

Autoreferat

dr inż. Agnieszka Nowak-Terpiłowska

Katedra Biochemii i Biotechnologii

Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28
60-637 Poznań
agnieszka.terpilowska@up.poznan.pl

Poznań, 2024

1. Imię i nazwisko.

Agnieszka Nowak-Terpiłowska

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

15.03.2013 r. – **doktor nauk rolniczych** (w dyscyplinie naukowej: biotechnologia), Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii (obecnie Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii), rozprawa doktorska pt.: „Modyfikacje genomu świni ekspresyjnymi konstrukcjami genowymi w celu uzyskania narządów opornych na ostre odrzucenie ksenoprzeszczepu” - promotor: prof. dr hab. Ryszard Słomski; rozprawa doktorska została wyróżniona przez Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii.

13.06.2008 r. – **mgr inż. biotechnologii**, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolniczy (obecnie Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii), praca magisterska pt. „Analiza porównawcza wybranych sekwencji mitochondrialnego DNA bydła stepowego, bantenga i watussi” - promotor: prof. dr hab. Daniel Lipiński.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

01.03.2014 r. – obecnie – **adiunkt** badawczo-dydaktyczny, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.

01.10.2012 – 28.02.2014 r. – **asystent**, Zakład Funkcji Kwasów Nukleinowych, Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

4. **Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). Omówienie to winno dotyczyć merytorycznego ujęcia przedmiotowych osiągnięć, jak i w sposób precyzyjny określać indywidualny wkład w ich powstanie, w przypadku, gdy dane osiągnięcie jest dziełem współautorskim, z uwzględnieniem możliwości wskazywania dorobku z okresu całej kariery zawodowej.**

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Wpływ wybranych czynników fizykochemicznych na aktywność metaboliczną komórek w modelu *in vitro*.

4.2. Cykl publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

Osiągnięcie naukowe składa się z cyklu 5 oryginalnych prac eksperymentalnych opublikowanych w czasopiśmie naukowych, których sumaryczny *Impact Factor* (IF) wynosi 12,607, a liczba punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (MNiSW)* 450.

*punktacja prac opublikowanych w latach 2021-2023 zgodna z wykazem z roku opublikowania

- 4.2.1. **Nowak-Terpiłowska A.***, Górski R., Marszałek M., Wosiński S., Przesmycki R., Bugaj M., Nowosielski L., Baranowski M., Zeyland J. 2023. Effects of 2.4 GHz radiofrequency electromagnetic field (RF-EMF) on glioblastoma cells (U -118 MG). *Annals of Agriculture and Environmental Medicine*, vol. 30 (no. 4).
IF₂₀₂₃: 1,700. MNiSW₂₀₂₃: 140.

Mój wkład w wyżej wymienioną publikację polegał na zaprojektowaniu i koncepcji badań, w szczególności dotyczących analizy żywotności komórek poddanych działaniu pola elektromagnetycznego oraz na przeprowadzeniu prac laboratoryjnych w tym zakresie, opracowaniu hipotez badawczych, opracowaniu i interpretacji wyników związanych z analizą żywotności komórek, przygotowaniu części manuskryptu i sformułowaniu wniosków, ostatecznej akceptacji artykułu oraz przygotowaniu odpowiedzi na recenzje. Udział poszczególnych autorów został

potwierdzony stosownymi oświadczeniami (załączniki 4.2.1a, 4.2.1b, 4.2.1c, 4.2.1d, 4.2.1e, 4.2.1f, 4.2.1g, 4.2.1h, 4.2.1i).

4.2.2. Nowak-Terpiłowska A.*, Nowak I., Feliczak-Guzik A., Wyganowska M. 2023.

Analysis of the impact of ethanol extract of *Calendula officinalis* L. on human fibroblast cell cultures using the PANsys 3000 device for breeding and visualization of cells. Life, 13(10), 1949.

IF₂₀₂₃: **3,200**. MNiSW₂₀₂₃: **70**.

Mój wkład w wyżej wymienioną publikację polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaprojektowaniu metodyki dotyczącej badań na liniach komórkowych, przeprowadzeniu analiz i doświadczeń laboratoryjnych dotyczących żywotności komórek, przygotowaniu części manuskryptu, ostatecznej akceptacji artykułu oraz odpowiedzi na recenzje. Udział poszczególnych autorów został potwierdzony stosownymi oświadczeniami (załączniki 4.2.2a, 4.2.2b, 4.2.2c, 4.2.2d).

4.2.3. Nowak-Terpiłowska A., Zeyland J., Hryhorowicz M., Śledziński P.,

Wyganowska-Świątkowska M*. 2023. Influence of three laser wavelengths with different power densities on mitochondrial activity of human gingival fibroblasts in cell culture. Life, 13(5), 1136.

IF₂₀₂₃: **3,200**. MNiSW₂₀₂₃: **70**.

Mój wkład w wyżej wymienioną publikację polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaprojektowaniu doświadczeń, przeprowadzeniu badań związanych z prowadzeniem hodowli komórkowych, zastosowaniem lasera oraz analizą żywotności komórek, opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków, przygotowaniu manuskryptu oraz odpowiedzi na recenzje. Udział poszczególnych autorów został potwierdzony stosownymi oświadczeniami (załączniki 4.2.3a, 4.2.3b, 4.2.3c, 4.2.3d, 4.2.3e).

4.2.4. Nowak-Terpiłowska A.**, Śledziński P.*, Zeyland J. 2021. Impact of cell harvesting methods on detection of cell surface proteins and apoptotic markers. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 54(2).

** - równorzędny pierwszy autor, autor korespondencyjny.

IF₂₀₂₁: **2,904**. MNiSW₂₀₂₁: **70**.

Mój wkład w wyżej wymienioną publikację polegał na zaprojektowaniu i opracowaniu koncepcji badań, wykonaniu wszystkich doświadczeń związanych z hodowlami komórkowymi, tj. cytometrycznej analizy antygenów powierzchniowych i apoptozy, przygotowaniu manuskryptu i sformułowaniu wniosków, ostatecznej ocenie artykułu i odpowiedzi na recenzje. Udział poszczególnych autorów został potwierdzony stosownymi oświadczeniami (załączniki 4.2.4a, 4.2.4b, 4.2.4c).

4.2.5. Górski R.*, **Nowak-Terpiłowska A.****, Śledziński P., Baranowski M., Wosiński S. Morphological and cytophysiological changes in selected lines of normal and cancer human cells under the influence of a radio-frequency electromagnetic field. 2021. Annals of Agriculture and Environmental Medicine, vol. 28 (no. 1), s. 163-171.

** - równorzędny pierwszy autor, autor korespondencyjny.

IF₂₀₂₁: **1,603**. MNiSW₂₀₂₁: **100**.

Mój wkład w wyżej wymienioną publikację polegał na opracowaniu koncepcji badań, w szczególności dotyczących zaprojektowania doświadczeń, prowadzenia hodowli komórkowych, analizy żywotności komórek poddanych działaniu pola elektromagnetycznego oraz na przeprowadzeniu wszystkich prac laboratoryjnych w tym zakresie, opracowaniu hipotez badawczych, opracowaniu i interpretacji wyników związanych z analizą żywotności komórek, przygotowaniu części manuskryptu i sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu odpowiedzi na recenzje. Udział poszczególnych autorów został potwierdzony stosownymi oświadczeniami (załączniki 4.2.5a, 4.2.5b, 4.2.5c, 4.2.5d, 4.2.5e).

4.3. Omówienie osiągnięcia naukowego

4.3.1. Wprowadzenie

Badania naukowe na komórkach w modelu *in vitro* odgrywają kluczową rolę w wielu dziedzinach biologii i medycyny, w tym w badaniach nad chorobami nowotworowymi, chorobami genetycznymi, zakaźnymi oraz w rozwoju nowych terapii

i leków. Linie komórkowe znajdują zastosowanie m.in. w badaniach podstawowych procesów komórkowych, takich jak cykl komórkowy, przekazywanie sygnałów czy mechanizmy apoptozy, w badaniach mechanizmów transformacji nowotworowej oraz ocenie skuteczności nowych leków, a także jako narzędzie w badaniach nad terapiami genowymi, interakcją komórek z patogenami czy w modelowaniu chorób. Linie komórkowe są niezwykle wszechstronnym narzędziem badawczym, które umożliwia naukowcom przeprowadzanie doświadczeń w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych i stanowią niezbywalny i obligatoryjny element badań przedklinicznych.

W ostatnich latach wpływ pola elektromagnetycznego (PEM) na komórki jest tematem intensywnych badań naukowych, zwłaszcza w kontekście rosnącej ekspozycji na różne źródła PEM, takie jak telefony komórkowe, linie wysokiego napięcia, a także urządzenia medyczne. Badania te dotyczą zarówno potencjalnych efektów biologicznych, jak i mechanizmów działania PEM na poziomie komórkowym. Urządzenia telekomunikacyjne, takie jak telefony komórkowe i Wi-Fi, stały się integralną częścią współczesnych systemów telekomunikacyjnych. Z uwagi na fakt, że długoterminowe skutki zdrowotne narażenia na 5G pozostają niejasne, pojawienie się tej technologii, wykorzystującej fale radiowe wysokich częstotliwości, wywołuje potrzebę przeprowadzenia kompleksowych ocen wpływu PEM na zdrowie (GSMA Mobile Economy. 2018; Choi i in., 2018). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) przypisała klasyfikację „możliwego czynnika rakotwórczego dla ludzi” polom elektromagnetycznym o częstotliwości radiowej (RF-EMF), które obejmują promieniowanie z urządzeń mobilnych i innych urządzeń emitujących niejonizujące PEM (WHO, Electromagnetic fields and public health: mobile phones, 2017). Istnieją również doniesienia naukowe ukazujące związek między używaniem telefonów komórkowych a nowotworami, m.in. gruczołów ślinowych (Sadetzki i in., 2008), chłoniakiem nieziarniczym czy rakiem piersi (Hardell i in., 2005; Linet i in., 2006; Hardell i in., 2008). W tym kontekście wpływ na proces karcynogenezy w komórkach przypisuje się uszkodzeniom DNA spowodowanym przez działanie pól elektromagnetycznych o wysokiej częstotliwości. Dokładne mechanizmy prowadzące do zmian w DNA w odpowiedzi na ekspozycję na RF-EMF nie zostały jeszcze w pełni zbadane (Hardell i in., 2007). W świetle powyższych zagrożeń idealnym rozwiązaniem byłoby stworzenie ekranu dostosowanego do tłumienia tych szkodliwych pól, aby

zmniejszyć jego negatywne skutki, zwłaszcza w przypadku komórek i tkanek podatnych na uszkodzenia DNA.

Kolejnym przykładem czynnika fizycznego oddziałującego na komórki jest światło lasera, którego wpływ zależy od długości fali, intensywności oraz czasu trwania ekspozycji. Lasery o niskiej mocy (ang. *low-level laser therapy*, LLLT) mogą stymulować komórki do wzrostu i regeneracji. LLLT oddziałuje na wiele procesów biologicznych w organizmie, takich jak zwiększenie proliferacji i ruchliwości komórek, intensyfikacja przebudowy macierzy pozakomórkowej, wywoływanie zmian metabolicznych w wybranych neuroprzekaźnikach, zwiększenie ekspresji czynników wzrostu oraz modulowanie odpowiedzi układu odpornościowego (Yin i in., 2017). Wymienione efekty dotyczą różnych typów komórek, w tym makrofagów, fibroblastów, komórek śródbłonna, komórek tłuszczowych czy też osteoblastów (Vijay Bakshi i in., 2022; Da Ré Guerra i in., 2017). Wysokoenergetyczne i niskoenergetyczne lasery są obecnie szeroko stosowane w medycynie, w zależności od emitowanej energii. Aby osiągnąć optymalny efekt terapeutyczny, konieczne jest zastosowanie odpowiedniej długości fali i właściwej dawki energii, które różnią się w zależności od zastosowania. Zbyt wysoka dawka może prowadzić do niekorzystnych skutków ubocznych, podczas gdy zbyt niska nie przyniesie żadnych zmian ani efektów terapeutycznych. Ważne jest również dobranie właściwego impulsu emisji o określonej częstotliwości. Charakterystyka i identyfikacja czynników wpływających na proliferację fibroblastów dziąsłowych ma ogromne znaczenie w dziedzinie periodontologii ze względu na potencjał związany z biostymulacją, hamowaniem wzrostu mikroorganizmów, destrukcją oraz regeneracją tkanek miękkich i twardych, co skutkuje korzystnym efektem terapeutycznym (Aoki i in., 2015). Terapeutyczne zastosowanie LLLT w medycynie jest bardzo skuteczne, niemniej podkreśla się potrzebę dalszych badań nad opracowaniem optymalnych parametrów (He i in., 2018; Clijsen i in., 2017).

