustąpienie (63,3%) bądź zmniejszenie świądu (przez 6 miesięcy obserwacji) u pacjentek, u których objawy powracały, po odstawieniu środków farmakologicznych.

Rezultaty przedstawionego badania wnoszą dużą wartość naukową. Potwierdzają założoną hipotezę, że płycej działające światło zielone jest skuteczne w leczeniu zmian zapalnych toczących się przy powierzchni skóry. PDT, która jest głównie metodą leczenia nowotworów, wykorzystuje światło czerwone, ze względu na najgłębszą penetrację tkanek. Uzyskane rezultaty terapeutyczne w LS wskazują, że światło o krótszej fali jest odbierane jako mniej bolesne podczas naświetlania.



Publikacja jest pierwszym, wstępnym doniesieniem, dokumentującym możliwość modyfikacji terapii fotodynamicznej przez zastąpienie czerwonego światła, mniej bolesnym, a równie skutecznym światłem zielonym, w leczeniu objawów LS. Otrzymane wyniki badań otwierają perspektywę dla nowych możliwości wykorzystania zmodyfikowanej PDT, w leczeniu innych schorzeń skórnych, toczących się bliżej powierzchni. Implikuje to potrzebę i nadaje kierunek dalszym badaniom klinicznym, w celu optymalizacji skuteczności i poprawy tolerancji terapii fotodynamicznej, co jest priorytetem dla umocnienia pozycji PDT jako metody równoważnej, wśród innych opcji w leczeniu dermatologicznym.

4. **Beata J. Osiecka, Piotr Nockowski and Jacek C. Szepietowski.** :

Treatment of actinic keratosis with photodynamic therapy using red or green light: A comparative study.

**Acta Derm-Venereol 2018** Vol. 98; s. 689-693

**IF : 3.127**

**Pkt. MNiSW/KBN: 40.000**

Wkład Dr Osieckiej w powstanie tej pracy polegał na stworzeniu koncepcji badawczej, sformułowaniu hipotezy i celu badania, zebraniu danych klinicznych, zakwalifikowaniu pacjentów do grupy badawczej, przeprowadzeniu terapii fotodynamicznej u chorych, analizie i interpretacji wyników w odniesieniu do aktualnego stanu wiedzy, przygotowaniu i napisaniu manuskryptu. Dr Osiecka udział procentowy szacuje na 75 %.

Głównym celem prezentowanej pracy było porównanie skuteczności i tolerancji PDT z wykorzystaniem światła zielonego i czerwonego w leczeniu ognisk AK na głowie. Za dodatkowy cel postawiono oszacowanie różnic w odczuwaniu bólu podczas kolejnych sesji PDT, z użyciem obu światel.

. Przedstawione badanie jest pierwszą w piśmiennictwie pracą porównawczą, oceniającą skuteczność światła zielonego i czerwonego w leczeniu AK oraz, ukierunkowaną na analizę różnic w odczuwaniu bólu między zastosowanymi światłami podczas naświetlania, pod kątem próby wyjaśnienia możliwych mechanizmów genezy bólu w PDT.

W prezentowanej pracy fundamentalnym osiągnięciem naukowym jest udowodnienie, że zastosowanie zielonego światła w ALA PDT wykazuje wysoką skuteczność, porównywalną ze standardowo używanym światłem czerwonym, w leczeniu łagodnych /umiarkowanych ognisk AK na głowie.

Kolejnym osiągnięciem tej pracy, o kluczowym znaczeniu dla metody fotodynamicznej, jest udowodnienie, że zastosowanie zielonego światła w leczeniu AK wiąże się z dobrą tolerancją naświetlania, bez wywoływania sensacji bólowych, co dokumentuje przewagę wprowadzonej modyfikacji, nad standardowo stosowanym w PDT światłem czerwonym.

Zaprezentowana praca wnosi duży potencjał użytkowy do praktyki klinicznej w zakresie leczenia AK metodą fotodynamiczną. Uzyskane wyniki wychodzą naprzeciw oczekiwaniu pacjentów na bezinwazyjną terapię, która oferuje wysoką skuteczność leczenia, dobrą tolerancję metody oraz bardzo dobre efekty kosmetyczne, co jest szczególnie ważne w przypadku ognisk AK na skórze twarzy/głowy.

## **Wnioski końcowe badań Dr Beaty Osieckiej, będące podstawą wniosku o nadanie stopnia dr habilitowanego.**

Zamierzone cele naukowe realizowane w ramach badań objętych cyklem prac , zostały osiągnięte przez wykazanie :

1. połączenie ALA PDT z miejscowym immunomodulatorem – imikwimodem, zwiększa skuteczność terapii w leczeniu nawrotowego raka podstawnokomórkowego (BCC),
2. zastosowanie ALA PDT jest skuteczne w leczeniu i zapobieganiu nawrotom infekcji wirusem opryszczki zwykłej( HSV),
3. zastosowanie zielonego światła w ALA PDT w leczeniu objawowym świądu , w liszaju twardzinowym sromu (LS) , jest skuteczne i dobrze tolerowane - bez wywoływania bólu podczas naświetlania,
4. zastosowanie zielonego światła w ALA PDT , w leczeniu ognisk rogowacenia słonecznego (AK) na głowie, jest tak samo skuteczne jak ALA PDT z użyciem światła czerwonego , a jednocześnie lepiej tolerowane - bez wywoływania dyskomfortu bólowego podczas naświetlania.

Dużym osiągnięciem terapeutycznym jest wprowadzenie przez dr Beatę Osiecką innowacyjnych rozwiązań w sferze dotyczącej metodyki PDT ( parametrów światła, cykli naświetlań, zamiany światła z czerwonego na zielone) co znacząco wpływa na poprawę akceptacji metody przez pacjentów. Dużym osiągnięciem jest zaprezentowanie skutecznej terapii fotodynamicznej bez bólu, który stanowi główny objaw uboczny i największe ograniczenie PDT.

Przedstawiony cykl habilitacyjny dokumentuje potencjał ALA PDT, wykraczający poza schematyczne postrzeganie jej głównie jako przeciwnowotworowej. Dr Beata Osiecka udowodniła, że PDT jest metodą unikatową , wykazującą skuteczność również na obszarze schorzeń nienowotworowych , w tym o charakterze zapalnym i przeciwwirusowym. Naukową stroną cyklu prac habilitacyjnych jest wykazanie, że umiejętne posługiwanie się parametrami PDT, podparte wiedzą dotyczącą mechanizmu działania PDT oraz znajomości biologii komórki, pozwala na modulowanie potencjału terapii fotodynamicznej i wykorzystanie go na różnych płaszczyznach w skutecznym leczeniu schorzeń skórnych. W prezentowanym cyklu udowodniono przydatność terapii fotodynamicznej jako metody nieinwazyjnej, skutecznej i bezpiecznej tam, gdzie stosowane w leczeniu dermatologicznym metody standardowe zawodzą, lub są mało skuteczne. Wykazano , że ALA PDT jako metoda o dużym ( do końca nie poznanym) potencjale, zasługuje na rzeczywiste duże zainteresowanie naukowe oraz praktyczne jej uznanie jako równoważnej metody wśród innych terapii , w arsenale leczenia dermatologicznego. .

### **III Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych niewchodzących w skład rozprawy habilitacyjnej.**

#### **1. Analiza bibliometryczna dorobku**

- Sumaryczna punktacja mojego dorobku naukowego wynosi:  
**Impact factor IF: 29,871; MNiSW/KBN : 459,0.**
- Punktacja 4 prac wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego wynosi:  
**Impact factor IF: 10,507; MNiSW/KBN: 125,0**
- Po wyłączeniu 4 prac wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego punktacja ta wynosi :  
**Impact factor IF : 19,364; MNiSW/KBN: 334,0**



Całkowity dorobek naukowy dr Osieckiej obejmuje łącznie **57 publikacji**, w tym:

- 39 prac oryginalnych, z których 14 występuje w czasopismach z IF
  - 2 opisy przypadków, w tym 1 opis opublikowany w czasopiśmie z IF: 2.243
  - 2 prace poglądowe
  - 9 rozdziałów w podręcznikach : w tym 4 w podręczniku anglojęzycznym i 5 w języku polskim
  - 4 pełnotekstowe referaty w materiałach zjazdowych w języku angielskim
  - 1 publikację pełnotekstową w suplemencie czasopisma posiadającego IF.
- Aktualna **liczba cytowań** prac wynosi :
- ogółem - **81**
  - Bez autocytowań - **72**
- Indeks Hirscha **h-index** - **5** ( Web of Science Core Collection na dzień 06. 11. 2018 ).

## 2. Autorstwo podręczników

- Dr Osiecka jest współautorem 2 rozdziałów z zakresu skóry i tkanki łącznej w podręczniku Histologii dla studentów medycyny i stomatologii; pod redakcją M. Zabła; Wrocław : Urban & Partner 2000.
- Dr Osiecka jest współautorem rozdziału w podręczniku, będącym pierwszym na polskim rynku **kompedium** wiedzy dotyczącym **fotodiagnostyki i terapii fotodynamicznej**, przeznaczone dla szerokiego grona odbiorców: lekarzy, studentów medycyny i inżynierii, inżynierów, fizyków, biologów. Diagnostyka i Terapia Fotodynamiczna ; pod redakcją H.Podbielskiej, A. Sieronia i W. Stręka. Wrocław; Urban & Partner, 2004 .

