

DR N.FARM. AGNIESZKA GORNOWICZ
ZAKŁAD BIOTECHNOLOGII
UNIwersytet Medyczny w Białymstoku
KIEROWNIK ZAKŁADU: PROF. DR HAB. ANNA BIELAWSKA

AUTOREFERAT

BIAŁYSTOK 2021

I. Imię i nazwisko: Agnieszka Gornowicz, do 2011 Groblewska

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

2009r. Dyplom magistra biologii z oceną bardzo dobrą, Wydział Biologii; kierunek biologia w zakresie biologii molekularnej; Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie; wyróżniona praca magisterska pod tytułem: „Oznaczenie aktywności DPPIV w surowicy krwi chorych dzieci oraz hodowli komórkowej Caco-2” zrealizowana w Katedrze Biochemii.

2010r. Dyplom technika farmaceutycznego - Dyplom oraz Świadectwo uzyskania kwalifikacji w zawodzie technik farmaceutyczny po zdaniu Państwowego Egzaminu Zawodowego Teoretycznego i Praktycznego

2015r. Dyplom doktora nauk farmaceutycznych, uchwała Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku na podstawie rozprawy doktorskiej pod tytułem: „Wpływ przeciwciała anti-MUC1 na aktywność przeciwnowotworową cisplatyny i berenilowych kompleksów komórkach raka piersi” (promotor: prof. dr hab. Anna Bielawska)

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

**INSTYTUT ROZRODU ZWIERZĄT I BADAŃ ŻYWNOŚCI POLSKIEJ
AKADEMII NAUK W OLSZTYNIE**

1.06.2010-30.09.2010	Technolog w Zakładzie Immunologii i Patologii Rozrodu
-----------------------------	---

**UNIWERSYTET MEDYCZNY W BIAŁYMSTOKU, Wydział Farmaceutyczny z
Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej**

1.10.2011- 30.09.2015	Studia doktoranckie w Samodzielnej Pracowni Biotechnologii
1.10.2015 - 30.05.2018	Asystent w Samodzielnej Pracowni Biotechnologii
1.07.2018 - obecnie	Adiunkt w Zakładzie Biotechnologii

IV. 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.).

Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Molekularne mechanizmy apoptozy i autofagii w terapii celowanej i chemioterapii nowotworów”

a) Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, nazwa wydawnictwa, rok wydania)

Uzyskane osiągnięcie naukowe zostało przedstawione w jednotematycznym cyklu 7 prac, wymienionych poniżej, opublikowanych w latach 2018-2021 o sumarycznym współczynniku oddziaływania (IF) wymienionych prac wynoszącym **24,154** i łącznej wartości punktacji Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN) wynoszącej **620**.

1. Gornowicz Agnieszka, Bielawska Anna, Szymanowski Wojciech, Gabryel-Porowska Halina, Czarnomysy Robert, Bielawski Krzysztof. Mechanism of anticancer action of novel berenil complex of platinum(II) combined with anti-MUC1 in MCF-7 breast cancer cells. Oncology Letters 2018 : 15, s. 2340-2348.

Impact Factor: 1.871; **MEiN** 70.000 (wg listy z 2021 roku)

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji projektu, przeprowadzeniu doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

2. Gornowicz Agnieszka, Szymanowski Wojciech, Bielawska Anna, Szymanowska Anna, Czarnomysy Robert, Kałuża Zbigniew, Bielawski Krzysztof. Monoclonal anti-MUC1 antibody with novel octahydropyrazino[2,1-a:5,4-a']diisoquinoline derivative as a potential multi-targeted strategy in MCF-7 breast cancer cells. Oncology Reports 2019 : 42, 4, s. 1391-1403.

Impact Factor: 3.417; **MEiN:** 70.000

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji projektu, przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

3. Gornowicz Agnieszka, Bielawska Anna, Popławska Bożena, Bielawski Krzysztof. Mucyna-1 (MUC1) jako obiecujący cel molekularny w terapii przeciwnowotworowej. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2019: 73, s. 53-64.

Impact Factor: 0.878; **MEiN** 40.000 (wg listy z 2021 roku)

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

4. Gornowicz Agnieszka, Szymanowski Wojciech, Bielawski Krzysztof, Kałuża Zbigniew, Michalak Olga, Bielawska Anna. Mucin 1 as a molecular target of a novel diisoquinoline derivative combined with anti-MUC1 antibody in AGS gastric cancer cells. Molecules 2021: 26(21), 6504.