Obecne badania naukowe wykorzystujące linie komórkowe jako model badawczy koncentrują się także na roli czynników chemicznych w leczeniu i zapobieganiu licznym chorobom. Wyniki badań wskazują, że ekstrakty z tradycyjnych ziół leczniczych wykazują działanie terapeutyczne, zarówno dzięki właściwościom antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym jak i poprzez aktywację ścieżek wzmacniających autofagię (Maher i in., 2017; Saleem i in., 2021). *Calendula officinalis* L. (CO, znana także jako nagietek lekarski) uznawana jest za ważną roślinę w medycynie tradycyjnej i szeroko stosowana w różnych aplikacjach terapeutycznych. CO, będąc źródłem

metabolitów wtórnych, posiada m.in. właściwości przeciwcukrzycowe, przeciwnowotworowe, antybakteryjne, przeciwwrzodowe, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwzakrzepowe, neuroprotektoryjne i ochronne dla skóry. Według Europejskiej Agencji Leków, olej z CO jest klasyfikowany jako produkt leczniczy ziołowy. Nagietek lekarski zawiera flawonoidy, triterpenoidy i saponiny, które wykazują silne działanie wspomagające gojenie ran i regenerację tkanek, co czyni go skutecznym w leczeniu stanów zapalnych dziąseł oraz owrzodzeń jamy ustnej. Zioła te mogą być stosowane w różnych formach, takich jak płukanki, pasty do zębów, żele czy napary, aby wspierać zdrowie dziąseł i zapobiegać problemom stomatologicznym (Pedram i in., 2019; Shahane i in., 2023). Istotnym aspektem stosowania ekstraktów ziołowych pozostaje wciąż dobór nie tylko odpowiedniego stężenia substancji aktywnej, ale także rodzaju stosowanego ekstraktu, co może mieć istotny wpływ na żywotność i proliferację komórek człowieka.

Linie komórkowe są niezbędnym narzędziem w badaniach naukowych, które przyczyniły się do wielu ważnych odkryć i postępu w różnych dziedzinach nauki, w tym medycyny. Odpowiednie przygotowanie linii komórkowych do badań *in vitro* jest kluczowe dla uzyskania wiarygodnych i powtarzalnych wyników. Proces ten obejmuje kilka kroków, od wyboru odpowiedniej linii komórkowej, przez jej hodowlę, aż po przygotowanie do konkretnego eksperymentu. W badaniach własnych dotyczących powyższego aspektu skupiłam się na technikach opartych na cytometrii przepływowej. Cytometria przepływowa to technika, która pozwala na efektywną ocenę wielu parametrów komórkowych na poziomie pojedynczej komórki. Technika ta jest wygodnym sposobem oceny komórek poddawanych działaniu czynników proapoptotycznych i umożliwia precyzyjne badanie efektów wywołanych np. lekami przeciwnowotworowymi. Cytometria pozwala również na badanie ekspresji białek powierzchniowych komórek oraz zmian w zawartości DNA w komórkach (Włodkowiec i in., 2011). Testy oparte na opisanej metodzie pozwalają na wygodną analizę aktywności apoptotycznej i żywotności komórek, niemniej wyniki eksperymentów powinny być interpretowane z dużą ostrożnością. Enzymatyczne lub mechaniczne odłączanie komórek przywierających, transfekcja lub elektroporacja, mogą znacząco wpływać na strukturę błony komórkowej w zakresie translokacji fosfatydyloseryny (PS) (eksponowana PS na powierzchni komórki służy jako marker dla fagocytozy) lub przepuszczalności, prowadząc do silnych fałszywie dodatnich sygnałów, a w konsekwencji do znacznych błędów eksperymentalnych. Różne techniki odłączania

od podłoża komórek przywierających mogą znacząco wpływać na strukturę błony komórkowej lub obecność antygenów powierzchniowych, prowadząc do silnych fałszywie dodatnich sygnałów i, w rezultacie, do istotnych błędów eksperymentalnych (Balasubramanian i in., 2007; Zhang i in., 2018). Najpowszechniej stosowane metody odłączania komórek przywierających obejmują zabiegi enzymatyczne takie jak wykorzystanie proteolitycznej aktywności trypsyny - enzymu, który rozszczepia białko przytwierdzające komórkę do powierzchni naczynia hodowlanego oraz wykorzystanie akutazy - enzymu o aktywności proteolitycznej i kolagenolitycznej. Akutaza jest uznawana za mniej szkodliwy środek niż trypsyna i jest zalecana do analiz markerów powierzchniowych. Odłączanie komórek przywierających metodą mechaniczną uzyskuje się przy użyciu gumowego lub plastikowego skrobaka (Bundscherer i in., 2013). Zważając na powyższe zalecanym byłoby przeprowadzanie wstępnego eksperymentu w celu oceny optymalnej metody pozyskiwania komórek dla każdego konkretnego przypadku, aby uniknąć błędów eksperymentalnych i uzyskać wiarygodne wyniki.

4.3.2. Cel badań i hipoteza badawcza.

W świetle przedstawionych powyżej zagadnień zasadne było podjęcie badań, których celem była analiza wpływu wybranych czynników fizycznych, takich jak pole elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej (RF-EMF) oraz światło lasera o niskiej mocy (technologia LLLT), a także czynników chemicznych - ekstraktów z tradycyjnych ziół leczniczych - na morfologię i proliferację komórek. Ponadto podjęto zagadnienia związane z różnymi technikami odłączania od podłoża komórek przywierających, co może istotnie wpływać na rezultaty podjętych doświadczeń i analiz. W ramach przedstawionego osiągnięcia naukowego postawiono następujące hipotezy badawcze:

- H1.** Ekspozycja komórek na pole elektromagnetyczne o częstotliwości radiowej (RF-EMF) powoduje zmiany żywotności linii komórkowych pozyskanych z raka prostaty (PC-3) oraz komórek glejaka wielopostaciowego (U-118 MG).
- H2.** Wybór odpowiednich parametrów niskopoziomowego napromieniania laserowego (LLLT) może zwiększyć żywotność fibroblastów dziąsłowych.
- H3.** Ekstrakty z *Calendula officinalis* L. o różnych stężeniach alkoholu zmniejszają cytotoksyczny wpływ alkoholu na fibroblasty dziąseł.

H4. Wybór odpowiedniej metody pozyskiwania komórek przywierających (mechanicznej lub enzymatycznej) jest istotnym aspektem w badaniach białek powierzchniowych i markerów apoptozy.

W celu weryfikacji postawionych hipotez w kolejnych etapach badań zaplanowano realizację następujących celów szczegółowych:

- C1.** Ocena wpływu pola elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej na zmiany morfologiczne i cytofizjologiczne komórek nowotworowych (PC-3, U-118 MG).
- C2.** Określenie wpływu trzech długości fali lasera o różnej gęstości mocy na aktywność mitochondrialną ludzkich fibroblastów dziąsłowych.
- C3.** Analiza wpływu ekstraktu etanolowego z nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.) na morfologię komórek fibroblastów człowieka przy użyciu urządzenia PANsys 3000.
- C4.** Analiza doboru odpowiedniej metody pozyskiwania komórek przywierających na wykrywanie białek powierzchniowych i markerów apoptozy.

4.3.3. Omówienie uzyskanych wyników badań.

Ad. C1 Ocena wpływu pola elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej na zmiany morfologiczne i cytofizjologiczne komórek nowotworowych (PC-3, U-118 MG).

Publikacja 4.2.1.: Nowak-Terpiłowska A.*, Górski R., Marszałek M., Wosiński S., Przesmycki R., Bugaj M., Nowosielski L., Baranowski M., Zeyland J. 2023. Effects of 2.4 GHz radiofrequency electromagnetic field (RF-EMF) on glioblastoma cells (U -118 MG). *Annals of Agriculture and Environmental Medicine*, vol. 30 (no. 4).

Publikacja 4.2.5.: Górski R.*, Nowak-Terpiłowska A.***, Śledziński P., Baranowski M., Wosiński S. Morphological and cytophysiological changes in selected lines of normal and cancer human cells under the influence of a radio-frequency electromagnetic field. 2021. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine*, vol. 28 (no. 1), s. 163-171.

Telefony komórkowe i Wi-Fi są najczęściej używanymi formami komunikacji. Obecnie mamy do czynienia z piątą generacją sieci komórkowej, która nie była szeroko badana pod kątem jej potencjalnych skutków biologicznych wywieranych na

ludzi czy zwierzęta. Niektóre badania sugerują, że promieniowanie elektromagnetyczne o wysokiej częstotliwości emitowane przez telefony komórkowe i sieci Wi-Fi może mieć negatywny wpływ na zdrowie, w tym powodować nowotwory. Badania naukowe wskazują na związek pomiędzy używaniem telefonów komórkowych a nowotworami ślinianki przyusznej, chłoniakiem nieziarniczym oraz rakiem piersi (Sadetzki i in., 2008; Hardell i in., 2008). Poziom energii związany z ekspozycją na promieniowanie RF-EMF jest zbyt niski, aby powodować bezpośrednie pęknięcia nici DNA, niemniej uszkodzenia DNA mogą być spowodowane np. poprzez działanie wolnych rodników. Pole elektromagnetyczne o wysokiej częstotliwości może wpływać nie tylko na rozwój komórek nowotworowych, ale także na płodność człowieka (Kilgallon i in., 2005). Przedmiotem wielu badań naukowych w zakresie wpływu pola elektromagnetycznego na komórki człowieka jest również guz mózgu, glejak - najczęstszy złośliwy nowotwór mózgu u dorosłych i coraz częściej występujący również u dzieci. Szacuje się, że rocznie zapada na tę chorobę około 5 na 100 000 osób, średni czas przeżycia pacjenta zdiagnozowanego z glejakiem, przy obecnych standardach leczenia, wynosi nieco ponad 15 miesięcy od diagnozy, a mediana przeżycia szacowana jest na 11-12 miesięcy (Górski i in., 2021). Pomimo postępów poczynionych w ostatnich latach w dziedzinie onkologii, wyniki leczenia złośliwych nowotworów mózgu pozostają niezadowolające. Dane literaturowe wskazują, że promieniowanie elektromagnetyczne nie zawsze ma negatywny wpływ na ludzi, w tym na rozwój nowotworów, niemniej badania *in vitro* na liniach komórkowych pozwalają wnioskować, że może mieć destrukcyjny wpływ na komórki nowotworowe.

Powyższe doniesienia literaturowe wskazały kierunek podjętych przeze mnie badań w tym obszarze. W pierwszym etapie jako cel obrałam zbadanie wpływu pola elektromagnetycznego o częstotliwości radiowej (RF-EMF) na aktywność metaboliczną i morfologię komórek raka prostaty (PC-3) oraz fibroblastów człowieka (MSU-1.1). Hodowle komórkowe prowadzono w standardowych warunkach w dwóch wariantach. Próbkę testową były eksponowane na pole elektromagnetyczne o częstotliwości 2,4 GHz. Kontrolne linie komórkowe były hodowane w warunkach wolnych od wpływu RF-EMF. W eksperymencie z komórkami nowotworowymi, zarówno próbki testowe, jak i kontrolne były komórkami raka prostaty. Ten sam schemat zastosowano w przypadku komórek fibroblastów. Pole elektromagnetyczne o częstotliwości 2,4 GHz było emitowane przez specjalnie zaprojektowane w tym celu

urządzenie. Do eksperymentu wybrano bezprzewodowy transfer danych za pomocą komunikacji bluetooth między komputerami urządzeń FERMIO-EM. Do celów konfiguracyjnych każdy mini-komputer był podłączony do zewnętrznego routera za pomocą Ethernetu. Oddzielna antena została dopasowana i dostrojona w celu osiągnięcia maksymalnej emisji energii w zakresie częstotliwości bluetooth, z częstotliwością środkową wynoszącą około 2,4 GHz. Inkubację komórek w polu elektromagnetycznym prowadzono przez 72 godziny. Pomiary żywotności komórek przeprowadzono po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji. Do ilościowego określenia zmian w żywotności komórek użyto zestawu Cell Counting Kit-8 (Sigma-Aldrich). Test polega na użyciu reakcji redukcji soli tetrazoliowej (WST-8) do barwnego formazanu. Ilość uzyskanego formazanu była proporcjonalna do liczby metabolicznie aktywnych (żywych) komórek w populacji. Odczyty absorbancji wykonano przy długości fali 450 nm za pomocą czytnika płytek ELx808 (BioTek). Przyjęto, że żywotność grupy kontrolnej wynosi 100% w każdym interwale czasowym. Żywotność badanych grup obliczano jako procent żywotności grupy kontrolnej. Analiza zmian w morfologii komórek pod wpływem RF-EMF została przeprowadzona za pomocą odwróconego mikroskopu świetlnego Axiovert 200. Obrazy komórek eksponowanych na pole elektromagnetyczne oraz komórek kontrolnych wykonano odpowiednio po 24, 48 i 72 godzinach. Ekspozycja komórek na pole elektromagnetyczne spowodowała znaczący spadek żywotności fibroblastów po 24 i 48 godzinach inkubacji w porównaniu z grupą kontrolną. Po 72 godzinach żywotność również spadła, ale efekt ten nie był statystycznie istotny. W przypadku komórek raka prostaty stwierdzono znaczący spadek żywotności po 24 godzinach inkubacji oraz znaczący wzrost po 48 i 72 godzinach w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Analiza morfologiczna nie wykazała istotnych zmian w żadnej z linii komórkowych po ekspozycji na RF-EMF i po określonym czasie hodowli. Wyniki dotyczą zarówno fibroblastów, jak i komórek linii PC-3. Na podstawie uzyskanych wyników można sformułować hipotezę, że pole elektromagnetyczne o wysokiej częstotliwości może mieć szkodliwy wpływ na komórki człowieka.