## 3. Udział czynny w konferencjach, zjazdach I kongresach

Dr B. Osiecka jest autorem doniesień ustnych i w formie plakatów, zarówno na zjazdach międzynarodowych jak i krajowych:

- **16** streszczeń na **zjazdach międzynarodowych**, m.in. : na Kongresie Europejskiego Towarzystwa Fotobiologii I Konferencji Europejskiej Platformy Medycyny Fotodynamicznej (Congress of European Society for Photobiology and Conference of the European Platform for Photodynamic Medicine ) oraz na Międzynarodowym Sympozjum Terapii Fotodynamicznej i Fotodiagnostyki w Klinicznej Praktyce (International Symposium on Photodynamic Therapy and Photodiagnosis in Clinical Practice).

Wyniki badań naukowych przedstawiła w ustnym wystąpieniu na 13 th Congress of European Society for Photobiology and the 2nd Conference of the European Platform for Photodynamic Medicine. Wrocław 2009.

- **12** streszczeń na **zjazdach krajowych** m in. w formie ustnych wystąpień na Kongresie Polskiego Towarzystwa Patologów (PTP), Histochemików I Cytochemików (PTHiC) oraz na Krajowym Zjeździe Towarzystwa Dermatologicznego (PTD), Wrocław 2016.

#### **4. Omówienie głównych kierunków badawczych niezwiązanych z tematem cyklu habilitacyjnego**

**Zainteresowania naukowe dr Beaty Osieckiej obejmują następujące zagadnienia:**

- **badania nad biologią nowotworów**
- **badania nad mechanizmem działania terapii fotodynamicznej i jej efektywności wobec komórek nowotworowych w warunkach in vitro i in vivo**
- **badania nad nowymi fotouczulaczami i ich skuteczności w PDT**
- **badania nad zwiększeniem efektywności PDT przez wprowadzenie różnych modyfikacji w modelach eksperymentalnych**
- **badania nad efektywnością PDT w warunkach klinicznych .**

Zainteresowania naukowe Dr Osieckiej koncentrowały się na tematyce z zakresu biologii nowotworów. Efektem prowadzonych badań była rozprawa doktorska, której promotorem był prof. dr hab. Maciej Zabel.

W pracy pt. " Ocena ekspresji lamininy i cytokeratyny -10 (CK-10) w raku kolczystokomórkowym skóry ", Autorka oceniała zależności między stopniem złośliwości histologicznej raka (G) , a obecnością markerów dojrzałości komórkowej uwarstwionego nabłonka : lamininy (składowej błony podstawnej ) i CK-10 ( markera końcowego zróżnicowania keratynocytów). Różnicowanie keratynocytów związane jest z ekspresją określonych typów białek cytokeratynowych, a z procesem prawidłowej keratynizacji związana jest CK-10. Efektem moich badań było stwierdzenie istotnych różnic ilościowych w zakresie błony podstawnej oraz wykazanie zróżnicowanej ekspresji CK-10 , zależnie od stopnia złośliwości nowotworu. Uzyskane wyniki badań znalazły zastosowanie praktyczne w diagnostyce histopatologicznej, ponieważ ocena immunohistochemiczna markerów dojrzałości komórkowej uwarstwionego nabłonka jest bardziej czułą metodą , niż rutynowe badanie hist-pat., przy ocenie stopnia zróżnicowania raka płaskonabłonkowego .W przypadku rozwoju nowotworu pochodzenia nabłonkowego, zmieniony profil ekspresji tych markerów wskazuje na mniejszą dojrzałość komórek, co wiąże się z większą potencją inwazyjną. Ponadto, barwienie IHC na obecność CK-10 , będącej molekularnym markerem szlaku keratynizacji , pozwala na weryfikację rozpoznań histopatologicznych w przypadkach wątpliwych, wskazując na płaskonabłonkowe pochodzenie nowotworu. (publikacje :



"Evaluation of laminin and cytokeratin-10 expression in squamous cell carcinoma of the skin." *Folia Histochem.Cytobiol* 1997; "Analiza stanu błon podstawnych w raku kolczystokomórkowym skóry". *Przegl.Lek* 1999; "Ocena zależności pomiędzy stopniem dojrzałości histologicznej w ludzkim raku kolczystokomórkowym skóry a obecnością CK-10". *Przegl. Lek.* 2001).

W kolejnej pracy dotyczącej badania profilu cytokeratyn („The evaluation of cytokeratin 18 expression in cervical squamous cell carcinoma”. *Folia Histochem.Cytobiol.* 1999), Autorka oceniała ekspresję cytokeratyny - 18 w nabłonku rakowym części pochwowej szyjki macicy. Wiadomo, że podczas embriogenezy, nabłonki uwarstwione wywodzą się z nabłonków jednowarstwowych, dla których charakterystyczna jest ekspresja CK-18. W pewnych stanach patologicznych nabłonka wielowarstwowego, można wykazać ekspresję CK -18 , typową dla nabłonka jednowarstwowego. Za interesujące naukowo uznano zbadanie poziomu ekspresji cytokeratyny, pod kątem wykazania ewentualnej korelacji między jej obecnością a stopniem złośliwości nowotworu. Uzyskane wyniki pokazały ekspresję we wszystkich badanych przypadkach raka , przy czym zarówno w postaciach dojrzałych jak i anaplastycznych immunoreaktywność CK -18 była podobna. Rezultaty badań pokazują, że w raku szyjki macicy występuje wprawdzie ekspresja CK-18, charakterystyczna dla nabłonka jednowarstwowego, jednakże nie koreluje ona ze stopniem zróżnicowania komórkowego. A zatem, ocena profilu ekspresji CK-18 w raku szyjki macicy ,nie może być markerem dla określenia zaawansowania złośliwości histopatologicznej nowotworu.

Dalszą kontynuacją zainteresowań Dr Osieckiej związanych z biologią nowotworów jest praca („Immunohistochemical and proteomic evaluation of nuclear ubiquitous casein and cyclin-dependent kinases substrate in invasive ductal carcinoma of the breast”. *J.Biomed. Biotechnol.* 2009), w której badała ekspresję białka - jądrowej kinazy kazeinowej i substratu kinazy zależnej od cyklin (NUCKS 1) - w inwazyjnym raku przewodowym sutka (IDC). NUCKS jest białkiem wiążącym jądrowe DNA , występującym prawie we wszystkich typach ludzkich komórek, o słabo poznanych funkcjach biologicznych. Podobieństwo strukturalne do białek do wysokiej ruchliwości (HMGA) sugeruje, że odgrywa ono podobną rolę w regulacji struktury i aktywności chromatynyDNA. Ponieważ zmiany w ekspresji HMGA są uważane za wskaźnik progresji nowotworu i tworzenia przerzutów, można założyć, że podobnie jest w przypadku zmian NUCKS, co może mieć praktyczne znaczenie w prognozowaniu przy ocenie histopatologicznej. Analiza uzyskanych rezultatów za pomocą spektrometrii masowej wykazała, że NUCKS ulega nadmiernej ekspresji w inwazyjnym raku przewodowym sutka. Ocena metodą immunohistochemiczną potwierdziła to odkrycie, a

także wykazała nasiloną ekspresję występującą w 84,3% komórek rakowych. Zaobserwowano korelację między poziomem ekspresji NUCKS a oceną histologiczną złośliwości raka. Statystycznie istotne różnice stwierdzono pomiędzy grupą nowotworów G1 i G2, a także między G1 i G3. Prezentowana praca jest pierwszą tego typu publikacją oceniającą ekspresję białka NUCKS w materiale histopatologicznym uzyskanym od pacjentek z konkretnym typem inwazyjnego raka przewodowego sutka (IDC).

Kolejne badanie nad rolą kinazy kazeinowej w biologii nowotworów ("Immunohistochemical study of nuclear ubiquitous casein and cyclin-dependent kinase substrate 1 in invasive breast carcinoma of no special type". Exp Ther Med. 2014) dotyczyło oceny immunohistochemicznej NUCKS w inwazyjnym raku sutka bez specjalnego typu (no special type), w powiązaniu z charakterystyką kliniczno- patologiczną obejmującą stopień złośliwości guza, zajęcie węzłów chłonnych oraz tworzenie odległych przerzutów. Dodatkowym celem było zbadanie związku między poziomem ekspresji NUCKS i innymi biomarkerami charakterystycznymi dla poszczególnych podtypów nowotworu : receptora estrogeny (ER), receptora progesteronu (PR), receptora 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (HER2), markera komórkowej proliferacji Ki-67 oraz cytokeratyny 5/6 (CK5/6). Uzyskane wyniki pokazały, że ekspresja NUCKS jest istotnie związana z takimi cechami klinicznymi jak zajęcie węzłów chłonnych i tworzenie odległych przerzutów. Uzyskane przez rezultaty potwierdzające korelację między ekspresją NUCKS i Ki-67 (który w raku sutka jest markerem prognostycznym związanym ze złym rokowaniem i potencjałem przerzutowym), mogą wskazywać na potencjalną rolę NUCKS w proliferacji komórek nowotworowych. Ponadto, wykazanie w badaniach istotnego związku między poziomem ekspresji NUCKS a oceną histopatologiczną stopnia złośliwości guza , może skłaniać do hipotezy, że złe rokowanie u pacjentek z rakiem sutka może korelować z nasiloną ekspresją NUCKS. Prezentowane wyniki są pierwszym badaniem wskazującym, że analiza immunohistochemiczna NUCKS może stanowić marker prognostyczny, dla oceny rokowania u pacjentek z inwazyjnym rakiem sutka (no special type) w warunkach klinicznych, jednak dla potwierdzenia hipotezy potrzebne są dalsze badania.