Impact Factor: 4.412 ; **MEiN:**100.00

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji projektu, przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

5. Gornowicz Agnieszka, Szymanowski Wojciech, Czarnomys Robert, Bielawski Krzysztof, Bielawska Anna. Anti-HER2 monoclonal antibodies intensify the susceptibility of human gastric cancer cells to etoposide by promoting apoptosis, but not autophagy. Plos One 2021: 16(8): e0255585.

Impact Factor: 3.240; **MEiN:** 100.000

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji projektu, przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

6. Gornowicz Agnieszka, Szymanowska Anna, Mojzych Mariusz, Bielawski Krzysztof, Bielawska Anna. The effect of novel 7-methyl-5-phenyl-pyrazolo[4,3-e]tetrazolo[4,5-

b)[1,2,4]triazine sulfonamide derivatives on apoptosis and autophagy in DLD-1 and HT-29 colon cancer cells. International Journal of Molecular Sciences 2020: 21, 5221.

Impact Factor: 5.924; **MEiN:** 140.000

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji projektu, przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

7. Gornowicz Agnieszka, Szymanowska Anna, Mojzych Mariusz, Czarnomysy Robert, Bielawski Krzysztof, Bielawska Anna. The anticancer action of a novel 1,2,4-triazine sulfonamide derivative in colon cancer cells. Molecules 2021 : 26, 2045.

Impact Factor: 4.412; **MEiN:** 100.000

Mój wkład w powstanie pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji projektu, przeprowadzeniu części doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, analizie statystycznej, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu wraz z rycinami, przygotowaniu manuskryptu do druku, korespondencji z redakcją.

Badania naukowe, opisane w wyżej wymienionych publikacjach prowadziłam w oparciu o środki finansowe uzyskane z Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (projekty statutowe) oraz z projektu NCN - Miniatura 1 (Grant DEC-2017/01/X/NZ7/01315).

b) Omówienie cyklu naukowego/artystycznego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Nowotwory złośliwe stanowią jedną z najpoważniejszych przyczyn zgonów w Polsce, co niewątpliwie klasyfikuje je jako problem o dużej wadze społecznej. Według raportu Światowej Organizacji Zdrowia liczba nowo stwierdzonych przypadków chorób nowotworowych w 2020 roku wyniosła aż 19 milionów, a przewidywana liczba nowych przypadków wzrośnie do 22 milionów w ciągu następnych dziesięciu lat. W ostatnich latach pomimo wdrożenia zakrojonych na szeroką skalę badań przesiewowych w poszukiwaniu

nowych leków oraz wprowadzenia nowych procedur terapeutycznych, śmiertelność z powodu nowotworów nie uległa zdecydowanej poprawie. Ograniczenia w chemioterapii nowotworów wynikają głównie z faktu, iż stosowane leki obarczone są silnym działaniem niepożądanym, a wiele rodzajów nowotworów wykazuje nabytą lub wrodzoną oporność na podawane leki. W związku z tym konieczne jest poszukiwanie nowych, mniej toksycznych leków oraz bardziej skutecznych terapii. W miarę wzrostu wiedzy na temat molekularnego mechanizmu procesów nowotworowych oraz biologii nowotworów, pojawiają się nowe możliwości i strategie terapeutyczne. Obecnie prowadzone prace skupiają się na badaniu związków działających na bezpośrednie otoczenie komórki nowotworowej, naczynia krwionośne oraz przekazywanie sygnałów do i wewnątrz komórki nowotworowej. Wiele uwagi poświęca się również lekom wpływającym na cykl komórki nowotworowej, jej proliferację i indukcję apoptozy.

Poznanie procesów związanych z genezą i rozwojem komórek nowotworowych zaowocowało wprowadzeniem terapii celowanej i stanowi to jedno z największych osiągnięć medycyny w ostatnim dziesięcioleciu. Nową celowaną strategią leczenia nowotworów jest stosowanie przeciwciał monoklonalnych w skojarzeniu z chemioterapeutykami. Ważnym celem ukierunkowanej terapii jest transbłonowa glikoproteina typu I - mucyna 1 (MUC1), której nadmierną ekspresję wykazano w wielu nowotworach pochodzenia nabłonkowego, w szczególności w raku piersi. MUC1 została uznana przez National Cancer Institute za jeden z najważniejszych i najbardziej obiecujących celów molekularnych w terapii przeciwnowotworowej. MUC1 stanowi wyeksponowany składnik błony komórkowej i ulega nadmiernej ekspresji w nowotworach pochodzenia nabłonkowego, a w szczególności w raku piersi. Mucyna 1 ze względu na duże rozmiary (300–600 kDa) oraz znaczną liczbę łańcuchów cukrowych zakończonych resztami kwasu sjałowego o ładunku ujemnym stanowi istotną przeszkodę sferyczną w oddziaływaniach między komórkami, a także może pełnić rolę ligandu dla cząsteczek adhezyjnych. MUC1 wiąże się z białkami biorącymi udział w adhezji komórkowej oraz w transformacji nowotworowej. Wykazano, że MUC1 wchodzi w interakcję z receptorem nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR), który również ulega nadmiernej ekspresji w wielu nowotworach. Mucyna 1 uczestniczy także w zjawisku oporności lekowej i bierze udział w hamowaniu indukcji apoptozy. Wzmoczona ekspresja MUC1 wywołuje oporność komórek raka tarczycy na cisplatynę, docetaksel i doksorubicynę oraz komórek raka piersi na trastuzumab (Gornowicz A. i wsp.: **Mucyna-1 (MUC1) jako obiecujący cel molekularny w terapii przeciwnowotworowej. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2019: 73, s. 53-64**).