W celu potwierdzenia sformułowanej wyżej hipotezy kolejny etap badań podjętych w powyższym obszarze dotyczył oceny wpływu pola elektromagnetycznego o częstotliwości 2,4 GHz (RF-EMF) na wzrost i morfologię komórek glejaka wielopostaciowego (U-118 MG) oraz komórek prawidłowych (HEK-293). Każda z testowanych linii komórkowych była poddawana działaniu pola

elektromagnetycznego o częstotliwości 2,4 GHz emitowanego przez specjalnie zaprojektowane w tym celu urządzenie (opis - publikacja 4.2.5) w dwóch wariantach: z ekranem dielektrycznym i bez niego. Dodatkowo badana była aktywność metaboliczna komórek bez pola elektromagnetycznego generowanego przez emiter oraz bez ekranu, aby określić wpływ promieniowania generowanego wewnątrz inkubatora. Żywotność komórek mierzono po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji. Aby przeanalizować zmiany w żywotności komórek, przeprowadzono test CCK-8 – Cell Counting Kit-8 (Sigma) (opis - publikacja 4.2.5). Po określonym czasie hodowli (24, 48, 72 godziny) wykonywano pomiar absorbancji przy długości fali $\lambda=450$ nm w czytniku płytkowym ELx808 (BioTek). Żywotność próbek testowych określano jako procent żywotności próbek kontrolnych, przyjmowanych jako 100% w każdym czasie pomiaru. Wszystkie warianty eksperymentu były przeprowadzane trzykrotnie dla obu linii komórkowych. Prezentowane wyniki wskazują, że ekspozycja na pole elektromagnetyczne spowodowała znaczący spadek żywotności komórek U-118 MG i HEK-293 w kolejnych dniach obserwacji w porównaniu do grupy kontrolnej. Największy spadek wystąpił po 72 godzinach inkubacji. Wpływ pola elektromagnetycznego był najsilniejszy w przypadku komórek nowotworowych, gdzie spadek ich przeżywalności był znacznie większy w porównaniu do komórek linii HEK-293. Nie zaobserwowano istotnego wpływu zastosowania ekranu dielektrycznego na przeżywalność badanych komórek. Żywotność komórek w kombinacjach kontrolnych bez użycia pola RF, chronionych ekranem dielektrycznym, była znacznie wyższa w porównaniu do kombinacji bez pola elektromagnetycznego i ekranu. Dotyczyło to zarówno komórek U-118 MG, jak i HEK-293. Analiza morfologii komórek U-118 i HEK-293 pod wpływem pola elektromagnetycznego nie wykazała żadnych zmian w porównaniu do kontrolnych komórek.

Powyższe rezultaty wskazują na konieczność przeprowadzenia dalszych badań, które powinny skupić się na głębszym zrozumieniu mechanizmów, poprzez które pole elektromagnetyczne wpływa na komórki człowieka, zarówno prawidłowe jak i nowotworowe. W świetle uzyskanych wyników naturalną konsekwencją wydaje się być zbadanie, w jaki sposób różne częstotliwości i intensywności pola elektromagnetycznego wpływają na mechanizmy komórkowe, takie jak szlaki sygnałowe, reakcje stresowe, zmiany w ekspresji genów oraz interakcje białkowe.

Ad. C2 Określenie wpływu trzech długości fali lasera o różnej gęstości mocy na aktywność mitochondrialną ludzkich fibroblastów dziąsłowych.

Publikacja 4.2.3.: Nowak-Terpiłowska A., Zeyland J., Hryhorowicz M., Śledziński P., Wyganowska-Świątkowska M*. 2023. Influence of three laser wavelengths with different power densities on mitochondrial activity of human gingival fibroblasts in cell culture. *Life*, 13(5), 1136.

Fototerapia to metoda terapeutyczna, która wykorzystuje różne typy światła w leczeniu schorzeń. Może obejmować światło widzialne, ultrafioletowe (UV) czy podczerwone, w zależności od zastosowania i celów leczenia. Fototerapia laserowa polega na stosowaniu skoncentrowanego światła laserowego do precyzyjnego leczenia, m.in. w terapii bólu, gojeniu ran oraz w leczeniu stanów zapalnych i obejmuje wiele dziedzin medycyny, w tym m.in. stomatologię i medycynę estetyczną. Światło o określonej długości fali jest absorbowane przez komórki i tkanki, gdzie wywołuje różne efekty biologiczne, takie jak produkcja energii w mitochondriach, co w efekcie może wspierać regenerację tkanek. Najpopularniejsze długości fal laserowych stosowane w leczeniu tkanek jamy ustnej to światło czerwone, podczerwone i niebieskie. Każdy z tych rodzajów światła ma różne właściwości i zastosowanie w leczeniu stomatologicznym. Lasery w zakresie światła czerwonego zwiększają aktywność komórkową, stymulują układ odpornościowy poprzez aktywację różnych grup leukocytów, zwiększają żywotność fibroblastów i poprawiają gojenie ran. Lasery podczerwieni stymulują mitochondria, natomiast laser niebieski ma działanie przeciwdrobnoustrojowe i przeciwzapalne (Besser i in., 2021).

Celem badań z powyższego obszaru była ocena wpływu trzech długości fal lasera (1064 nm, 980 nm i 635 nm) o różnych parametrach gęstości mocy i gęstości energii na hodowlę komórek fibroblastów dziąsłowych w warunkach *in vitro*. Analizę wpływu światła lasera (LLLT) na proliferację fibroblastów dziąsłowych w hodowli *in vitro* przeprowadzono na pierwotnych liniach komórkowych fibroblastów dziąseł pozyskanych od pacjentów. Fibroblasty dziąsłowe zostały wyizolowane z tkanki dziąsłowej uzyskanej od pięciu zdrowych pacjentów podczas standardowej procedury chirurgicznej (zgoda nr 150/17 z 2 marca 2017 roku, decyzja Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu). Aby ocenić efekty działania lasera diodowego na fibroblasty, komórki były hodowane

w standardowym medium hodowlanym w płytkach 96-dołkowych. Napromieniowanie zostało przeprowadzone przez otwarty wierzch płytki, przy użyciu rękojeści kątowej z wiązką laserową o średnicy 3 mm. Próbki badane podzielono na 3 grupy eksperymentalne: laser diodowy o długości fali 1064 nm, laser diodowy o długości fali 980 nm oraz laser diodowy o długości fali 635 nm. Dla każdej długości fali lasera zastosowano te same parametry gęstości mocy i energii: 3 J/cm², 50 mW; 25 J/cm², 400 mW; 64 J/cm², 1000 mW (w przypadku lasera 635 nm nie stosowano parametru 64 J/cm², 1000 mW). Dla każdej badanej grupy komórki nienaświetlane stanowiły próbkę kontrolną, a czas naświetlania wynosił 18 sekund. Po procedurze napromieniania laserowego, komórki były hodowane w standardowych warunkach przez 24, 48 i 72 godziny. Po określonym czasie inkubacji przeprowadzono test oceny żywotności komórek (CCK-8). W przypadku pierwszej grupy eksperymentalnej, napromieniowanej laserem o długości fali 1064 nm, żywotność komórek zwiększyła się po 48 i 72 godzinach od napromieniowania w porównaniu do komórek kontrolnych, nienaświetlanych. Dla komórek badanych 48 godzin po napromieniowaniu, żywotność komórek wzrosła 0,6 razy przy parametrach 3 J/cm² przy 50 mW, 0,9 razy przy parametrach 25 J/cm² przy 400 mW i 1,3 razy przy parametrach 64 J/cm² przy 1000 mW w porównaniu do kontroli. Dla komórek badanych 72 godziny po napromieniowaniu, żywotność komórek wzrosła 0,2 razy przy parametrach 3 J/cm² przy 50 mW, 0,6 razy przy parametrach 25 J/cm² przy 400 mW i 0,6 razy przy parametrach 64 J/cm² przy 1000 mW w porównaniu do kontroli. W przypadku grupy drugiej (980 nm) wykazano wyższą żywotność komórek tylko dla parametru 64 J/cm² przy 1000 mW po 72 godzinach od napromieniowania laserowego w porównaniu do kontroli (wzrost 0,2 razy). Dla pozostałych parametrów i okresów inkubacji wzrost żywotności komórek nie był istotny statystycznie w porównaniu do grupy kontrolnej. Po 72 godzinach od napromieniowania laserowego, analiza wyników testu CCK-8 wykazała, że w grupie 3, napromieniowanej laserem o długości fali 635 nm, żywotność komórek wzrosła 0,4 razy tylko dla parametru 25 J/cm² przy 400 mW. Dla pozostałych parametrów i okresów inkubacji wzrost żywotności komórek nie był istotny w porównaniu do grupy kontrolnej.

Powyższe wyniki jednoznacznie wskazują, że odpowiednie zastosowanie napromieniowania laserowego (LLLI) może zwiększyć tempo proliferacji hodowlanych komórek, co może być szczególnie przydatne w inżynierii tkankowej i medycynie

regeneracyjnej, a wykorzystanie laserów ma potencjał, aby stać się skuteczną i minimalnie inwazyjną metodą leczenia w przypadku chorób przyzębia.

Ad. C3 Analiza wpływu ekstraktu etanolowego z nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis* L.) na morfologię komórek fibroblastów człowieka przy użyciu urządzenia PANsys 3000.

Publikacja 4.2.2.: Nowak-Terpiłowska A.*, Nowak I., Feliczak-Guzik A., Wyganowska M. 2023. Analysis of the impact of ethanol extract of *Calendula officinalis* L. on human fibroblast cell cultures using the PANsys 3000 device for breeding and visualization of cells. *Life*, 13(10), 1949.

Tradycyjne zioła lecznicze wzbudzają w ostatnich latach duże zainteresowanie w dziedzinie leczenia lub zapobiegania wielu chorobom. Badania pokazują, że ze względu na właściwości antyoksydacyjne czy przeciwzapalne ekstrakty ziołowe i ich związki mają działanie terapeutyczne (Maher i in., 2017; Saleem i in., 2021). *Calendula officinalis* L. (CO, nagietek lekarski) to roślina jednoroczna, uznawana za ważną roślinę w tradycyjnej medycynie. CO jest szeroko stosowana w różnych zastosowaniach terapeutycznych, np. w farmacji czy kosmetologii. (Pedram i in., 2019). CO, będąc źródłem metabolitów wtórnych, wykazuje właściwości przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne, przeciwwrzodowe, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwzakrzepowe, neuroprotektoryjne, przeciwpierwotniakowe oraz chroniące skórę (Shahne i in., 2020). Rodzaj *Calendula* obejmuje około 25 gatunków, z czego najczęściej występującymi są *C. officinalis*, *C. arvensis*, *C. tripterocarpa*, *C. stellata* i *C. suffruticosa* (Fallani i in., 2020). Skuteczność terapeutyczna ekstraktu z *C. officinalis* L. jest dobrze znana – w tradycyjnej medycynie zazwyczaj używa się wodnego ekstraktu, jednakże jako produkt komercyjny stosuje się ekstrakt alkoholowy lub olejek eteryczny (Buzzi i in., 20216). Wodny ekstrakt z *C. officinalis* L. w porównaniu z jego ekstraktem hydroetanolem znacząco stymuluje proliferację i migrację fibroblastów skórnych przy miejscowym stosowaniu na ranę. We wcześniej przeprowadzonych przeze mnie badaniach obserwacje związane z wpływem alkoholu na fibroblasty pozwoliły na stwierdzenie, że zastosowanie 7,2% i 22% alkoholu etylowego negatywnie wpływa na morfologię i proliferację komórek fibroblastów. Podaż 7,2% etanolu umożliwiła

komórkom „przywrócić” zdolności do podziału i prawidłowej morfologii po 10 godzinach, podczas gdy zmiany wywołane przez 22% etanol były nieodwracalne (Wyganowska-Świątkowska i in., 2018).