Prowadząc badania naukowe związane głównie z biologią nowotworów, Dr Osiecka rozszerzyła swoje zainteresowania o tematykę terapii fotodynamicznej, jako metody strategii antynowotworowej. Realizację tego zakresu aktywności naukowo - badawczej rozpoczęła w Pracowni Terapii Fotodynamicznej, funkcjonującej w Katedrze Anatomii Patologicznej. Efekty nawiązanych wówczas kontaktów naukowych zaowocowały



współpracą w ramach wspólnych badań nad PDT. Działalność badawcza dr Osieckiej obejmowała badania nad efektywnością metody fotodynamicznej w warunkach *in vivo* i *in vitro* - z uwzględnieniem mechanizmu działania - a także nad zastosowaniem nowych fotouczulaczy w PDT i ich wpływie na efekt fotodynamiczny w komórkach. (Publikacje: „5-aminolevulinic acid photodynamic therapy of transplantable colon adenocarcinoma in Balb/c mice”. *Arch.Immunol.Ther.Exp.* 1998 ; ”Photodynamic treatment of epithelial tissue derived from patients with endometrial cancer: a contribution to the role of laminin and epidermal growth factor receptor in photodynamic therapy”. *J. Biomed.Opt.* 1999; “Lipid peroxidation of cellular membranes following photodynamic therapy with photosensitizers: sulfoxaphorphyrin, dithiaphorphyrin and hematoporphyrin derivative”. *Adv.Clin.Exp.Med* 2002).

W pracy, która powstała w ramach współpracy z zespołem prof. Latosa-Grażyńskiego z Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego ( “Tumor histopathology following new sensitizers: dithiaphorphyrin and sulfoxaphorphyrin- mediated photodynamic therapy”. *Anicancer Res.* 1999) skupiono się na ocenie zmian histopatologicznych powstałych w komórkach włókniakomięsaka ( BFS1) zaszczepionego myszom BALB/c, po zastosowaniu nowych, zsyntetyzowanych fotouczulaczy z grupy porfiryn (DTP, OXA). W doświadczeniu użyto różnych parametrów PDT (wzrastające dawki światła i różne stężenia fotouczulaczy), po których ocenialiśmy wielkość uszkodzenia guza. Nasze wyniki po raz pierwszy pokazały, że włókniakomięsak jest bardzo wrażliwy na cytotoksyczne działanie PDT po zastosowaniu nowych sensybilizatorów, a wielkość martwicy guza istotnie wzrasta po użyciu wyższych dawek fotodynamicznych . Dodatkowo stwierdzono, że nowe fotouczulacze nie wywołują zmian toksycznych na skórze u zwierząt , co może mieć znaczenie w wykorzystaniu ich do dalszych badań klinicznych nad przydatnością PDT w leczeniu nowotworów.

Kolejnym etapem rozwoju naukowego dr Osieckiej było rozpoczęcie badań we współpracy z Uniwersytetem w Londynie ( prof. Raymond Bonnett). Celem pracy, było zbadanie oddziaływania reakcji fotodynamicznej na czynniki wzrostowe : zasadowy fibroblastyczny (b FGF) i naczyniowy śródbłonkowy (VEGF) w warunkach *in vivo*. Wiadomo, że cytokiny te syntetyzowane są przez różne nowotwory, stymulując proces angiogenezy. Badania przeprowadzono na myszach BALB/c, którym zaszczepiono mięsaka włóknistego BFS1. Zwierzęta poddano różnym wariantom PDT, wykorzystując hematoporfirynę (HpD) jako fotouczulacz. Otrzymane wyniki badań, przeprowadzone w oparciu o techniki ELISA, pokazały istotny spadek poziomu cytokin w surowicy, po

zastosowaniu PDT. Stwierdzono, że niższy poziom czynników wzrostowych korelował z wolniejszym wzrostem guza, a co za tym idzie, ze znaczącym wydłużeniem czasu przeżycia zwierząt. Rezultaty badań rzuciły światło na poznanie jednego z mechanizmów działania PDT, dzięki któremu metoda fotodynamiczna może być rozważana jako czynnik upośledzający angiogenezę, a więc przeciwdziałający wzrostowi nowotworów *in vivo*, co ma fundamentalne znaczenie w dalszych badaniach klinicznych nad zastosowaniem PDT w onkologii. (Publikacje: "Determination of vascular-endothelial growth factor levels in serum from tumor-bearing BALB/c mice treated with photodynamic therapy". *Med Sci Monit.* 2003; "Determination of basic fibroblast growth factor levels in serum of tumor-bearing BALB/c mice treated with photodynamic therapy". *Pol. J. Pathol.* 2003).

Następny projekt, realizowany w ramach grantu MNiSW, dotyczył badań nad mechanizmem działania PDT w komórkach nowotworowych, z wykorzystaniem nośników liposomowych dla ALA oraz inhibitorów metaloproteinaz. Ponieważ liposomy są znane jako skuteczne nośniki leków, wykorzystanie ich może zwiększyć przenikanie ALA do komórek. Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMP, matrix metalloproteinase), stanowią grupę endopeptydaz, których podstawową funkcją jest degradacja i przebudowa składników macierzy pozakomórkowej, co wpływa na strukturę jej oraz błony podstawnej, zarówno podczas procesów fizjologicznych jak i patologicznych. W prawidłowych warunkach wydzielanie MMP podlega regulacji przez oddziaływanie z endogennymi inhibitorami (TIMP, tkankowe inhibitory metaloproteinaz). Stwierdzono, że czynniki wpływające na przebudowę ściany naczyń, do których należą m.in. cytokiny zapalne, reaktywne formy tlenu (ROS), pobudzają aktywność MMP. Terapia fotodynamiczna obejmująca swym działaniem układ naczyniowy, może więc indukować MMP. Zmiany aktywności MMP obserwowano w różnych stanach patologicznych, m.in. w procesach zapalnych i nowotworach. Ważną rolę w rozroście nowotworów odgrywają MMP-2 i MMP-9, które wpływają na metabolizm błony podstawnej naczyń, uczestnicząc w degradacji kolagenu typu IV, umożliwiając tym inwazję komórek nowotworowych. Z kolei MMP-3 bierze również udział w trawieniu elementów "rusztowania" macierzy, co ułatwia migrację komórek. Stwierdzono, że w raku sutka występuje zwiększona ekspresja MMP-2 i MMP-9, a wzrost ich stężenia wiąże się z krótszym czasem przeżycia. W pracy ("In vitro and in vivo matrix metalloproteinase expression after photodynamic therapy with liposomal formulation of aminolevulinic acid and its methyl ester". *Cell Mol Biol Lett.* 2010) oceniliśmy wpływ PDT na indukcję i ekspresję: MMP-2, MMP-3 i MMP-9 na modelu *in vitro* – w komórkach raka sutka (MCF-7) oraz *in vivo* – u szczurów Wistar, z przeszczepialnym gruczolakorakiem sutka.



Badania przeprowadzono z wykorzystaniem ALA oraz jego estru metyloвого (Metvix) w nowej, liposomalnej postaci. Wyniki badań immunohistochemicznych *in vitro* wykazały, że PDT powoduje przejściowy wzrost ekspresji MMP-3 (ustępujący po 48 h), natomiast nie stwierdziliśmy indukcji MMP-9 i MMP-2. Podobną obserwację stwierdziliśmy w badaniach immunohistochemicznych na modelu zwierzęcym - w następstwie PDT doszło do wzrostu ekspresji MMP-3 w guzie nowotworowym, bez indukcji MMP-2 i MMP-9. W grupach kontrolnych u zwierząt, nie wykazano indukcji MMP po naświetlaniu. Zastosowane postaci liposomalne ALA i Met-ALA cechowały się jednakowo wyższą skutecznością fotodynamiczną w warunkach *in vitro* i *in vivo* w porównaniu do samej ALA. W dalszym etapie prowadzonych badań sprawdziliśmy, czy wykorzystanie tkankowego inhibitora (TIMP-3) może wpłynąć na MMP-3 w badanych przez nas modelach eksperymentalnych. Otrzymane wyniki potwierdziły, że zastosowanie inhibitora metaloproteinazy-3, może skutecznie blokować indukcję ekspresji MMP-3, która została zainicjowana działaniem PDT. Wyniki pracy dowodzą, że metoda fotodynamiczna nie wpływa na ekspresję metaloproteinaz zaangażowanych w procesy degradacji błony podstawnej naczyń, co ma szczególne znaczenie w kontekście inwazji nowotworowej. Ponadto, uzyskane przez nas rezultaty wskazują, że wykorzystanie tkankowych inhibitorów MMP można uznać za potencjalny czynnik modyfikujący działanie i wzmacniający skuteczność terapii fotodynamicznej w strategii antynowotworowej.