Badania naukowe z ostatnich lat wykazują, że przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko MUC1 hamuje ścieżki sygnałowe zależne od receptora EGF przywracając normalną proliferację komórek i indukując programowaną śmierć komórek. Przeciwciało skierowane przeciwko MUC1 powoduje translokację receptora EGF z powierzchni komórki do wewnątrzkomórkowego regionu prowadząc do odłączenia ligandu i hamowania sygnału poprzez szlak zależny od EGFR. W przypadku terapii celowanej za pomocą przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko MUC1 pozytywne wyniki uzyskano po zastosowaniu: C595, GP1.4, HMFG2, 90Y-muHMFG1, a także inhibitorów drobnocząsteczkowych GO-203 i PMIP. Badania *in vitro* z zastosowaniem przeciwciała C595 (należącego do przeciwciał mysich podklasy IgG3) i docetakselu wykazały indukcję apoptozy w komórkach nowotworowych jajnika, natomiast w warunkach *in vivo* nastąpiło zahamowanie wzrostu guza. Przeciwciało GP1.4 hamuje proliferację i inwazję komórek nowotworowych. Przeciwciało HMFG2 również redukuje guzy w mysim modelu raka trzustki. Badania nad przeciwciałem 90Y-muHMFG1 rozpoznającym glikozylowaną domenę zewnątrzkomórkową MUC1 wykazały wydłużenie czasu przeżycia pacjentów. Niektóre z testowanych przeciwciał przeciwko MUC1 przeszły pomyślnie fazy badań przedklinicznych. Przykładem jest przeciwciało HMFG1, które obecnie znajduje się w III fazie badań klinicznych. Szczepionka zawierająca cDNA MUC1 oznaczona jako M-FP jest również testowana w III fazie badań klinicznych u pacjentek z rakiem piersi. W badaniach klinicznych znajduje się także 106 aminokwasowy peptyd skierowany przeciwko MUC1 stosowany także w połączeniu z peptydem HER-2/neu oraz GM-CSF. Ponadto do III fazy badań klinicznych przeszedł preparat Stimuvax zawierający 25 aminokwasową sekwencję wiążącą się z rdzeniem białkowym MUC1 (Gornowicz A. i wsp.: **Mucyna-1 (MUC1) jako obiecujący cel molekularny w terapii przeciwnowotworowej. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2019: 73, s. 53-64**). Pozytywne wyniki badań dotyczących zastosowania przeciwciał monoklonalnych w skojarzeniu z chemioterapeutykami dają nadzieję na wdrożenie ich w przyszłości w terapii przeciwnowotworowej.

W badaniach własnych oceniałam wpływ kombinacji przeciwciała skierowanego przeciwko MUC1 wraz z nowym berenilowym kompleksem platyny(II) na molekularny mechanizm indukcji apoptozy w komórkach raka piersi MCF-7 (Gornowicz A. i wsp. **Mechanism of anticancer action of novel berenil complex of platinum(II) combined with anti-MUC1 in MCF-7 breast cancer cells. Oncology Letters 2018: 15: 2340-2348**). Berenilowe kompleksy platyny(II) charakteryzują się odmiennym mechanizmem działania niż cisplatyna. Przyłączają się do małego rowka DNA i wykazują silne powinowactwo do par