Fibroblasty, komórki pochodzenia mezodermalnego, są najliczniejszymi komórkami tkanki łącznej skóry, które wraz ze składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej (kolagen, retikulina, włókna elastynowe, glikoproteiny, glikozoaminoglikany, cytokiny, czynniki wzrostu oraz enzymy kolagenaza i stromelizyna) odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu spójności tkanki łącznej oraz w procesach gojenia ran (Chang i in., 2016). Ważnym lokalnym mechanizmem, przez który alkohol może zakłócać działanie fibroblastów w procesie gojenia ran przy urazach szczękowo-twarzowych jest hamowanie proliferacji fibroblastów oraz syntezy macierzy zewnątrzkomórkowej w miejscu rany (Stephens i in., 1996).

W celu potwierdzenia hipotezy, której założenia wskazują na zmniejszenie cytotoksycznego wpływu alkoholu na fibroblasty skóry przy zastosowaniu ekstraktów z *Calendula officinalis* L. o różnych stężeniach alkoholu podjęto badania pozwalające zobrazować zmiany zachodzące w komórkach. W tym celu przeprowadzono doświadczenia z zastosowaniem systemu PANsys 3000 - w pełni zautomatyzowanego urządzenia do hodowli komórek, wykorzystywanego do badań *in vitro* w warunkach zbliżonych do warunków *in vivo*. Komórki fibroblastów człowieka zostały wyizolowane z tkanki skórnej podczas standardowej procedury chirurgicznej (publikacja 4.2.3). Do hodowli komórkowej dodano napar z *Calendula officinalis* L. w stężeniu 100%, a także ekstrakty etanolowe *Calendula officinalis* L. w stężeniu 7% i 20%. Obserwacje prowadzono przez 72 godziny. W badaniach ujęto również jakościowy i ilościowy skład lotnych związków zawartych w kwiatach nagietka *Calendula officinalis* L. Związki olejku eterycznego z naparu zostały wyizolowane za pomocą ekstrakcji na fazie stałej i zanalizowane metodą chromatografii gazowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas. Wykazano obecność terpenoidów, flawonoidów i innych związków. Skład ten był skorelowany z właściwościami zapachowymi. Obserwacja fibroblastów skórnych nie wykazała zmian w morfologii komórek ani w ich proliferacji po stymulacji naparem 100% z *Calendula officinalis* L. Wzrost i podział komórek nie były zahamowane. Podobnie, dodanie 7% lub 20% etanolu do wodnego ekstraktu z *Calendula officinalis* L. nie hamowało proliferacji fibroblastów.

Przeprowadzone badania wskazują, że ekstrakty z *Calendula officinalis* L. o różnych stężeniach alkoholu (7% i 20%) zmniejszają cytotoksyczny wpływ alkoholu

na fibroblasty dziąsłowe. W ramach dalszych badań planowane jest przeprowadzenie pełnej analizy uzyskanych naparów/maceratów z *Calendula officinalis* L. (określenie związków lotnych i nielotnych) przy użyciu metod chromatograficznych, takich jak LC-MS (spektrometria mas sprzężona z wysokosprawną chromatografią cieczową, ang. *liquid chromatography–mass spectrometry*) oraz ocena zdolności antyoksydacyjnej związków zawartych w wymienionych naporach/maceratach, stosując metodę z użyciem rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl). Osiągnięte wyniki nie wyjaśniają mechanizmu działania *Calendula officinalis* L., ale przyczyniają się do przeprowadzenia kolejnych badań w tym obszarze.

Ad. C4 Analiza doboru odpowiedniej metody pozyskiwania komórek przywierających na wykrywanie białek powierzchniowych i markerów apoptozy.

Publikacja 4.2.4.: Nowak-Terpiłowska A.** , Śledziński P.* , Zeyland J. 2021. Impact of cell harvesting methods on detection of cell surface proteins and apoptotic markers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 54(2).

Uzyskane we wcześniejszych badaniach rezultaty skłoniły mnie do podjęcia działań skoncentrowanych wokół analizy doboru odpowiedniej metody pozyskiwania komórek adherentnych w celu wykrywania białek powierzchniowych i markerów apoptozy. Różne techniki stosowane w hodowli komórek, takie jak enzymatyczne lub mechaniczne odłączanie komórek przylegających, mogą znacząco wpływać na strukturę błony komórkowej lub obecność antygenów powierzchniowych, prowadząc do silnych sygnałów fałszywie dodatnich, a ostatecznie do znacznych błędów eksperymentalnych w badaniach opartych na analizach żywotności, proliferacji czy apoptozy. Analiza procesu apoptozy oraz rozróżnianie między śmiercią komórkową apoptotyczną a nekrotyczną opiera się zazwyczaj zarówno na zmianach w morfologii komórek jak i zachodzących na poziomie molekularnym i biochemicznym. Najczęściej stosowane markery apoptozy bazują na zmianach w składzie lipidów oraz integralności błony komórkowej (Włodkovic i in., 2011). Jednym z efektów następujących w kaskadzie apoptozy, uważanym za cechę charakterystyczną, jest utrata asymetrii błony komórkowej i w konsekwencji zewnętrzna ekspozycja fosfatydyloseryny (PS) (Balasubramanian i in., 2007; Zhang i in., 2018). Wykrywanie i ilościowy pomiar eksponowanej fosfatydyloseryny jest dokładną i wiarygodną metodą oceny częstości

występowania oraz postępu apoptozy, niemniej ze względu na silny wpływ czynników zakłócających wyniki powinny być interpretowane z dużą ostrożnością. Enzymatyczne (trypsyna, akutaza) lub mechaniczne (gumowa głaszczka) odłączanie komórek przylegających, transfekcja czy elektroporacja, mogą znacząco wpływać na strukturę błony komórkowej w kontekście translokacji PS lub jej przepuszczalności (Bundscherer i in., 2013).

Celem podjętych badań w powyższym zakresie była ocena i porównanie wpływu metod (enzymatycznych i nieenzymatycznych) pozyskiwania komórek przywierających na analizy procesu apoptozy oraz cytometryczne wykrywanie antygenów powierzchniowych. W doświadczeniach wykorzystano pięć linii komórkowych powszechnie stosowanych w różnych badaniach: dwie linie komórek nowotworowych MDA-MB-231 (rak gruczołu sutkowego, ATCC HTB-26t) i PC-3 (rak gruczołu krokowego, ATCC CRL-1435t) oraz trzy linie komórek nienowotworowych: MSU-1.1 (fibroblasty), HEK-293 (komórki nerkowe embrionalne człowieka) i świńskie fibroblasty skórne (kontrola negatywna). Pierwsza część analiz dotyczyła wpływu trzech różnych metod pozyskiwania komórek na wykrywanie antygeny powierzchniowego CD55. W tym celu użyto czterech linii komórkowych, które naturalnie wykazują różne poziomy ekspresji CD55, niezależnie od metody odłączania komórek od podłoża. Trypsyna okazała się najbardziej inwazyjnym sposobem w odniesieniu do obecności CD55 we wszystkich badanych liniach komórkowych. Prowadziła do znaczącego obniżenia mediany intensywności sygnału fluorochromowego w porównaniu z efektami działania mechanicznego na komórki. Akutaza okazała się znacznie mniej inwazyjna dla komórek niż trypsynizacja. Działanie mechaniczne prowadziło do najwyższego poziomu sygnału przeciwciała CD55. Jedynie w przypadku dwóch linii, MDA-MB-231 i HEK-293, metoda mechaniczna była skuteczna na poziomie porównywalnym z użyciem akutazy.

W drugiej części badań przeanalizowano wpływ różnych metod odłączania komórek od podłoża na proces apoptozy. Pośród trzech testowanych metod enzymatyczne odłączanie komórek przy użyciu trypsyny i akutazy okazało się najskuteczniejsze. Komórki traktowane trypsyną osiągnęły poziom żywotności wynoszący ponad 80% we wszystkich badanych liniach komórkowych. Mechaniczne pozyskiwanie komórek okazało się nieskuteczne - poziom żywotności wahał się od 10% do 62% w zależności od rodzaju badanej linii komórkowej.

W niniejszym badaniu wykazano znaczenie wyboru odpowiedniej metody odłączania komórek od podłoża dla wiarygodności wyników cytometrii przepływowej. Analizy pozwoliły dowiedzieć o istotnych różnicach w jakości analizy pod względem ilości markerów powierzchniowych zależnie od zastosowanej metody odłączania. Ostatecznie udało się zoptymalizować procedury przygotowania próbek do eksperymentów z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Nasze wyniki sugerują, że metody enzymatyczne są zalecane do przygotowania zawiesiny komórkowej do badania apoptozy za pomocą aneksyny V. Z kolei do analizy ekspresji antygenów powierzchniowych, najskuteczniejsza wydaje się być metoda odłączania mechanicznego. Jednakże w celu uniknięcia błędów eksperymentalnych zaleca się przeprowadzenie wstępnego eksperymentu w celu oceny optymalnej metody pozyskiwania komórek w każdym konkretnym badanym przypadku.

4.3.4. Podsumowanie

Przedstawione publikacje (4.2.1. – 4.2.5.) stanowią cykl prac mających na celu określenie wpływu różnych czynników fizykochemicznych na komórki człowieka. Przeprowadzone badania stanowią kompleksowe opracowanie obejmujące badania dotyczące wpływu promieniowania elektromagnetycznego i terapii laserowej oraz efektów zastosowania tradycyjnych ziół na linie komórkowe w hodowlach komórkowych *in vitro*. Badania nad promieniowaniem elektromagnetycznym (RF-EMF) o częstotliwości 2,4 GHz wykazały, że może ono wpływać na żywotność komórek, w tym fibroblastów i komórek nowotworowych, takich jak rak prostaty i glejak. Wyniki eksperymentów sugerują, że ekspozycja na pole elektromagnetyczne może prowadzić do zmniejszenia żywotności komórek, szczególnie nowotworowych, co otwiera możliwości dalszych badań w kontekście mechanizmów wpływu RF-EMF na komórki. Kolejne badania, dotyczące zastosowania terapii laserowej (1064 nm, 980 nm i 635 nm) na fibroblasty dziąsłowe w celu oceny ich proliferacji wykazały, że odpowiednia stymulacja laserem może zwiększać tempo podziału komórek, co ma potencjał w medycynie regeneracyjnej oraz leczeniu chorób przyzębia. Trzeci obszar badań koncentrował się na tradycyjnym ziele *Calendula officinalis* L. (nagietek lekarski), które wykazuje m.in. właściwości przeciwzapalne i antyoksydacyjne. Badania nad wpływem ekstraktów z nagietka na fibroblasty potwierdziły jego korzystne działanie na proliferację komórek, co czyni go potencjalnym wsparciem w leczeniu ran. Ważnym elementem łączącym badania związane z hodowlami komórkowymi jest bez

wątpienia metoda pozyskiwania komórek adherentnych i jej wpływ na wyniki wykrywania białek powierzchniowych i markerów apoptozy. Wykazano, że zastosowanie trypsyny, jako najbardziej inwazyjnej metody, obniża sygnał badanego antygeny, natomiast mechaniczne odłączanie komórek zachowuje go najlepiej. Zastosowanie akutazy okazało się mniej inwazyjne niż trypsyny. W analizie apoptozy metody enzymatyczne były skuteczniejsze, zapewniając żywotność komórek na wyższym poziomie niż techniki mechaniczne. Wyniki sugerują, że enzymatyczne metody są najkorzystniejsze do badań apoptozy, a mechaniczne do analizy antygenów powierzchniowych, jednak każdorazowo należy dostosować metodę do specyfiki badania.