Mechanizm oddziaływania terapii fotodynamicznej na komórki nowotworowe jest wciąż nie do końca poznany. W pracy („Immunocytochemical studies on the nuclear ubiquitous casein and cyclin-dependent kinases substrate following 5-aminolevulinic acid mediated photodynamic therapy on MCF-7”. *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2013) podjęto ocenę wpływu terapii fotodynamicznej z udziałem ALA, na indukcję jądrowej kinazy kazeinowej i substratu kinazy zależnej od cyklin (NUCKS) w komórkach linii raka sutka (MCF-7). Dotychczasowe dane wskazują, że NUCKS może wpływać na rozrost nowotworów złośliwych i uczestniczyć w procesach przerzutowania. Do badań wykorzystano metody immunoblotingu i techniki immunohistochemiczne, oceniając wyniki w kilku odstępach czasowych (0,7,18,24 h) po zakończeniu PDT. Otrzymane rezultaty wykazały, że ALA - PDT indukuje silną ekspresję NUCKS w komórkach raka (MCF-7). Największą ekspresję obserwowano po 7 h po PDT, z tendencją do stopniowego spadku w ciągu 24 h po naświetlaniu. Dodatkowo, zbadaliśmy wpływ PDT na ekspresję białek związanych z apoptozą: pro-apoptotycznego Bax oraz anty-apoptotycznego Bcl-2, by określić ewentualne powiązania z indukcją NUCKS. Nasze wyniki pokazały, że ALA - PDT

powoduje silną ekspresję Bax oraz spadek Bcl-2 w komórkach raka sutka MCF-7. Interesującą obserwacją było stwierdzenie równoległego wzrostu ekspresji Bax i NUCKS w komórkach, poddanych działaniu fotodynamicznemu. Rezultaty badań wskazują, że terapia fotodynamiczna wpływa na indukcję NUCKS, który uczestniczy w odpowiedzi komórkowej po zastosowaniu PDT. Zaobserwowany równoległy wzrost ekspresji proapoptotycznego białka Bax i hamowanie Bcl-2 może sugerować wpływ kinazy kazeinowej (NUCKS) na indukcję apoptozy w komórkach raka sutka po ALA-PDT.

Szczególne zainteresowanie Dr Osieckiej, metodą fotodynamiczną, zdecydowało o wyborze terapii fotodynamicznej jako głównego kierunku dalszego rozwoju pracy naukowo – badawczej. W roku 2002 została zatrudniona w Katedrze Patomorfologii, w Pracowni PDT.

Jeden z kierunków zainteresowań badawczych dr Osieckiej dotyczy możliwości poprawy efektywności miejscowej ALA-PDT, przez modyfikację zwiększenia wchłaniania kwasu aminolewulinowego, stosowanego w praktyce klinicznej głównie w postaci kremu. ALA jest prekursorem właściwego fotouczulacza powstającego w komórce na drodze syntezy endogennych porfiryn. Chociaż prowadzone są badania nad syntezą nowych fotouczulaczy, o większej wydajności fotodynamicznej, to z uwagi na właściwości fizyko-chemiczne, bezpieczeństwo stosowania i endogenny charakter, ALA wydaje się mieć „niezastąpioną” pozycję jako podstawowy sensybilizator w miejscowej PDT.

W pracy pt: „Enhancement of photodynamic therapy by use of aminolevulinic acid/glycolic acid drug mixture”, badano zwiększenie penetracji ALA przez skórę i tkanki przez dodanie kwasu glikolowego (GA) do podłoża z ALA. Badania przeprowadziliśmy na modelu in vitro, in vivo oraz z udziałem pacjentów z rakiem skóry. Otrzymane wyniki in vitro i in vivo pokazały, że całkowity poziom porfiryn w komórkach (po dodaniu GA) istotnie wzrósł ( $P < 0,01$ ). Stwierdzono także, że pacjenci, u których zastosowano miejscowo PDT z modyfikacją podłoża (ALA - GA), uzyskali lepsze efekty terapeutyczne i kosmetyczne względem grupy kontrolnej, reagując szybszą i większą regresją zmian nowotworowych. Wyniki te dostarczają dowodów na to, że dodatek kwasu glikolowego powinien być uważany za czynnik zwiększający penetrację ALA w głąb tkanek, a tym samym zwiększający skuteczność miejscowej ALA-PDT. Przedstawiona przez dr Osiecką koncepcja powyższego badania ma charakter innowacyjny, a uzyskany rezultat uważam za ważne osiągnięcie naukowe, stanowiące praktyczny wkład w poprawę efektywności PDT w onkologii



dermatologicznej. Wyniki tego badania zostały opublikowane w USA w *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology* (2004).

Kolejne badanie kliniczne, mające na celu poprawę skuteczności miejscowej PDT przez modyfikację warunków wchłaniania ALA, zostało przeprowadzone u pacjentów z brodawkami stóp. Schorzenie to wywołane jest infekcją wirusa HPV i występuje pod 2 postaciami: jako pojedyncza, głęboka zmiana (myrmecia) i zlewne hyperkeratocytne ogniska (brodawki mozaikowe). Ich cechą jest duża zakaźność oraz przewlekły i nawrotowy przebieg. Dane literaturowe wskazują na efektywność PDT w leczeniu schorzeń wirusowych HPV. Główną jednak przeszkodą ograniczającą skuteczność PDT w eradykacji brodawek jest hyperkeratoza powierzchni zmian. W badaniu: "Pretreatment of plantar warts with azone enhances the effect of aminolevulinic acid photodynamic therapy" leczeniem ALA-PDT objęto pacjentów z brodawkami mozaikowymi (MW) i o typie myrmecia (MY). W celu zwiększenia przezskórnej penetracji ALA, zastosowano miejscowo azon (1-dodecyloazepan-2-on,; prosty związek chemiczny znany z właściwości zwiększania przepuszczalności skóry), który aplikowano pacjentom przed ALA-PDT. Efekty terapeutyczne uzyskane zmodyfikowaną w ten sposób PDT, porównano z wynikami leczenia brodawek metodą bez modyfikacji. Otrzymane wyniki pokazały, że miejscowa modyfikacja ALA-PDT (przez wstępne traktowanie ognisk azonem) spowodowała większą skuteczność terapeutyczną niż metoda standardowa: całkowita odpowiedź na leczenie brodawek wyniosła: MW (66,7% vs 37,5%); brodawek MY (100% vs 70%). Uzyskane w badaniu rezultaty stanowią całkowite novum, dowodząc dużej skuteczności zmodyfikowanej miejscowej ALA-PDT w leczeniu infekcji HPV na stopach. Przedstawiona praca jest pierwszą publikacją w piśmiennictwie, dokumentującą zwiększenie efektywności miejscowej terapii fotodynamicznej przez wstępne traktowanie zmian chorobowych azonem, ułatwiającym penetrację ALA przez skórę. Przedstawione osiągnięcie naukowe, którego dr Osiecka jest głównym autorem, stanowi dużą wartość poznawczą i praktyczną, zwłaszcza dla dermatologii, gdzie lista schorzeń z możliwymi i potencjalnymi wskazaniami do leczenia ALA-PDT, jest długa. Wyniki powyższej pracy zostały opublikowane w USA w *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* (2006).

W kolejnej pracy nad zwiększeniem skuteczności PDT, dr Osiecka badała połączenie jej z inhibitorami peptydaz cysteinowych (CPI). Inhibitory peptydaz cysteinowych są obecnie wykorzystywane w badaniach jako czynniki ograniczające lub hamujące wzrost nowotworów złośliwych, m.in. jajnika, żołądka sutka. Badanie ("The use of fractal dimension analysis in estimation of blood vessels shape in transplantable mammary adenocarcinoma in Wistar rats

after photodynamic therapy combined with cysteine protease inhibitors". *Comput Math Methods Med* 2012), przeprowadziła *in vivo*, na szczurach Wistar z przeszczepialnym gruczolakorakiem sutka, oceniając skuteczność terapii skojarzonej (PDT+CPI), w porównaniu do monoterapii: tylko metodą PDT lub CPI. Uzyskane wyniki pokazały większą efektywność leczenia metodą skojarzoną (PDT+CPI), która skutkowała dłuższym czasem przeżycia zwierząt i większą rozległością martwicy w obrębie guza. Oszacowanie skuteczności takiej modyfikacji PDT przeprowadziliśmy także, wykorzystując analizę wymiarów fraktalnych (FD) do oceny morfologicznej naczyń krwionośnych wewnątrz guza, po zakończonych procedurach terapeutycznych. Wiadomym jest, że mechanizm PDT obejmuje wpływem także naczynia krwionośne, które są ważnym celem na drodze do niszczenia guza. Analiza fraktalna to nowoczesna metoda matematyczna, służąca do opisu złożonych, nieregularnych kształtów, występujących zwłaszcza w układach biologicznych. Wiele badań wskazuje na znaczące różnice w wartościach FD oceniających morfologię naczyń między tkanką prawidłową a nowotworową, a także między nowotworem o niskiej i wysokiej złośliwości. Wyniki pokazały, że najwyższą wartość fraktalną miała grupa kontrolna (bez leczenia), natomiast zastosowanie leczenia metodą PDT, CPI oraz PDT+CPI wpłynęło na zmniejszenie wymiaru fraktalnego. Najniższą wartość FD obserwowano w grupie zwierząt poddanej terapii skojarzonej (PDT+CPI). Uzyskane rezultaty wskazują, że terapia fotodynamiczna w połączeniu z inhibitorami peptydaz cysteinowych skutecznie zwiększa efektywność PDT w leczeniu gruczolakoraka sutka *in vivo*. Ponadto wykazano, że analiza wymiarów fraktalnych jest przydatnym parametrem do szacowania różnic w zakresie unaczynienia w guzach, leczonych metodą fotodynamiczną. Zastosowanie FD do oceny morfologicznej zmian w unaczynieniu guza, może być użyteczną metodą służącą do weryfikacji skuteczności PDT w układach biologicznych.

Kontynuacją poszukiwań naukowych dr Osieckiej związanych ze zwiększeniem potencjału PDT był projekt realizowany w ramach badań statutowych, dotyczący wpływu skojarzonego działania PDT i inhibitora syntezy cholesterolu - Lowastatyny (Lowa) na efekt antynowotworowy w komórkach raka jelita grubego SW 620. Dotychczasowe badania wskazują, że odpowiedź komórek nowotworowych na stres oksydacyjny w następstwie PDT, zależy nie tylko od parametrów terapii, ale również od warunków w środowisku guza. Występujący - często niski - poziom oksigenacji w nowotworze sprawia, że efekty realnego działania PDT *in vivo*, mogą różnić się od tych uzyskanych *in vitro*. Działanie cytotoksyczne PDT w warunkach hipoksji może okazać się zbyt słabe i powodować odpowiedź adaptacyjną w komórkach, której skutkiem będzie przeżycie nowotworu.



Dotychczasowe dane potwierdzają rolę cholesterolu w procesie onkogenezy, wskazując na zaburzony szlak jego syntezy w wielu nowotworach złośliwych, m.in. w raku jelita grubego. Potencjał przeciwnowotworowy statyn - antyproliferacyjny i proapoptotyczny - wykazano na modelach eksperymentalnych w wielu typach nowotworów złośliwych. Rak j. grubego, cechujący się mutacjami genów związanych z apoptozą, wykazuje oporność na standardowe chemioterapeutyki.

Celem badania była ocena skuteczności efektu cytotoksycznego Lowa i ALA - PDT działających oddzielnie, oraz sprawdzenie, czy połączenie obu metod zwiększy działanie cytotoksyczne - oraz - czy wpłynie na indukcję apoptozy w komórkach raka SW620. Badania przeprowadzono z zastosowaniem różnych stężeń preparatów i dawek światła. Efekt działania metody łączonej oceniliśmy, stosując schemat Lowa + PDT, w dawce wywołującej przeżycie komórek powyżej 50 % (MTT<50), co hipotetycznie może odpowiadać efektowi po PDT w warunkach hipoksji w środowisku guza. ▲ Do oceny apoptozy wykorzystaliśmy technikę cytometrii przepływową. W wyniku naszych badań stwierdziliśmy, że Lowastatyna wywołuje efekt antyproliferacyjny w komórkach, jednakże nie indukuje w nich śmierci apoptotycznej. Podobnie, zastosowanie ALA-PDT działa cytotoksycznie ale nie inicjuje w nich apoptozy, nawet po użyciu wysokich dawek światła. Natomiast połączenie obu metod (wstępna preinkubacja kk. z Lowa) skutecznie zwiększa działanie cytotoksyczne (59% vs 43%) spowodowane użyciem PDT w niskiej dawce (MTT<50), a ponadto indukuje apoptozę w 25,29% w komórkach rakowych, co wykazano w cytometrii przepływową. Wyniki badań przedstawiono w pracy ("Anti-tumor effect of the inhibitor of cholesterol synthesis pathway - lovastatin and photodynamic therapy in colorectal cancer in vitro". Acta Bio-Optica Inform. Med. - Inż. Biomed. 2017.) Jest to pierwsza w światowym piśmiennictwie publikacja, dokumentująca skuteczność połączonej metody – inhibitora syntezy cholesterolu i ALA - PDT - w zwiększeniu cytotoksyczności oraz indukcji apoptozy w komórkach raka j. grubego, mających mutacje w zakresie genów apoptotycznych.

Novum prezentowanej pracy stanowi odkrycie, że wstępna preinkubacja z Lowa może indukować apoptozę w komórkach, w których efekt działania metody fotodynamicznej jest niewystarczający (jak w hipoksji) by wywołać w nich cytotoletalność i śmierć apoptotyczną. Istotne jest również, że zastosowanie lowastatyny przed PDT zwiększa cytotoksyczność w komórkach po działaniu fotodynamicznym, co może się wiązać z hamującym wpływem statyny na procesy adaptacyjne uruchamiane w komórkach raka, w odpowiedzi na stres oksydacyjny. Innowacyjne połączenie terapii fotodynamicznej i statyny

stanowi potencjał dla zwiększenia skuteczności działania przeciwnowotworowego PDT w strategii walki z rakiem jelita grubego, cechującego się mutacjami w zakresie genów apoptotycznych i opornego na chemioterapię.

Wyniki przedstawionej pracy jest uważane za duże osiągnięcie naukowe, wskazujące kierunek dla rozwoju dalszych badań nad łączeniem PDT z inhibitorami syntezy cholesterolu w terapii onkologicznej.

Efektom współpracy interdyscyplinarnej z Instytutem Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego był udział dr Osieckiej w projekcie NCN realizowanym w ramach grantu KNOW-9, dotyczącym badań nad barwnikami fluorescencyjnymi typu BODIPY (difluoroboronowa pochodna dipirolu). Barwniki te wykorzystywane są obecnie jako markery w układach biologicznych oraz diagnostyce medycznej. Celem projektu była synteza nowych barwników typu BODIPY oraz zbadanie ich właściwości fizykochemicznych i biologicznych pod kątem cytotoksyczności wobec komórek nowotworowych, a w perspektywie - możliwości wykorzystania ich w terapii fotodynamicznej nowotworów. Udział Dr Osieckiej polegał na przeprowadzeniu etapu badań biologicznych, związanych z oceną wewnątrzkomórkowej dystrybucji barwników, oraz ocenie ich skuteczności fotodynamicznej i cytotoksyczności wobec komórek nowotworowych *in vitro*. Badania przeprowadzono na wybranym modelu linii komórkowej raka okrężnicy SW 480, wykorzystując różne stężenia barwników i różne parametry naświetlania. W wyniku przeprowadzonych badań na 3 nowych związkach, dr Osiecka stwierdziła działanie cytotoksyczne jednego fotouczulacza typu BODIPY, którego aktywność fotodynamiczna wobec komórek rakowych zwiększała się wraz z zastosowaniem wyższych dawek światła. W eksperymencie tym, po raz pierwszy wykorzystano światło zielone w PDT do oceny aktywności fotodynamicznej badanego barwnika, i stwierdzono, że światło to jest skuteczne w działaniu fotocytotoksycznym w naświetlanych komórkach. Wyniki badań pokazały, że rzeczywista reaktywność fotochemiczna danego fotouczulacza w układach biologicznych, może być inna niż określona w prostych modelach doświadczalnych. Uzyskane rezultaty zostały przedstawione w pracy („Synthesis, structural, spectroscopic, computational and cytotoxic studies of BODIPY dyes”. *Sensor. Actuat. B-Chem.* 2017; IF: 5.401).



Część dorobku naukowo-badawczego dr Osieckiej realizowana jest w oparciu o stałą współpracę z podmiotami klinicznymi (Kliniką Dermatologii, Kliniką Ginekologii, Katedrą Chirurgii Szczykowo - Twarzowej) Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Przykładem jest tu nie tylko przedstawiany cykl habilitacyjny, lecz także inne badania wychodzące tematycznie poza obszar związany z PDT.

Efektom wspólnych badań z Kliniką Dermatologii był projekt, dotyczący oceny poziomu porfiryn u chorych z twardziną skórą i układową. Twardzina należy do chorób autoimmunologicznych o złożonym patomechanizmie, której cechą jest nadmierna produkcja kolagenu. Występuje w 2 odmianach - jako postać skórna i układowa. Przyczyna nadmiernej aktywności fibroblastów nie jest do końca poznana. Porfiryny to związki o właściwościach absorbowania światła, przez co nabierają cech fotodynamicznych i światłouczulających. Biosynteza porfiryn w ustroju podlega kontroli enzymatycznej, a jej zablokowanie powoduje nagromadzenie i przechodzenie porfiryn do moczu i tkanek (m.in. skóry). W przebiegu porfirii skórnej później w skórze rozwijają się zmiany polegające na rozroście włókien kolagenowych, określane mianem twardziny rzekomej. Ich powstanie może być zależne od syntezy kolagenu przez pobudzone fibroblasty, pod wpływem porfiryn skumulowanych w skórze, co wykazano *in vitro*. Wobec powyższych danych, celem pracy było sprawdzenie, czy podobnie w twardzinie istnieje zaburzony profil poziomu porfiryn, który mogłyby wskazywać na możliwy ich udział w rozroście kolagenu. Badanie przeprowadziliśmy oceniając mocz z całodobowej zbiórki, pochodzący od pacjentów z twardziną skórą i układową. Cechą porfiryn jest czerwona fluorescencja w świetle niebieskim, co pozwala na ich wykrycie metodą makro- i mikrofluoroskopową. Mocz oceniano spektrofotometrycznie pod kątem obecności prekursorów porfiryn. Uzyskane przez wyniki wskazują jednoznacznie na podwyższony poziom porfiryn w moczu u pacjentów z twardziną. Nieprawidłowe wartości dotyczyły zwłaszcza prekursorów powstających w I etapie syntezy porfiryn: kwasu aminolewulinowego i porfobilinogenu. Mniejsze odchylenia od normy stwierdzono dla porfiryn II etapu syntezy, tj. uroporfiryny. Wyniki pracy po raz pierwszy pokazały, że w twardzinie występuje zaburzenie metabolizmu porfiryn, co być może ma wpływ na patomechanizm związany z nadprodukcją kolagenu, jednak hipoteza ta wymaga dalszych pogłębionych badań. (publikacje: „Evaluation of porphyrin content in urine from patients with localized and systemic scleroderma”. *Medical Science Monitor* 2005; „Evaluation of porphyrin levels in patients with skin and systemic scleroderma”. *Pol Journal of Pathology* 2004)).