W przyszłości badania nad wpływem czynników fizykochemicznych na komórki człowieka mogą przyczynić się do rozwoju nowoczesnych terapii, zarówno w medycynie regeneracyjnej, jak i onkologii. Dalsze badania nad mechanizmami działania RF-EMF mogą prowadzić do opracowania bardziej precyzyjnych metod terapii nowotworowej, celujących w specyficzne typy komórek nowotworowych. W obszarze terapii laserowej, przyszłość może przynieść zaawansowane metody wspierające regenerację tkanek i leczenie chorób przyzębia, bazujące na stymulacji fibroblastów. Z kolei badania nad ekstraktami roślinnymi, takimi jak nagietek lekarski, wskazują na potencjalne wykorzystanie tradycyjnych ziół w medycynie komplementarnej, szczególnie w leczeniu ran i stanów zapalnych. W przyszłości rośliny takie mogą odgrywać kluczową rolę w rozwijających się dziedzinach biotechnologii i medycyny naturalnej. Postęp technologiczny może przynieść nowe, bardziej precyzyjne techniki, które zminimalizują ryzyko uszkodzeń komórek, co pozwoli na jeszcze bardziej wiarygodne i dokładne wyniki w badaniach *in vitro*.

4.3.5. Spis literatury

- Aoki, A., Mizutani, K., Schwarz, F., Sculean, A., Yukna, R., Takasaki, A., Romanos, G., Taniguchi, Y., Sasaki, K., Zeredo, J. et al. Periodontal and peri-implant wound healing following laser therapy. *Periodontol 2000* 2015, 68, 217–269.
- Balasubramanian, K., Mirnikjoo, B., Schroit, A.J. Regulated externalization of phosphatidylserine at the cell surface: implications for apoptosis. *J Biol Chem* 2007; 282: 18357–18364.
- Besser, M., Schaefer, L., Plattfaut, I., Brill, F., Kampe, A., Geffken, M., Smeets, R., Debus, S., Stuermer, E. Pulsed low-intensity laser treatment stimulates wound healing

- without enhancing biofilm development *in vitro*. J. Photochem. Photobiol. B 2021, 221, 112240.
- Bundscherer, A., Malsy, M., Lange, R., Hofmann, P., Metterlein, T., Graf, B.M., et al. Cell harvesting method influences results of apoptosis analysis by annexin V staining. Anticancer Res 2013; 33: 3201–3204.
- Buzzi, M., de Freitas, F., de Barros Winter, M. Therapeutic effectiveness of a *Calendula officinalis* extract in venous leg 284 ulcerhealing. J. Wound Care. 2016, 25, 732–739.
- Chang, Y., Li, H., Guo, Z. Mesenchymal Stem cell-like Properties in Fibroblasts. Cell Physiol. Biochem. 2014, 34, 703–714.
- Choi, H.D., Kim, N. 5G jeonjapawa inche yeonghyang. In: Proceedings of the Korea Electromagnetic Engineering Soc. 2018;29:26–30.
- Clijisen, R., Brunner, A., Barbero, M., Clarys, P., Taeymans, J. Effects of low-level laser therapy on pain in patients with musculoskeletal disorders: A systematic review and meta-analysis. Eur. J. Phys. Rehabil. Med. 2017, 53, 603–610.
- Da Ré Guerra, F., Vieira, C.P., Marques, P.P., Oliveira, L.P., Pimentel, E.R. Low level laser therapy accelerates the extracellular matrix reorganization of inflamed tendon. Tissue Cell 2017, 49, 483–488.
- Fallahi, M., Mohammadi, A., Miri, S.M. The natural variation in six populations of *Calendula officinalis* L.: A karyotype study. J.Genet. 2020, 6, 34–40.
- Górski, R., Nowak-Terpiłowska, A., Śledziński, P., Baranowski, M., Wosiński, S. Morphological and cytophysiological changes in selected lines of normal and cancer human cells under the influence of a radio-frequency electromagnetic field. Ann Agric Environ Med. 2021;28(1):163–171.
- GSMA Mobile Economy. 2018. <https://www.gsma.com/mobileeconomy/wp-content/uploads/2018/05/The-Mobile-Economy-2018.pdf>
- Hardell, L., Carlberg, M., Ohlson, C.G., et al. Use of cellular and cordless telephones and risk of testicular cancer. Int J Androl. 2007;30(2):115–122.)
- Hardell, L., Sage, C. Biological effect from electromagnetic field exposure and public exposure standards. Biomed Pharmacother. 2008;62(2):104–109.
- He, M., Zhang, B., Shen, N., Wu, N., Sun, J. A systematic review and meta-analysis of the effect of low-level laser therapy (LLLT) on chemotherapy-induced oral mucositis in pediatric and young patients. Eur. J. Pediatr. 2018, 177, 7–17.
- Kilgallon, S.J., Simmons, L.W. Image content influences men’s semen quality. Biol Lett. 2005; 1: 385–393.
- Linnet, M.S., Taggart, T., Severson, R.K., et al. Cellular telephones and non-Hodgkin lymphoma. Int J Cancer. 2006;119(10):2382–2388.
- Maher, P. Protective effects of fisetin and other berry flavonoids in Parkinson’s disease. Food Funct. 2017, 8, 3033–3042.
- Pedram Rad, Z., Mokhtari, J., Abbasi, M. Preparation and characterization of *calendula officinalis*-loaded PCL/gum arabic nanocomposite scaffolds for wound healing applications. Iran. Polym. J. 2019, 28, 51–63.
- Sadetzki, S., Chetrit, A., Jarus-Hakak, A., Cardis, E., Deutch, Y., Duvdevani, S., Zultan, A., Novikov, I., Freedman, L., Wolf, M. Cellular phone use and risk of benign and malignant parotid gland tumors—a nationwide case–control study. Am J Epidemiol. 2008; 167(4): 457–467.
- Saleem, U., Bibi, S., Shah, M.A., Ahmad, B., Saleem, A., Chauhdary, Z., Anwar, F., Javaid, N., Hira, S., Akhtar, M.F., et al. Anti- Parkinson’s evaluation of Brassica

- juncea leaf extract and underlying mechanism of its phytochemicals. *Front. Biosci (Landmark Ed.)* 2021, 26, 1031–1051.
- Shahane, K., Kshirsagar, M., Tambe, S., Jain, D., Rout, S., Ferreira, M.K.M., Mali, S., Amin, P., Srivastav, P.P., Cruz, J., et al. An updated review on the multifaceted therapeutic potential of *Calendula officinalis* L. *Pharmaceuticals* 2023, 16, 611–632.
- Stephens, P., al-Khateeb, T., Davies, K.J., Shepherd, J.P., Thomas, D.W. An investigation of the interaction between alcohol 291 and fibroblasts in wound healing. *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* 1996, 25, 161–164.
- Vijay Bakshi, P., Badarinarayan Setty, S., Raghavendra Kulkarni, M. Photobiomodulation of human gingival fibroblasts with diode laser—A systemic review. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2022, 26, 5–12.
- Włodkovic, D., Telford, W., Skommer, J., Darzynkiewicz, Z. Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death. *Methods Cell Biol* 2011; 103: 55–98.
- World Health Organization (WHO). Electromagnetic fields and public health: mobile phones. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs193/en/>. 2017; Accessed 17 Jan 2017.
- Wyganowska-Świątkowska, M., Nowak, A., Paszyńska, E., Grzech-Leśniak, K. Ethanol influence on gingival fibroblasts—A real-time *in vitro* study. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2018, 25, 647–650.
- Yin, K., Zhu, R., Wang, S., Zhao, R.C. Low-level laser effect on proliferation, migration and antiapoptosis of mesenchymal stem cells. *Stem. Cells Dev.* 2017, 26, 762–775.
- Zhang, Y., Chen, X., Gueydan, C., Han J. Plasma membranę changes during programmed cell deaths. *Cell Res* 2018; 28: 9–21.

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

Okres przed uzyskaniem stopnia doktora:

Na początku pracy naukowej moje zainteresowania były związane z tematyką podjętą w pracy magisterskiej, która koncentrowała się na zagadnieniach filogenetyki molekularnej. W ramach współpracy z Instytutem Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu uczestniczyłam w badaniach obejmujących identyfikację podobieństw między gatunkami dzikimi a udomowionymi. Jednym z najbardziej informatywnych źródeł, które pozwala na wyciąganie wniosków dotyczących pochodzenia i filogenezy wielu gatunków, w tym zwierząt domowych i ludzi, jest mitochondrialne DNA (mtDNA). Analizy molekularne i filogenetyczne podjęte w powyższym zakresie dotyczyły różnych gatunków bydła, a efektem współpracy były następujące publikacje:

Artykuł naukowy:

- Zeyland J., Wolko Ł., Lipiński D., Woźniak A., **Nowak A.**, Szalata M., Bocianowski J., Słomski R. 2012. Tracking of wisent - bison - yak mitochondrial evolution. *Journal of Applied Genetics*, vol. 53 (no. 3), str. 317-322.

Materiały konferencyjne:

- Zeyland J., Kowalska M., Lipiński D., **Nowak A.**, Słomski R., Szalata M. Contemporary methods of wild and domesticated cattle species protection. 8th International Conference on Behaviour, Physiology and Genetics of Wildlife 2011, Berlin, 14-17.09.2011 – plakat.
- Zeyland J., Wolko Ł., Lipiński D., Woźniak A., **Nowak A.**, Szalata M., Śmiełowski J., Słomski R. Resolving of wisent – bison – yak mitochondrial evolution. 8th International Conference on Behaviour, Physiology and Genetics of Wildlife 2011, Berlin, 14-17.09.2011 – plakat.
- **Nowak A.**, Zeyland J., Woźniak A., Lipiński D., Szalata M., Słomski R. Comparative analysis of the DNA mitochondrial sequence of the banteng, watusi and steppe cattle. 8th International Conference on Behaviour, Physiology and Genetics of Wildlife 2011, Berlin, 14-17.09.2011 – trzecia nagroda w kategorii „plakat” (załącznik 3.1.).

Jednocześnie zaangażowana byłam w realizację prac badawczych mających na celu charakterystykę zwierząt transgenicznych. Uzyskiwanie transgenicznych zwierząt gospodarskich przynosi szereg korzyści w takich dziedzinach życia jak medycyna czy rolnictwo. Spośród zastosowań biomedycznych, obejmujących między innymi ksenotransplantację i zwierzęta modelowe, szczególnie istotne jest wykorzystanie transgenicznych zwierząt jako bioreaktorów do produkcji białek terapeutycznych. Produkcja biofarmaceutyków w gruczole mlekowym zwierząt domowych stanowi istotny obszar badań we współczesnej biotechnologii. Celem naszych badań było uzyskanie transgenicznych komórek fibroblastów kozy, transfekowanych z użyciem genu ludzkiej albuminy metodą lipofekcji na potrzeby klonowania somatycznego oraz określenie ich charakterystyki molekularnej i cytogenetycznej. Uzyskane rezultaty stały się podstawą do przygotowania publikacji:

Artykuł naukowy:

- Woźniak A., Lipiński D., Zeyland, **Nowak A.**, Nuc K., Ryńska B., Słomski R. 2011. Molecular and cytogenetic characterization of human albumin transgenic goat fibroblasts as a source of nuclei in somatic cloning. *Annals of Animal Science*, vol. 11 (no. 1), s. 61-70. IF₂₀₁₁: 0,389. MNiSW₂₀₁₁: 15.

Materiały konferencyjne:

- Woźniak A., Lipiński D., **Nowak A.**, Zeyland J., Nuc K., Ryńska B., Słomski R. Molecular and cytogenetic characterization of human albumin transgenic goat fibroblasts as a source of nuclei in the somatic cloning. 20. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik, Aachen, 1-3.04.2009, *Medizinische Genetik 1-2009*, str. 138 - streszczenie zjazdowe.
- Woźniak A., Lipiński D., **Nowak A.**, Zeyland J., Nuc K., Ryńska B., Słomski R. Molecular and cytogenetic characterization of human albumin transgenic goat

- fibroblasts as a source of nuclei in the somatic cloning. European Human Genetics Conference 2009, Wiedeń, 23-26.05.2009, European Journal of Human Genetics, Volume 17, May 2009, str. 282 – streszczenie zjazdowe.
- Wozniak A., **Nowak A.**, Zeyland J., Lipiński D., Słomski R. Molecular and cytogenetic characterization of human interferon transgenic rabbit fibroblasts as a source of nuclei in the somatic cloning. 20. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik, Hamburg, 2-4.03.2010, Medizinische Genetik 1, 2010, str. 141 – streszczenie zjazdowe.
 - Woźniak A., Lipiński D., Zeyland J., **Nowak A.**, Nuc K., Rynska B., Skrzyszowska M., Smorąg Z. Obtaining the modified albumin in the milk of transgenic goats. 1st European Congress of Applied Biotechnology together with 29th DECHEMA's Biotechnology Annual Meeting, Berlin, 25-29.09.2011 – plakat.