W kolejnym badaniu klinicznym, z udziałem dr Osieckiej dokonano analizy porównawczej skuteczności leczenia ognisk AK, przy zastosowaniu innowacyjnego połączenia dwóch preparatów terapeutycznych stosowanych miejscowo w dermatologii. Do klasycznych metod leczenia AK należą krioterapia, laseroterapia, PDT, a także miejscowe stosowanie preparatów cytotoksycznych (fluorouracyl) i imiquimodu - lokalnego immunomodulatora. Metody inwazyjne mogą jednak powodować powstanie blizn, co przy licznych ogniskach AK stanowi problem natury kosmetycznej. Z kolei miejscowo działające preparaty powodują nierzadko duży dyskomfort i ból, co zniechęca pacjentów do kontynuowania terapii. Diklofenak należy do leków z grupy niesterydowych przeciwzapalnych (NSAID), którego działanie wpływa hamująco na cyklooksygenazę -2 (COX-2), co zmniejsza syntezę prostaglandyn. Dane literaturowe wskazują na skuteczność miejscowo stosowanego diklofenaku w leczeniu AK, a leczenie preparatem komercyjnym w postaci 3 % żelu (Solaraze) jest stosunkowo dobrze tolerowane. Tazaroten należy do nowej generacji retinoidów. Wykazuje specyficzne powinowactwo do receptorów RAR, wpływając regulująco na proliferację i różnicowanie komórek a ponadto, hamując szlak kwasu arachidonowego, zmniejsza stan zapalny i reguluje proces rogowacenia. Dodatkowo jest on, spośród retinoidów, stosunkowo dobrze tolerowany przez skórę. Stosowany jest w dermatologii w leczeniu łuszczycy i trądziku. W pracy („Using photodynamic therapy to estimate effectiveness of innovative combined diclofenac and tazaroten therapy of disseminated actinic keratosis”, Acta Dermatovenerol Croat 2015) W pracy oceniono skuteczność leczenia licznych ognisk AK za pomocą monoterapii - w postaci 3% diklofenaku oraz po zastosowaniu metody łączonej - z użyciem 0,1 % tazarotenu. Dodatkowo, efekty przeprowadzonej kuracji zbadano za pomocą detekcji fotodynamicznej (PDD), umożliwiającej dzięki zjawisku fluorescencji, wykrycie ognisk patologicznych niewidocznych w świetle widzialnym. Ocenę kliniczną skuteczności prowadzonego badania przeprowadzono po 2 i 3 miesiącach od zakończenia terapii. W wyniku zastosowanego leczenia stwierdzono, że metoda połączona (diklofenac i tazaroten) wykazuje większą skuteczność w eradykacji ognisk AK - (77,5%) w stosunku do monoterapii diklofenakiem - (60%). Również, przeprowadzona kontrola detekcją fotodynamiczną wykazała utrzymujący się po 3 miesiącach trwały efekt użycia terapii skojarzonej ( brak fluorescencji w leczonych ogniskach ). W przypadku monoterapii diklofenakiem, zaobserwowano pojawienie się fluorescencji w kilku leczonych zmianach AK, po 2 miesiącach od zakończenia kuracji. Osiągnięty przez pozytywny efekt leczenia AK wskazuje na możliwość wprowadzenia terapii skojarzonej (diklofenak i tazaroten) w



przypadkach licznych ognisk AK, zwłaszcza przy złej tolerancji innych preparatów stosowanych miejscowo. Ponadto, przedstawiona praca dokumentuje dużą użyteczność i zasadność stosowania detekcji fotodynamicznej w praktyce klinicznej, zwłaszcza przy ocenie skuteczności leczenia patologicznych zmian skórnych o potencjale nowotworowym, jakim jest AK.

W pracy („Photodynamic therapy of vulvar lichen sclerosus et atrophicus in a woman with hypothyreosis – case report”. Photodiagn. Photodyn.Ther. 2012) Dr Osiecka z zespołem oceniła skuteczność leczenia nasilonych objawów liszaja twardzinowego sromu u młodej, 27- letniej kobiety z hypotyreozą, u której zastosowaliśmy PDT z wykorzystaniem 20 % ALA. Zmiany chorobowe, trwające od 3 lat, miały postać zlewnych ognisk z obecnością liniowych pęknięć i nadżerek, którym towarzyszył intensywny świąd i pieczenie. Stosowane miejscowe leczenie dermatologiczne przynosiło doraźną poprawę w czasowym łagodzeniu objawów subiektywnych. W miarę postępu choroby pacjentka zauważyła nadmierną suchość i łatwą urażalność całej błony śluzowej sromu i pochwy. Wyraźną poprawę stanu chorobowego obserwowała podczas pobytów nad morzem. Objawy te zasugerowały nam wykonanie badania poziomu hormonów, które potwierdziły podejrzenie niedoczynności tarczycy. W leczeniu zastosowaliśmy terapię fotodynamiczną (20% ALA aplikowany na 4 h ; naświetlanie światłem czerwonym - 630 nm ; dawka światła - 150 J/cm<sup>2</sup>) , którą przeprowadzono łącznie 6 razy. Wdrożono także leczenie substytucyjne niedoczynności tarczycy (Euthyrox). W wyniku przeprowadzonego leczenia uzyskano niemal całkowite ustąpienie uporczywych dolegliwości subiektywnych - intensywnego, ciągłego świądu i pieczenia. Stwierdzono także wyraźną poprawę stanu miejscowego sromu - brak nadżerek i liniowych pęknięć, a także zdecydowany wzrost nawilżenia całej błony śluzowej. Wyniki przedstawione w pracy potwierdzają dużą skuteczność ALA – PDT oraz zasadność włączenia metody fotodynamicznej do leczenia zmian LS sromu, szczególnie opornego na standardowe leczenie miejscowe. Osiągnięta u pacjentki poprawa może mieć związek nie tylko z zastosowaniem PDT , ale także wykryciem niedoczynności tarczycy i włączeniu substytucyjnego leczenia. Unormowanie funkcji tarczycy prawdopodobnie wpłynęło na poziom hormonów płciowych, co z kolei przełożyło się na poprawę stanu błony śluzowej i jej nawilżenia, co sugeruje powiązania objawów LS z zaburzeniami hormonalnymi.

Nowatorskim akcentem w prezentowanej pracy jest też zwrócenie uwagi na potrzebę wykonywania badania poziomu hormonów tarczycy, zwłaszcza u młodych kobiet z LS u, których stwierdza się nadmierną suchość błony śluzowej sromu i pochwy.

Dr Osiecka w ramach współpracy z Katedrą Chirurgii Szcękowo- Twarzowej uczestniczyła w badaniach nad zastosowaniem terapii fotodynamicznej, jako metody diagnostycznej i leczniczej, w schorzeniach błony śluzowej jamy ustnej. Uzyskane wyniki wskazują na duży potencjał PDT w stomatologii, zwłaszcza w leczeniu leukoplakii i stanów nowotworowych. Efekty tych badań przedstawiono w publikacjach oraz w ramach doniesień konferencyjnych zagranicznych („Photodynamic detection in visualization of cutaneous and oral mucosa premalignant and malignant lesions: two clinical cases”. Photonics, devices, and systems IV: proceedings volume . Praga 2008) i krajowych (Książ 2007). (publikacje: „Use of photodynamic therapy in the treatment of recurrence of leukoplakia after surgical intervention”. Dent. Med. Prob. 2007; „Potentiality of photodynamic therapy in dentistry - literature review”. Dent. Med. Prob. 2007).

#### 5. Opisy ciekawych przypadków klinicznych.

Aktywność naukowa Dr Osieckiej związana jest także z publikowaniem opisów ciekawych przypadków klinicznych, leczonych za pomocą terapii fotodynamicznej. Przykładem jest tu praca, dotycząca leczenia nowotworowych zmian skórnych w *xeroderma pigmentosum*, czy też przypadek leczenia nieoperacyjnego, wrzodziejącego raka podstawnokomórkowego (BCC) u 100- letniej pacjentki. („Photodynamic therapy of xeroderma pigmentosum – case report”. W: Aspects of photodynamic medicine II. Some clinical aspects and case reports; eds H. Podbielska, A. Sieroń, W. Stręk; Wrocław: Kriotechnika medyczna ; Indygo Zahir Media 2008); („Inoperable ulcerating basal-cell carcinoma (BCC) in a 100 years old patient treated with photodynamic therapy (PDT). Acta Bio-Optica Inform. Med. 2006.)