Badania nad transgenezą zwierząt kontynuowałam w ramach projektu, którego celem było uzyskanie zwierząt poprzez klonowanie somatyczne z wykorzystaniem transgenicznych linii komórkowych. W tym celu do linii komórkowych fibroblastów płodowych świni wprowadzono konstrukcje genowe zawierające sekwencje kodujące wybrane czynniki. Wyselekcjonowane monotransgeniczne linie komórkowe posłużyły jako źródło jąder do klonowania somatycznego, w celu uzyskania genetycznie zmodyfikowanych zwierząt, które następnie były krzyżowane. Osiągnięcie tego celu było wynikiem współpracy interdyscyplinarnego zespołu ekspertów z zakresu biologii molekularnej, biologii rozrodu, biotechnologii, wirusologii oraz chirurgii, i stanowiło część wieloosrodkowego projektu pt. „Uzyskanie transgenicznych świń jako dawców tkanek i narządów do transplantacji u ludzi oraz ich biotechnologiczna, fizjologiczna i medyczna charakterystyka” realizowanego w latach 2009-2012. W ramach konsorcjum współpracę podjęły m.in.: Instytut Zootechniki PIB w Balicach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu oraz Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu. W wyniku realizacji projektu przygotowana została moja rozprawa doktorska oraz materiały konferencyjne:

Materiały konferencyjne:

- Lipiński D., Jura J., Zeyland J., Woźniak A., Szalata M., Przystalowska H., Grześkowiak B., Pławski A., **Nowak A.**, Smorąg Z., Słomski R. Production of transgenic pigs expressing human α – galactosidase to avoid human humoral xenograft rejection. Acta Biochimica Polonica 2011, vol. 58 (Suppl. 4), s. 153. IV Congress of Polish Biotechnology and IV EUROBIOTECH "Four Colours of Biotechnology", Central European Congress of Life Sciences, Krakow, Poland, October 12-15.10.2011 - streszczenie zjazdowe.
- Zeyland J., Lipiński D., Woźniak A., **Nowak A.**, Smorąg Z., Słomski R. A comprehensive characterisation of human CD46, CD55 and CD59 transgenic swine fibroblasts – a potential source of nuclei for somatic cloning. European

Human Genetics Conference 2009, Wiedeń, 23-26.05.2009r. European Journal of Human Genetics, Volume 17, maj 2009, str. 308 - streszczenie zjazdowe.

Okres po uzyskaniu stopnia doktora:

Umiejętności nabyte podczas prowadzenia badań związanych z transgenezą oraz wyniki uzyskane podczas realizacji ww. projektu stały się impulsem do dalszych prac badawczych. Współpraca wielu jednostek naukowych, tj. Instytutu Zootechniki PIB w Balicach, Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu, Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Fundacji Rozwoju Kardiochirurgii im. prof. Zbigniewa Religi w Zabrze oraz Centrum Leczenia Oparzeń w Siemianowicach Śląskich zaowocowała realizacją projektu w ramach Programu „INNOMED” z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego). W ramach ww. projektu pt. „Opracowanie innowacyjnej technologii wykorzystania tkanek transgeniczných świń dla celów biomedycznych” (akronim MEDPIG) wraz z zespołem z Uniwersytetu Przyrodniczego podjęłam się badań związanych z: opracowaniem i charakterystyką konstrukcji genowych zapobiegających odrzuceniu ksenoprzeszczepu, przygotowaniem modyfikujących konstrukcji genowych dla potrzeb ksenotransplantacji, charakterystyką transgeniczných zwierząt z uwzględnieniem cytogenetyki i proteomiki, oceną integracji i ekspresji transgenów w komórkach i tkankach świń oraz oceną prawidłowości kariotypu i mapowania transgenu metodami cytogenetyki klasycznej i molekularnej oraz analizą zmian białek na powierzchni komórek transgeniczných z uwzględnieniem cytometrii przepływowej. Prace badawcze w powyższej tematyce realizowałam również w ramach badań statutowych na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu, w których w latach 2014-2016 pełniłam funkcję kierownika zadania badawczego („Zastosowanie standardowych metod hodowlanych, urządzenia PANSys3000 oraz cytometrii przepływowej do analizy linii komórkowych zwierząt genetycznie modyfikowanych”, „Analiza genetycznie modyfikowanych roślin sorgo i tytoniu przy użyciu fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH)”, „Cytogenetyczne i immunoenzymatyczne analizy linii komórkowych pochodzących od świń transgeniczných stworzonych na potrzeby ksenotransplantacji”). Uzyskane wyniki zaowocowały opracowaniem artykułów naukowych i wielu doniesień konferencyjnych:

Artykuły naukowe:

- Zeyland J., Gawrońska B., Juzwa W., Jura J., **Nowak A.**, Słomski R., Smorąg Z., Szalata M., Woźniak A., Lipiński D. 2013. Transgenic pigs designed to express human α -galactosidase to avoid humoral xenograft rejection. *Journal of Applied Genetics*, 54(3):293-303. IF₂₀₁₃: 1,902. MNiSW₂₀₁₃: 20.
- Zeyland J., Woźniak A., Gawrońska B., Juzwa W., Jura J., **Nowak A.**, Słomski R., Smorąg Z., Szalata M., Mazurek U., Lipiński D. 2014. Double transgenic pigs with combined expression of human α 1,2-fucosyltransferase and α -galactosidase designed to avoid hyperacute xenograft rejection. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, vol. 62 (iss. 5), s. 411-422. IF₂₀₁₄: 3,176. MNiSW₂₀₁₄: 25.
- **Nowak A.**, Woźniak A., Lipiński D., Juzwa W., Słomski R., Zeyland J. 2015. Modifications of pig genome with expression gene constructs to produce organs resistant to acute transplant rejection. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 5(45), s. 1-7. MNiSW₂₀₁₅: 6.
- Mazurkiewicz N., **Nowak A.**, Hryhorowicz M., Zeyland J., Lipiński D., Słomski R. 2018. Virological aspects of non-human primates or swine-to human xenotransplantation. *Acta Universitatis Lodzianensis. Folia Biologica Et Oecologica*, 14, 1, 47-54. MNiSW₂₀₁₈: 6.
- Zeyland J., Hryhorowicz M., **Nowak-Terpiłowska A.**, Jura J., Słomski R., Smorąg Z., Gajda B., Lipiński D. 2018. The production of UL16-Binding Protein 1 targeted pigs using CRISPR technology. *3 Biotech*, vol. 8, art. 70 (art. no. 316). IF₂₀₁₈: 1,786. MNiSW₂₀₁₈: 15.
- Hryhorowicz M., Zeyland J., **Nowak-Terpiłowska A.**, Jura J., Juzwa W., Słomski R., Bocianowski J., Smorąg Z., Woźniak A., Lipiński D. 2018. Characterization of three generations of transgenic pigs expressing the HLA-E gene. *Annals of Animal Science*, 18(4). IF₂₀₁₈: 1,515. MNiSW₂₀₁₈: 20.
- Lipiński D., **Nowak-Terpiłowska A.**, Hryhorowicz M., Jura J., Korcz A., Słomski R., Juzwa W., Smorąg Z., Zeyland J. 2019. Production of ZFN-mediated GGTA1 knockout pigs by microinjection of gene constructs into pronuclei of zygotes. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 22(1). IF₂₀₁₉: 0.516. MNiSW₂₀₁₉: 100.
- **Nowak-Terpiłowska A.**, Lipiński D., Hryhorowicz M., Juzwa W., Jura J., Słomski R., Mazurkiewicz N., Gawrońska B., Zeyland J. Production of ULBP1-KO pigs with human CD55 expression using CRISPR technology. 2020. *Journal of Applied Animal Research*, vol. 48, issue 1, pages 93-101. IF₂₀₂₀: 1,630. MNiSW₂₀₂₀: 70.
- Hryhorowicz M., Lipiński D., Hryhorowicz S., **Nowak-Terpiłowska A.**, Ryczek N., Zeyland J. 2020. Application of genetically engineered pigs in biomedical research. *Genes*, 11(6), 670. IF₂₀₂₀: 4,096. MNiSW₂₀₂₀: 100.

Rozdziały w monografiach naukowych:

- Zeyland J., Gawrońska G., Boksa M., Przysiałowska H., Mały E., **Nowak A.**, Wielgus K., Grześkowiak B., Woźniak A., Słomski R., Lipiński D. Wykrywanie i mapowanie transgenów. *Biotechnologiczne i medyczne podstawy ksenotransplantacji*. Red. Z. Smorąg, Słomski R., L. Cierpka, Wyd. OWN Poznań, str. 95-108, 2013.
- Szalata M., Lipiński D., Zeyland J., **Nowak A.**, Przysiałowska H., Grześkowiak B., Boksa M., Woźniak A., Skrzyszowska M., Jura J., Smorąg Z., Słomski R. Wprowadzanie konstrukcji genowych do komórek zwierząt. *Biotechnologiczne i*

- medyczne podstawy ksenotransplantacji. Red. Z. Smorąg, Słomski R., L. Cierpka, Wyd. OWN Poznań, str. 73-93, 2013.
- Lipiński D., Zeyland J., Boksa M., **Nowak A.**, Przysiałowska H., Pławski A., Szalata M., Smorąg Z., Słomski R.. Transgeneza dla potrzeb ksenotransplantacji. Biotechnologiczne i medyczne podstawy ksenotransplantacji. Red. Z. Smorąg, Słomski R., L. Cierpka, Wyd. OWN Poznań, str. 55-71, 2013.
 - Szalata M., Zeyland J., **Nowak A.**, Przysiałowska H., Lipiński D., Smorąg Z., Słomski R. Główne kierunki transgenezy zwierząt. Biotechnologiczne i medyczne podstawy ksenotransplantacji. Red. Z. Smorąg, Słomski R., L. Cierpka, str. 13-31, 2013.
 - Hryhorowicz M., Zeyland J., **Nowak A.**, Słomski R., Lipiński R. 2016. "Xenotransplantation a possible solution of the shortage of donor organs". „Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce”, Wyd. Młodzi Naukowcy, 2016, s. 90-95. MNiSW = 6,0.
 - Hryhorowicz M., Zeyland J., **Nowak A.**, Mazurkiewicz N., Słomski R., Lipiński D. 2017. Characteristics of transgenic pigs produced for xenotransplantation purposes. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: Nauki przyrodnicze. Część 6*, s. 42-47. MNiSW = 5,0.
 - Mazurkiewicz N., **Nowak A.**, Zeyland J. 2017. Mechanizmy odrzucania ksenoprzeszczepów pochodzących od świni. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: Nauki Medyczne i Nauki o Zdrowiu. Część 1*, s. 84-90. MNiSW = 5,0.
 - Mazurkiewicz N., **Nowak A.**, Lipiński D. 2017. System CRISPR/Cas9 w pozyskiwaniu świń transgenicznych użytecznych do ksenotransplantacji. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: Nauki Medyczne i Nauki o Zdrowiu. Część 1*, s. 77-83. MNiSW = 5,0.
 - Mazurkiewicz N., **Nowak A.**, Hryhorowicz M., Zeyland J., Lipiński D. 2017. Zagrożenia wirologiczne związane z ksenotransplantacjami. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: Nauki Medyczne i Nauki o Zdrowiu. Część 4*, s. 74-78. MNiSW = 5,0.
 - Mazurkiewicz N., **Nowak-Terpiłowska A.**, Hryhorowicz M., Zeyland J., Lipiński D. 2018. Transgeneza - rozwój metod wykorzystywanych w uzyskiwaniu zwierząt użytecznych w ksenotransplantacjach. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: Nauki przyrodnicze. Część 4*, s. 102 – 108. MNiSW = 5,0.
 - Mazurkiewicz N., **Nowak-Terpiłowska A.**, Hryhorowicz M., Zeyland J., Lipiński D. 2018. Białko błonowe CD47 człowieka: właściwości i wykorzystanie w transgenezie świń na cele ksenotransplantacyjne. *Badania i rozwój młodych naukowców w Polsce: Nauki przyrodnicze. Część 4*, s. 109 – 113. MNiSW = 5,0.
- Materiały konferencyjne:*
- Boksa M., Zeyland J., Jura J., Woźniak A., Smorąg Z., Słomski R., **Nowak A.**, Przysiałowska H., Lipiński D. HLA-E transgenic pigs suitable for xenotransplantations. 2nd European Congress of Applied Biotechnology, Haga, 21-25.04.2013 - plakat.
 - Zeyland J., Gawrońska B., Juzwa W., Jura J., **Nowak A.**, Słomski R., Smorąg Z., Szalata M., Woźniak A., Lipiński D. Transgenic pigs designed to express human α -galactosidase to avoid humoral xenograft rejection. 2nd European Congress of Applied Biotechnology, Haga, 21-25.04.2013 - plakat.
 - Zeyland J., D. Lipinski D., Gawronska B., Juzwa W., Jura J., **Nowak A.**, Słomski R., Smorąg Z., Szalata M., Mazurek U., Wozniak A. Double transgenic pigs with combined expression of human alpha1,2-fucosyltransferase and alpha-

- galactosidase designed to avoid hyperacute xenograft rejection, 3rd Biotechnology World Congress, 10-12.02.2014, Dubaj, ZEA – plakat
- Lipiński D., Boksa M., Zeyland J., Jura J., Smorag Z., Słomski R., **Nowak A.** HLA-E expression on porcine cells prepared for xenotransplantation. 3rd Biotechnology World Congress, 10-12.02.2014, Dubaj, ZEA – plakat
 - Słomski R., **Nowak A.**, Hryhorowicz M. Hodowla *in vitro* komórek zwierząt i człowieka. XIV Ogólnopolska konferencja kultur *in vitro* i biotechnologii roślin, Poznań, 14-17.09.2015 – wykład.
 - Szalata M., Minkowska A., Nycz P., Hryhorowicz M., **Nowak A.**, Zeyland J., Lipinski D., Słomski R. Methylation analysis of HLA-E transgene in pigs. EUROBIOTECH 6th Central European Congress of Life Sciences Eurobiotech: 11-14.09.2017 – streszczenie zjazdowe.
 - Mazurkiewicz N., Hryhorowicz M., **Nowak A.**, Zeyland J., Lipiński D., Słomski R. Preparation of the genetic construct for expression of human CD47 gene in the swine Rosa26 locus using the Cas9 nuclease for xenotransplantation purposes. 6th Central European Congress of Life Sciences Eurobiotech, Kraków, 11-14.09.2017 – plakat.
 - Szalata M., Hryhorowicz M., **Nowak-Terpiłowska A.**, Zeyland J., Lipinski D. Słomski R. Methylation level of HLA-E transgene in the xenogeneic tissues of transgenic pigs. J. Genet. Mol. Med. - 2018, vol. 12, iss. 1, s. 57. 4th World Congress on Human Genetics & Genetic Diseases and 3rd International Conference on Molecular Medicine & Diagnostics, April 19-20.04.2018, Dubai, UAE – plakat.
 - Zeyland J., **Nowak-Terpiłowska A.**, Lipiński D., Hryhorowicz M., Juzwa W., Jura J., Słomski R., Mazurkiewicz N., Gawrońska B. Production of ULBP1-KO pigs with human CD55 expression using CRISPR technology. 2nd International Conference on Stem Cell & Regenerative Medicine. 18-19.03.2020, Orlando, USA – plakat.
 - Hryhorowicz M., Lipinski D., **Nowak-Terpiłowska A.**, Jura J., Juzwa W., Słomski R., Mazurkiewicz N., Gawronska B., Zeyland J. CRISPR/Cas9 system in the generation of genetically modified pigs for purpose of xenotransplantation. 2nd edition of Euro-Global Conference on Biotechnology and Bioengineering, 13-14.06.2022 – wykład.

Jednym z zagadnień badawczych, na którym również skupiłam swoją uwagę, była ocena wpływu wyciągów z *Cannabis sativa* na proliferację i rozwój wybranych linii nowotworowych z zastosowaniem obserwacji w czasie rzeczywistym. Badania obejmujące analizy kannabinoidów pozyskiwanych z konopi były elementem projektu „Opracowanie technologii pozyskiwania kannabinoidów z konopi o niskiej zawartości THC jako środków wspomagających leczenie pacjentów onkologicznych” (Program „INNOMED”, Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego). Realizacja projektu umożliwiła ścisłą współpracę zarówno z jednostkami naukowymi, tj. Instytutem Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Uniwersytetem Medycznym

im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz Instytutem Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu, jak i przedstawicielami sektora gospodarczego - PozLab sp. z o.o. oraz Laboratorium Genetyki Molekularnej. Wyniki z zakresu badań *in vitro* otrzymane w ramach projektu zostały opisane w przewodzie doktorskim dr. Pawła Śledzińskiego pt. „Zmiany molekularne i cytofizjologiczne zachodzące w komórkach nowotworowych wybranych linii pod wpływem ekstraktów z *Cannabis sativa*”, w którym pełniłam funkcję promotora pomocniczego (rozprawa doktorska z wyróżnieniem). Ponadto uzyskane rezultaty opublikowano również w następującej formie:

Artykuły naukowe:

- Śledziński P., **Nowak A.**, Zeyland J., Słomski R. 2016. Endocannabinoid system and anticancer properties of cannabinoids. *Folia Biologica et Oecologica* 12: 11–25 (2016). MNiSW₂₀₁₆: 6.
- Śledziński P., Zeyland J., Słomski R., **Nowak A.** 2018. The current state and future perspectives of cannabinoids in cancer biology. *Cancer Medicine*. vol. 7 (iss. 3), s. 765-775. IF₂₀₁₈: 3,357. MNiSW₂₀₁₈: 25.
- Śledziński P., Zeyland J., Słomski R., **Nowak-Terpiłowska A.** 2019. The adverse effects of marijuana use: The present state and future directions. *Journal of child & adolescent substance abuse* 28(2), 65–72. IF₂₀₁₉: 0,884. MNiSW₂₀₁₉: 15.
- Śledziński P., **Nowak-Terpiłowska A.**, Zeyland J. 2021. Cannabinoids in medicine: cancer, immunity, and microbial diseases. *International Journal of Molecular Science*, vol. 22 (iss. 1), art. no. 263. IF₂₀₂₁: 6,208. MNiSW₂₀₂₁: 140.
- Śledziński P., **Nowak-Terpiłowska A.**; Rzymiski, P.; Słomski, R.; Zeyland, J. 2023. *In vitro* evidence of selective pro-apoptotic action of the pure cannabidiol and cannabidiol-rich extract. *Molecules*, 28, 7887. IF₂₀₂₃: 4,200. MNiSW₂₀₂₃: 140.

Rozdziały w monografiach naukowych:

- Śledziński P., **Nowak A.**, Zeyland J., Słomski R. 2016. „Kannabinoidy w medycynie – przegląd zagadnienia”. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o. o., Rośliny – przegląd wybranych zagadnień, s. 253 – 269. MNiSW = 5,0.
- Śledziński P., **Nowak A.**, Zeyland J., Słomski R. 2017. *Kannabinoidy - skutki zdrowotne*. Związki biologiczne czynne w medycynie i ochronie zdrowia - przegląd zagadnień. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, s. 202-212. MNiSW = 5,0.
- Śledziński P., **Nowak-Terpiłowska A.**, Zeyland J., Słomski R. 2018. Wpływ kannabinoidów na układ immunologiczny w kontekście ich działania przeciwnowotworowego. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce*. Nauki medyczne i nauki o zdrowiu. Część VII, s. 154 – 159. MNiSW = 5,0

Materiały konferencyjne:

- Śledziński P., **Nowak A.**, Zeyland J., Słomski R. Kannabinoidy, endokannabinoidy i nowotwory. *Zielone Idee* 21. wieku: III Ogólnopolskie Seminarium Naukowe, 30.03.2017, Poznań – plakat.
- Śledziński P., **Nowak A.**, Słomski R. Przeciwnowotworowe właściwości ekstraktów z roślin *Cannabis sativa*. VI Konferencja Biologii Molekularnej: 6-8.04.2017, Łódź – wykład.
- Śledziński P., **Nowak A.**, Słomski R. Applications of *Cannabis sativa* in medicine. 6th International Conference for Young Researchers: Multidirectional

- Research in Agriculture, Forestry and Technology, 24-25.04.2017, Krakow - plakat.
- Śledziński P., **Nowak A.**, Zeyland J., Słomski R. Wpływ ekstraktów z roślin *Cannabis sativa* na komórki nowotworowe., II Ogólnopolska Konferencja Nowe Horyzonty w Naukach Przyrodniczych BIOT 2017, 26.05.2017, Poznań - plakat.
 - Śledziński P., **Nowak A.**, Zeyland J., Słomski R. Cannabinoid's impact on cancer cells. II International Conference of Cell Biology, 26-27.05.2017, Kraków – plakat.
 - Śledziński P., **Nowak-Terpiłowska A.**, Zeyland J., Słomski R. Cannabinoids as anticancer agents - current state of knowledge and future perspectives. 4th International Conference of Cell Biology: Krakow, 11-12.05.2018 – plakat.

Tematyka prac doświadczalnych, na których skoncentrowałam się w ramach współpracy z Katedra i Kliniką Chirurgii Stomatologicznej, Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu dotyczyła szerokiego zakresu analiz, których wspólny mianownik stanowiły badania zmian zachodzących w hodowlach fibroblastów dziąsłowych człowieka. Powyższy aspekt rozpatrywany był w różnych kontekstach badawczych, takich jak wpływ chlorheksydyny, etanolu czy naparu z rumianku na żywotność, aktywność mitochondrialną, proliferację i morfologię fibroblastów dziąsłowych pozyskanych od pacjentów. Efektem współpracy w ramach wspomnianej tematyki były dwie rozprawy doktorskie, w których pełniłam funkcję promotora pomocniczego: „Heterogeniczność fibroblastów dziąsłowych i podniebiennych w aspekcie leczenia recesji” (dr n.med. Sylwia Klewin-Steinböck, rozprawa doktorska z wyróżnieniem) oraz „The effect of plasminogen activating system on molecular and cytophysiological changes in selected cell lines” (dr n.med. Michał Nohawica). Uzyskane wyniki zostały również opublikowane:

Artykuły naukowe:

- Wyganowska-Świątkowska M., Kotwicka M., Urbaniak P., **Nowak A.**, Skrzypczak-Jankun E., Jankun J. 2016. Clinical implications of the growth-suppressive effects of chlorhexidine at low and high concentrations on human gingival fibroblasts and changes in morphology. International Journal of Molecular Medicine, IF₂₀₁₆: 2.341. MNiSW₂₀₁₆: 20.
- Marzena Wyganowska M., **Nowak A. A.**, Elżbieta Paszyńska P., Kinga Grzech-Leśniak K. 2018. Ethanol influence on gingival fibroblasts – a real-time *in vitro* study. Annals of Agriculture and Environmental Medicine, 25(4):647–650. IF₂₀₁₈: 1,030. MNiSW₂₀₁₈: 30.
- Klewin-Steinböck S., **Nowak-Terpiłowska A.**, Wyganowska-Świątkowska M. 2020. The effect of chamomile solutions on primary gingival fibroblast *in vitro*. Dental Forum. vol. 48 (no. 1), s. 11-16. MNiSW₂₀₂₀: 5. Publikacja jest elementem rozprawy doktorskiej Sylwii Klewin-Steinböck, w której pełniłam funkcję promotora pomocniczego.

- Klewin-Steinböck S., **Nowak-Terpiłowska A.**, Adamski Z., Grocholewicz K., Wyganowska-Świątkowska M. 2021. Effect of injectable equine collagen type I on metabolic activity and apoptosis of gingival fibroblasts. *Advances in Dermatology and Allergology*, vol. 38 (iss. 3), s. 440-445. IF₂₀₂₁: 1,664. MNiSW₂₀₂₁: 70. Publikacja jest elementem rozprawy doktorskiej Sylwii Klewin-Steinböck, w której pełniłam funkcję promotora pomocniczego.
- Nohawica M., **Nowak-Terpiłowska A.**, Adamska K., Wyganowska-Swiatkowska M. 2022. Simulated *in vitro* hypoxic conditions from psoriatic arthritis cartilage change plasminogen activating system urokinase and serpine functionality. Reversal of antiapoptotic protection suggests common homeostatic buffering. *Advances in Dermatology and Allergology*, vol. 39 (iss. 5), s. 944-952. IF₂₀₂₂: 1,400. MNiSW₂₀₂₂: 70. Publikacja jest elementem rozprawy doktorskiej Michała Nohawicy, w której pełniłam funkcję promotora pomocniczego.