#### 6. Aktualnie prowadzone badania i plany naukowe

Niezmiennie, główną tematyką bieżących zainteresowań i aktywności naukowej Dr Osieckiej jest terapia fotodynamiczna, badania nad możliwością szerszego jej wykorzystania w praktyce klinicznej, a także optymalizacja parametrów PDT i jej możliwość łączenia z innymi metodami, w celu zwiększenia skuteczności leczenia oraz poprawy tolerancji przez pacjentów.

Aktualnie kontynuuje rozpoczęty przeze mnie projekt statutowy, dotyczący zastosowania miejscowej terapii fotodynamicznej w leczeniu schorzeń skóry i błon śluzowych, oceniając wpływ różnych modyfikacji PDT na uzyskaną efektywność leczenia. Prowadzone obserwacje wskazują na skuteczność połączenia PDT z kalcytriolem, w uzyskaniu lepszej odpowiedzi na leczenie.



Rozpoczęła także badania , we współpracy z Kliniką Ginekologii i Położnictwa ( prof. Lidia Hirnle), których celem jest ocena immunohistochemiczna, histopatologiczna i kliniczna u chorych z liszajem twardzinowym sromu przed PDT i po terapii. Materiał do badań stanowią wycinki pobrane od pacjentek przed PDT oraz po cyklu naświetlań. Ponieważ niewiele jest prac dotyczących wpływu PDT na zmiany histoarchitektoniki w przebiegu LS oraz oddziaływania na procesy immunologiczne, zakładamy, że otrzymane wyniki badań wniosą aspekty poznawcze, dotyczące mechanizmu działania terapii w liszaju twardzinowym sromu.

#### **IV Informacja o współpracy naukowej, osiągnięciach dydaktycznych i działalności popularyzującej naukę**

Kierowanie lub udział w projektach badawczych

1. Dr Osiecka brała udział w krajowych projektach badawczych finansowanych przez KBN; NCN/MNiSW; wykonawca:
  - Zastosowanie nowych fotouczulaczy w fotodynamicznej terapii nowotworów z uwzględnieniem mechanizmu ich działania (nr rej. 4 PO5B 035 14).
  - Znaczenie białek regulatorowych w odpowiedzi komórek nowotworowych na terapię fotodynamiczną. ID projektu: N401 196539.
  - Zastosowanie nośników liposomowych i inhibitorów metaloproteinaz do wzmocnienia efektu terapii fotodynamicznej przy zastosowaniu kwasu minolewulinowego. ID projektu: N 401 015 32/0251.
  - Synteza, badania eksperymentalne i teoretyczne grupy barwników fluorescencyjnych typu BODIPY oraz badania ich właściwości cytotoksycznych wobec komórek nowotworowych .  
RFBR (no: 16-03 -00405); NCN (nr:2011/03/B/NZ1/00007 (TS)) .
2. Projekty badawcze realizowane w ramach badań własnych Uczelni:
  - 2000 – 2002 „ Zachowanie się czynników wzrostowych : zasadowego fibroblastycznego (bFGF) oraz naczyniowego śródbłonkowego (VEGF) w następstwie terapii fotodynamicznej w warunkach in vivo, przy użyciu technik immunoenzymatycznych”; główny wykonawca.
  - 2003 - 2004 „ Ocena poziomu porfiryn u chorych z twardziną skórną i układową”; kierownik projektu.
  - 2013 - 2016 „Badania nad wpływem skojarzonego działania Lowastatyny i terapii fotodynamicznej (PDT) na efekt antynowotworowy w wybranych liniach raka jelita grubego”; kierownik projektu.

- od 2018 - „ Wpływ terapii fotodynamicznej (PDT) na zmiany kliniczne, histopatologiczne i immunohistochemiczne u chorych z liszajem twardzinowym (LS) sromu, przed PDT i po terapii”; kierownik projektu’
- od 2017 - „ Zastosowanie miejscowej terapii fotodynamicznej w leczeniu wybranych schorzeń skóry i błon śluzowych - jako metody alternatywnej wobec stosowanych standardowo technik inwazyjnych i farmakoterapii”; kierownik projektu.
- 

3. Dr Osiecka brała udział w badaniach w ramach współpracy z ośrodkami zagranicznymi, których

efektem są wymienionei przedstawione w autoreferacie publikacje:

- Vilnius University, Faculty of Physics  
(“New sensitizer in PDT sulfoxaporphyrin: photophysical properties”. W:Proceedings IPA'98: 7th Biennial Congress International Photodynamic Association. Francja, 1998 )
- Queen Mary and Westfield College, University of London :  
(“Determination of Vascular-Endothelial Growth Factor levels in serum from tumor-bearing BALB/c mice treated with photodynamic therapy”. Med. Sci. Monit. 2003 ;  
“Determination of basic fibroblast growth factor levels in serum of tumor-bearing BALB/c mice treated with photodynamic therapy”. Pol. J. Pathol. 2003).
- Max Planck Institut, Dep Department of Proteomics and Signal Transduction , Martinsried, Germany ( grupa prof. Wiśniewskiego):  
(“Immunohistochemical and proteomic evaluation of nuclear ubiquitous casein and cyclin-dependent kinases substrate in invasive ductal carcinoma of the breast”. J. Biomed. Biotechnol. 2009 ).

4. Uczestniczyłam w badaniach w ramach współpracy z polskimi ośrodkami :

- Uniwersytetem Wrocławskim  
(„ Tumor histopathology following new sensitizers: dithiaporphyrin- and sulfoxaporphyrin-mediated photodynamic therapy”. Anticancer Res. 1999)  
(“Synthesis, structural, spectroscopic, computational and cytotoxic studies of BODIPY dyes”. Sensor. Actuat. B-Chem. 2017)
- Politechniką Wrocławską i Instytutem Niskich Temperatur PAN ( grupa prof. Stręka)  
(„Fotodynamiczna diagnostyka nowotworów skóry za pomocą kwasu delta-aminolewulinowego oraz cyfrowej rejestracji i obróbki obrazu”. Dermatol. Klin. 2006)

5. Dr Osiecka Współpracowała z Zakładami i Klinikami w ramach Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, a efektem tych badań są wymienione poniżej prace, omówione przeze mnie w autoreferacie:



- z Zakładem Biochemii  
( „ In vitro and in vivo matrix metalloproteinase expression after photodynamic therapy with a liposomal formulation of aminolevulinic acid and its methyl ester”. Cell.Mol.Biol.Lett. 2010; “Immunocytochemical studies on the nuclear ubiquitous casein and cyclin-dependent kinases substrate following 5-aminolevulinicacid-mediated photodynamic therapy on MCF-7 cells”. Photodiagn. Photodyn. Ther. 2013)
- z Zakładem Histologii I Embriologii  
(“ Anti-tumor effect of the inhibitor of cholesterol synthesis pathway - lovastatin and photodynamic therapy in colorectal cancer in vitro”. Acta Bio-Optica Inform. Med.-Inż.Biomed. 2017)
- z Kliniką Dermatologii I Wenerologii  
( „Photodynamic therapy with red light and 5-aminolaevulinic acid for herpes simplex recurrence: preliminary results”. Acta Derm.-Venereol. 2017; “ Treatment of actinic keratosis with photodynamic therapy using red or green light: A comparative study”. Acta Derm.-Venereol. 2018 )
- z Kliniką Ginekologii i Położnictwa  
(„ Photodynamic therapy with green light for the treatment of vulvar lichen sclerosis - preliminary results”. Photodiagn. Photodyn. Ther. 2017 )

#### 6. Recenzje w czasopismach naukowych

Wykonała recenzję manuskryptów dla redakcji czasopisma: Kosmetologia estetyczna.

#### 7. Otrzymane nagrody i wyróżnienia

DR Beacie Osieckiej przyznane następujące nagrody:

1. Nagroda indywidualna I Stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowo-badawczej w 2000 r., przez Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu.
2. Nagroda zespołowa I Stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowo-badawczej w 2000 r., przez Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu.
3. Nagroda zespołowa za ważne osiągnięcia w pracy naukowej, za cykl pracdotyczących badań nad terapią fotodynamiczną nowotworów i zmian nienowotworowych w2012r. , przez Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.
4. Nagroda indywidualna I Stopnia za ważne i twórcze osiągnięcia w

5. pracynaukowej w 2017 r., przez Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

## 8. Staże i szkolenia dr Osieckiej

Dr Osiecka odbyła następujące szkolenia krajowe :

- 1996 – „Terapia kolagenowa w oparciu o implanty Zyderm, Zyplast”,Warszawa; Derm-Service Pologne
- 1996 – „Lasery w medycynie” Warszawa
- 2003 – kurs „Onkologia dermatologiczna” Wrocław
- 2003 – kurs „Lecznictwo dermatologiczne” Katowice
- 2004 - kurs „Fotobiologia w dermatologii” Warszawa
- 2007 – kurs „Cytologia exfoliatywna dla patomorfologów” Szczecin
- 2007 – kurs „Cytodiagnostyka szyjki macicy” Szczecin
- 2011– „ Viofor S-PDT do terapii fotodynamicznej’ Komorów

## 6. Członkostwo w towarzystwach naukowych dr Osieckiej

Jest członkiem następujących towarzystw naukowych:

- Polskie Towarzystwo Dermatologiczne (PTD)
- Polskie Towarzystwo Patologów (PTP) - pełnię funkcję sekretarza Wrocławskiego Oddziału PTP od 2016 r.
- Polskie Towarzystwo Histochemików i Cytochemików (PTHiC).
- Polskie Towarzystwo Medycyny Fizykalnej i Laserowej (PTMFL)

## V Działalność dydaktyczna

### 1. Szkolenie przeddyplomowe

- W latach 1989 -2001 , będąc zatrudniona w Katedrze Histologii, prowadziła zajęcia dydaktyczne (ćwiczenia i seminaria) dla studentów I i II roku Wydziału Lekarskiego i Lekarsko-Stomatologicznego z przedmiotu histologia, a także seminaria z



cytofizjologii i embriologii.