Materiały konferencyjne:

- **Nowak-Terpiłowska A.**, Zeyland J., Śledziński P., Wyganowska-Świątkowska M. Influence of lasers with different wavelengths and power densities on human gingival fibroblast cells. 2nd International Conference on Stem Cell & Regenerative Medicine. 18-19.03.2020, Orlando, USA – plakat.

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

6.1. Działalność dydaktyczna

Moja działalność dydaktyczna była ściśle powiązana z prowadzeniem zajęć w Katedrze Biochemii i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Od momentu rozpoczęcia pracy na stanowisku adiunkta badawczo-dydaktycznego w 2014 roku, aktywnie uczestniczyłam w opracowywaniu i realizacji zajęć laboratoryjnych na kierunkach Biotechnologia (studia I i II stopnia) oraz Agronomia (studia I stopnia) z takich przedmiotów jak: Wirusologia molekularna (od 2022 r. jako kierownik przedmiotu), Biochemia, Biotechnologia, Immunologia, Diagnostyka molekularna, Biotechnologia medyczna oraz Frakcjonowanie biopolimerów. Prowadziłam także zajęcia w języku angielskim z przedmiotów Genetic engineering oraz Recent advances in molecular diagnostics. Pełniłam również rolę opiekuna 8 prac magisterskich oraz 7 prac inżynierskich, a w przypadku 6 prac magisterskich i 4 prac inżynierskich pełniłam rolę recenzenta. Praca magisterska pt. „Ocena wpływu ekstraktów z roślin *Cannabis sativa* na aktywność apoptotyczną komórek człowieka”, w której pełniłam rolę promotora, zdobyła pierwszą nagrodę w konkursie na najlepszą pracę naukową o tematyce konopnej (CannabiGold).

W latach 2019-2022 byłam promotorem pomocniczym 3 rozpraw doktorskich:

- Paweł Śledziński (obrona rozprawy doktorskiej 2019) - rozprawa doktorska pt. „Zmiany molekularne i cytofizjologiczne zachodzące w komórkach nowotworowych wybranych linii pod wpływem ekstraktów z *Cannabis sativa*” - rozprawa doktorska z wyróżnieniem.
- Sylwia Klewin-Steinbock (obrona rozprawy doktorskiej 2021) - rozprawa doktorska pt. „Heterogeniczność fibroblastów dziąsłowych i podniebiennych w aspekcie leczenia recesji” - rozprawa doktorska z wyróżnieniem.
- Michał Nohawica (obrona rozprawy doktorskiej 2022) - rozprawa doktorska pt. „The effect of plasminogen activating system on molecular and cytophysiological changes in selected cell lines”.

W ramach aktywności dydaktycznej od 2014 roku jestem członkiem Komisji do przeprowadzenia egzaminu dyplomowego-inżynierskiego na kierunku Biotechnologia. W latach 2016 - 2018 byłam Członkiem Zespołu ds. analizy tematyki prac dyplomowych i zapewnienia poprawności procesu dyplomowania działającego w ramach Zespołu ds. Jakości Kształcenia na kierunku Biotechnologia (**załącznik 3.2**). Zaangażowanie w opracowaniu nowego kierunku studiów Biotechnologii (II stopnia) zaowocowało sprawowaniem funkcji koordynatora anglojęzycznych studiów II stopnia na kierunku Biotechnologii na Wydziale Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu (2017 – 2020) (**załącznik 3.3**). Od 2019 roku do chwili obecnej jestem członkiem Rady Programowej Kierunku Biotechnologia i Rady Programowej Kierunku Biotechnologii, w przypadku której w latach 2023-2024 pełniłam obowiązek przewodniczącego.

6.2. Działalność organizacyjna

Moja działalność organizacyjna rozpoczęła się w 2015 r., w którym zostałam członkiem Rady Wydziału Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii. W latach 2015 – 2018 sprawowałam funkcję opiekuna Koła Naukowego Studentów Biotechnologii „OPERON”, w ramach której m.in. organizowałam warsztaty „Od laika do przyrodnika” kierowane do uczniów szkół ponadpodstawowych (**załącznik 3.4**). W okresie 2016 – 2020 byłam również członkiem Wydziałowego Zespołu ds. Promocji Wydziału Rolnictwa i Bioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu 2016-2020 (**załącznik 3.5**). Pięciokrotnie miałam również okazję

uczestniczyć w konferencjach naukowych/konkursach jako członek komitetu naukowego:

- Członek komitetu naukowego na konferencji VII International Conference of Biotechnology Students, XVII National Academic Seminar of Biotechnology Students, Poznań, 20-22.10.2015 r.
- Członek komitetu naukowego na I Ogólnopolskim Sympozjum Nauk Przyrodniczo-Rolniczych w Poznaniu, Poznań, 22-23.04.2017 r. (**załącznik 3.6**)
- Członek komitetu naukowego w Konkursie „Od laika do Przyrodnika” organizowanym dla licealistów województwa wielkopolskiego przez Koło Naukowe Studentów Biotechnologii „Operon”, 20.06.2017 r.
- Członek komitetu naukowego na II Ogólnopolskim Sympozjum Nauk Przyrodniczo-Rolniczych w Poznaniu, Poznań, 7-8.04.2018 r. (**załącznik 3.7**)
- Członek komitetu naukowego na II Ogólnopolskiej Konferencji „Biotechnologia niejedno ma imię” w Poznaniu, Poznań, 24-24.11.2019 r. (**załącznik 3.8**)

W ramach prac organizacyjnych na macierzystym Wydziale otrzymałam również powołanie do:

- Komisji Wydziałowej w ramach projektu „Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości”, 2019-2022 (**załącznik 3.9**).
- Kolegium Elektorów Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu na kadencję 2020-2024 (**załącznik 3.10**)
- Wydziałowego Zespołu ds. promocji i marketingu na kierunku Biotechnologia, 2022 – obecnie (**załącznik 3.11**)

W latach 2019 – 2022 byłam członkiem Komisji Biotechnologii Oddział PAN w Poznaniu, 2019-2022 (**załącznik 3.12**).

6.3. Działalność popularyzująca naukę

W ramach działalności popularyzującej naukę prowadziłam zajęcia dydaktyczne z uczniami XXV Liceum Ogólnokształcącego im. Generałowej Jadwigi Zamoyskiej w Poznaniu w ramach współpracy podjętej pomiędzy w/w szkołą a Uniwersytetem Przyrodniczym, 2013-2014 r. oraz wygłosiłam wykład inauguracyjnego Festiwalu Nauki

w II Liceum Ogólnokształcącym im. Marii Skłodowskiej-Curie w Gorzowie Wielkopolskim w 2014 r.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

W ramach działalności naukowo-organizacyjnej miałam okazję odbyć wiele kursów, szkoleń i sesji warsztatowych, w tym zagranicznych:

- Czterokrotny udział w szkoleniach w ramach COST (European Cooperation in Science and Technology):

Uczestnictwo w szkoleniu SALAAM Training School III: Principles and Procedures of Tissue Sampling and Biobanking Including Legal and Ethical Aspects. Monachium, 27-31.03.2017 r. (**załącznik 3.13**)

Uczestnictwo w szkoleniu 1st CellFit Training School „Dream it, print it, do it. A practical full immersion course of 3D printing” (COST Action CA16119). Ponte di Legno (Włochy) 29.01.2018-02.02.2018 r. (**załącznik 3.14**)

Uczestnictwo w szkoleniu 2nd CellFit Training School “Add a new dimension to cell culture” (COST Action CA16119). Ponte di Legno (Włochy) 10-14.02.2019 r. (**załącznik 3.15**)

Uczestnictwo w szkoleniu 3rd CellFit Training School 3rd CellFit Training School “Meet the rising stars of emerging therapies” From 3D Bioprinting to Extracellular Vesicles isolation and encapsulation for delivery” (COST Action CA16119). Ponte di Legno (Włochy) 26-30.01.2020 r. (**załącznik 3.16**)

- Konferencja naukowo-szkoleniowa „Analiza DNA – praktyka”, 9-10.10.2014 r. (**załącznik 3.17**)
- XXXII Szkoła zimowa Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie „Farmakologia Kanabinoidów”, Kraków, 13-16.01.2015 r. (**załącznik 3.18**)
- Szkolenie z zakresu cytometrii przepływowej „Warsztaty cytometryczne Akademia Merck”, Warszawa, 13.04.2017 r. (**załącznik 3.19**)
- Kurs szkoleniowy „SmartPro diode laser in everyday practice”, 23.11.2017 r. (**załącznik 3.20**)
- Szkolenie „Innowacyjne rozwiązania do hodowli komórek ssaczy”, Poznań, 14.11.2019 r. (**załącznik 3.21**)
- Coachingowe sesje warsztatowe:
Strategie wdrożeniowe i strategie produktowe: scenariusze, macierze, ryzyka (Biotechnologia), 06.06.2017 r.
Efektywna prezentacja dla biznesu: oferta, teaser inwestycyjny, prototyp i wizualizacja (Biotechnologia), 04.04.2017 r. (**załącznik 3.22**)
- Certyfikat Polskiego Towarzystwa Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych (PoLLASA) w zakresie: odpowiedzialności za planowanie procedur i doświadczeń oraz za ich

przeprowadzenie, wykonywania procedur, uśmiercania zwierząt wykorzystywanych w procedurach (certyfikat nr 1943/2015) (**załącznik 3.23**).

Zarówno podczas studiów doktoranckich jak i po otrzymaniu stopnia doktora otrzymałam stypendia i nagrody:

- Stypendium (dwukrotnie) w ramach projektu „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki; stypendium uzyskane w latach 2009/2010 oraz 2011/2012.
- Główna nagroda w konkursie „Nagroda Miasta Poznania za wyróżniającą się pracę doktorską”, 25 marca 2014 r. (**załącznik 3.24**)

oraz nagrody Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu:

- Nagroda Zespołowa II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami (2019) (**załącznik 3.25**)
- Nagroda Zespołowa II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami (2022) (**załącznik 3.26**)
- Nagroda Zespołowa II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami (2023)
- Nagroda Zespołowa II stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za osiągnięcia naukowe udokumentowane publikacjami (2024)
- Nagroda Zespołowa III stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za działalność organizacyjną, zwłaszcza w pracach komisji wydziałowych i wdrażanie nowych regulacji w Uczelni (2016) (**załącznik 3.27**)
- Nagroda Zespołowa III stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za działalność organizacyjną (2018) (**załącznik 3.28**)
- Nagroda Zespołowa III stopnia Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu za działalność organizacyjną (2020) (**załącznik 3.29**)

Podsumowując, mój dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje **27 oryginalnych prac** twórczych, w tym **5** prac stanowiących opisane powyżej osiągnięcie naukowe. **2** prace zostały opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora, **25** prac ukazało się po uzyskaniu stopnia doktora, co dowodzi znacznemu zwiększeniu dorobku naukowo-badawczego. Ponadto, na mój dorobek składa się również 15 rozdziałów w monografiach naukowych oraz 67 doniesień konferencyjnych. Spośród 27 oryginalnych prac 22 zostały wydane w czasopiśmie z Listy Filadelfijskiej. **Łączna suma uzyskanych przeze mnie punktów zgodnie z listą czasopism MNiSW z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego wynosi 1346 punktów, w tym 450 punktów obejmują publikację stanowiącą podstawę wniosku**

habilitacyjnego. Sumaryczny współczynnik *Impact Factor* dla wszystkich opublikowanych artykułów wynosi **39,5** (w tym **12,607** za publikacje stanowiące podstawę wniosku habilitacyjnego). **Łączna liczba cytowań** (z dnia 06.12.2024 r.) opublikowanych przeze mnie prac wynosi **415** (bez autocytowań **404**) według bazy *Scopus* oraz **298** (bez autocytowań **285**) według bazy *Web of Science*. **Index Hirscha** według bazy *Scopus* wynosi **11** (bez autocytowań **11**), według bazy *Web of Science* wynosi **10** (bez autocytowań **10**).

.....
(podpis wnioskodawcy)