- Od roku 2001 jest zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii , gdzie pełni funkcję adiunkta; prowadzi zajęcia dydaktyczne ( ćwiczenia, seminaria , wykłady) z przedmiotu patomorfologia, ze studentami II i III roku Wydziału Lekarskiego. Współorganizowała odbywający się co roku w Katedrze konkurs wiedzy z patomorfologii dla studentów III roku - Fundamentum Aureum. W ramach zajęć dydaktycznych , brała udział w zmodyfikowaniu zasad egzaminu końcowego z Patomorfologii , współuczestnicząc w opracowaniu obowiązującego obecnie egzaminu testowego, opartego na własnej bazy pytań, i uczestniczy w jej aktualizacji co roku.
- W 2016 r utworzyła pierwsze, działające przy Katedrze Patomorfologii, Studenckie Koło Naukowe (SKN ) **Terapii Fotodynamicznej** , które zostało wciągnięte na listę SKN-ów funkcjonujących w Uniwersytecie Medycznym ( nr OS 142). Jestem opiekunem naukowym 6 studentów z V roku Wydziału Lekarskiego, należących do SKN, którzy biorą aktywny udział w prezentowaniu prac na międzynarodowych i krajowych **konferencjach naukowych**, m.in.:
  - „**Photodynamic therapy as a novel strategy in clinical practice**”.III Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Dilemmas of scientific research in various fields of science: natural sciences, science and technology, economic and social sciences, humanistic sciences”. Katowice, 2017 .
  - „**Nowotwory niemelanocytowe skóry – epidemiologia, patomorfologia oraz możliwości ich wczesnej diagnostyki i leczenia**”.The International Conference of Natural and Medical Sciences:Young Scientists,PhD Students and Students. Lublin, 2017.
  - „**Miejsce terapii fotodynamicznej w dermatologii onkologicznej**”.VI Ogólnokrajowa Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce-Badania i Rozwój”. Poznań, 2017.

Studenci SKN uczestniczą także w sesjach Dolnośląskiego Festiwalu Nauki (DFN), jak też publikują **prace pogładowe**, popularyzujące zastosowanie PDT w medycynie klinicznej:

- **Terapia fotodynamiczna - od teorii do praktyki**.Współczesne zarządzanie biznesem, podejście interdyscyplinarne . Wydawnictwo Fundacji Biznesu i Nauki, 2017.
- **The role of photodynamic therapy as a novel strategy in clinical practice**. World

Sci. News 2017.

- **Non-melanoma skin cancers: perspectives of early diagnosis and therapy.** MEDtube Science, issue 2, 2018.
  - **Miejsce terapii fotodynamicznej w dermatologii onkologicznej.** Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce. Monografia w: Nauki medyczne i nauki o zdrowiu - część II; Poznań, 2018.
- Od 2015 r jest wykładowcą w Niepublicznej Wyższej Szkole Medycznej we Wrocławiu. Prowadzi regularnie zajęcia dydaktyczne (seminaria, wykłady, egzamin) z przedmiotu alergologia dla studentów III roku Kosmetologii, oraz z przedmiotu Patologia, dla całego kierunku Pielęgniarstwa.
- Biorę aktywny udział w sesji wyjazdowej (Dzierżoniów, Wałbrzych, Jelenia Góra, Zgorzelec), organizowanego co roku Dolnośląskiego Festiwalu Nauki, prezentując wraz ze studentami SKN, wykłady o terapii fotodynamicznej.

## **2. Szkolenie podyplomowe**

- W 2005 r była współorganizatorem i wykładowcą organizowanego przez Katedrę i Zakład Medycyny Rodzinnej i Katedrę Patomorfologii kursu doształcającego dla lekarzy rodzinnych, dotyczącego zastosowania PDT w codziennej praktyce.
- Bierze udział w prezentacjach referatów dla patologów i lekarzy specjalizujących się na zebraniach (konferencjach szkoleniowych) Wrocławskiego Oddziału PTP, odbywających się w Katedrze Patomorfologii UM we Wrocławiu.

## **3. działalność organizacyjna i popularyzująca naukę**

### **a. popularyzowanie nauki**

**Dr Osiecka bierze aktywny udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki (DFN) uczestnicząc w sesjach wyjazdowych (Dzierżoniów, Wałbrzych, Jelenia Góra, Zgorzelec), podczas których prezentuję wraz ze studentami Studenckiego Koła Naukowego Terapii Fotodynamicznej, wykłady popularyzujące wiedzę z zakresu metody fotodynamicznej.**

**W ramach popularyzowania wiedzy o terapii fotodynamicznej, prowadziła wykłady na Uniwersytecie Trzeciego Wieku w 2016 r.**



#### **b. działalność organizacyjna (organizacja kongresów, zjazdów)**

Od początku mojej pracy zawodowej czynnie angażowała się w działalność organizacyjną, ucząc się, jak przygotowywać konferencje i zjazdy od strony merytorycznej organizacyjnej. Pod kierownictwem prof. dr hab. Macieja Zabla oraz prof. dr hab. Piotra Ziółkowskiego, miała możliwość partycypować jako członek komitetu organizacyjnego w wielu tego typu wydarzeniach naukowych, o różnym charakterze i rozmachu. Donajważniejszych z nich należą:

- **Międzynarodowe Sympozjum: International Symposium on Photodynamic therapy –ISOPT. Wrocław 1997.**
- **Międzynarodowa Konferencja: 13 th European Society for Photobiology/ the 2 Conference of the European Platform for Photodynamic Medicine (ESP/EPPM), Wrocław, 2009.**
- **XXX Konferencja Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików (PTHiC), Sobótka - Górka 1993.**
- **XXXI Konferencja Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików (PTHiC), Wrocław Sobótka 1995.**
- **XVI Kongres Polskiego Towarzystwa Patologów, Wrocław, 2004.**
- **I Ogólnopolska Konferencja „Biomarkery w chorobach nowotworowych”, Wrocław, 2015**
- **II Ogólnopolska Konferencja „Biomarkery w chorobach nowotworowych”, Książ, 2017.**

#### **c. modernizacja Pracowni Terapii Fotodynamicznej w Katedrze Patomorfologii.**

W 2012 roku kierownik Katedry Patomorfologii prof. dr hab. Piotr Ziółkowski powierzył Dr Osieckiej funkcję kierowania Pracownią Terapii Fotodynamicznej, działającej w naszym Zakładzie. Od tego czasu zaczęła wprowadzać modernizację wyposażenia placówki, realizując m.in. zakup nowego sprzętu optycznego, co pozwoliło na stworzenie nowoczesnego zaplecza, dzięki czemu Pracownia poszerzyła zakres działalności naukowo - badawczej, stając się Pracownią Diagnostyki i Terapii Fotodynamicznej.

## **VI Podsumowanie.**

Reasumując stwierdzam, że dr Beata Osiecka ma oryginalny wartościowy dorobek naukowy i jest dojrzałym pracownikiem nauki, predysponowanym do samodzielnego wykonywania prac badawczych.

Zarówno dorobek naukowy jak i interesujące publikacje przedstawione jako dorobek do osiągnięcia stopnia dr habilitowanego stanowią twórczy wkład w rozwój wiedzy medycznej i w pełni potwierdzają Jej dojrzałość naukową.

Habilitantka wykazała się umiejętnością stawiania hipotez badawczych, umiejętności zastosowania nowoczesnych metod badawczych w realizacji tych celów oraz dojrzałego analizowania otrzymanych wyników i formułowania prawidłowych wniosków.

Dorobek naukowy Habilitantki stanowi nowatorski niezmiernie praktyczny aspekt poznawczy dotyczący badań nad terapią fotodynamiczną, badań histopatologicznych, onkologicznych i dermatologicznych przez co stanowi istotny wkład w rozwój nauk medycznych spełniający wymagania art. 16 ustawy 2 z dnia 14.03.2003r. o stopniach i tytułach naukowych w zakresie sztuki (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.).

Biorąc pod uwagę wymienione osiągnięcia Habilitantki mam zaszczyt przedłożyć wysokiej Radzie I Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o nadanie dr Beacie Osieckiej stopnia doktora habilitowanego nauk medycznych.

Poznań, 23 kwietnia 2019



Prof. Dr hab. Zygmunt Adamski