adenina-tymina. W odróżnieniu do jednonordzeniowych kompleksów platyny związki te tworzą wiązania wewnątrz- i międzynyiciowe z DNA. Oceńałam wpływ skojarzonego działania nowego berenilowego kompleksu platyny(II) wraz z przeciwciałem anti-MUC1 na aktywację kaspazy-8 oraz kaspazy-9 metodą cytometrii przepływowej. Ważnym osiągnięciem przeprowadzonych badań jest dostarczenie dowodów na to, że nowo zsyntetyzowany związek wraz z przeciwciałem anti-MUC1 przyczynia się do aktywacji obu badanych kaspaz w porównaniu z próbą kontrolną. Ponadto wykazałam istotny statystycznie wzrost stężenia białek zaangażowanych w proces programowanej śmierci komórek, a w tym: pro-apoptotycznego białka Bax, cytochromu c, kaspazy-8, kaspazy-9 w estrogenozależnych komórkach raka piersi. Uzyskane wyniki świadczą o aktywacji obu szlaków apoptotycznych: mitochondrialnego związanego z uwolnieniem cytochromu c z mitochondriów do cytozolu oraz aktywacją kaspazy-9 jak również szlaku zewnętrznego związanego z aktywacją kaspazy-8.

Dane literaturowe wskazują na związek pomiędzy MUC1 a szlakiem sygnałowym PI3K/Akt. MUC1 poprzez aktywację szlaku PI3K/Akt promuje wzrost i przeżycie komórek nowotworowych. Kluczowe okazało się dokonanie oceny stężenia kinazy p-Akt w lizatach komórek raka piersi MCF-7. Istotny statystycznie spadek stężenia kinazy p-Akt odnotowałam po zastosowaniu przeciwciała anti-MUC1 wraz z nowym berenilowym kompleksem platyny(II) w estrogenozależnych komórkach raka piersi (**Gornowicz A. i wsp.: Mechanism of anticancer action of novel berenil complex of platinum(II) combined with anti-MUC1 in MCF-7 breast cancer cells. *Oncology Letters* 2018; 15: 2340-2348).**

Celem moich dalszych badań było udowodnienie tezy, że skojarzone działanie nowych pochodnych oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny z przeciwciałem anti-MUC1 pozwoli na osiągnięcie lepszego efektu terapeutycznego i w przyszłości może stanowić nową ukierunkowaną na cel molekularny (mucynę MUC1) strategię leczenia nowotworów.

Na podstawie skriningu serii nowych analogów oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny wyselekcjonowałam najbardziej obiecującego kandydata do badań, oznaczonego jako związek OM-86II. Zbadałam molekularny mechanizm przeciwnowotworowego działania tego związku wraz z przeciwciałem anti-MUC1 w komórkach raka piersi MCF-7 oraz w komórkach raka żołądka AGS (**Gornowicz A. i wsp.: Monoclonal anti-MUC1 antibody with novel octahydropyrazino[2,1-a:5,4-a']diisoquinoline derivative as a potential multi-targeted strategy in MCF-7 breast cancer cells. *Oncology Reports* 2019; 42(4): 1391-1403; Gornowicz A. i wsp.: Mucin 1 as a molecular target of a novel diisoquinoline derivative combined with anti-MUC1 antibody in AGS gastric cancer cells. *Molecules* 2021; 26(21): 6504).** Istotnym rezultatem przeprowadzonych badań było potwierdzenie, że związek OM-86II

wraz z przeciwciałem anti-MUC1 oddziałuje na komórki nowotworowe wielokierunkowo. Wyniki uzyskane podczas eksperymentów były porównane do monoterapii etopozydem, nową pochodną diizochinoliny (OM-86II), przeciwciałem anti-MUC1, a także etopozydu w połączeniu z przeciwciałem anti-MUC1. Wykazałam, że przeciwciało anti-MUC1 ze związkiem OM-86II charakteryzuje się silniejszym działaniem cytotoksycznym i antyproliferacyjnym niż monoterapia związkiem OM-86II czy etopozydem. Zaobserwowałam, że przeciwciało anti-MUC1 w skojarzeniu ze związkiem OM-86II powoduje zatrzymanie największego odsetka komórek raka piersi w fazie G2/M. Oceniłam również wpływ badanych związków na molekularny mechanizm indukcji apoptozy. Za pomocą cytometrii przepływowej oraz mikroskopii fluorescencyjnej potwierdziłam, że związek OM-86II wraz z przeciwciałem anti-MUC1 w największym stopniu indukują proces apoptozy, co skutkuje największym odsetkiem komórek wczesno- oraz późnoapoptotycznych. Ponadto molekularny mechanizm indukcji programowanej śmierci komórek wiąże się z aktywacją zarówno kaspaz zaangażowanych w szlak receptorowy, w tym kaspazy-8 oraz w szlak mitochondrialny, w tym kaspazy-9. Mitochondria stanowią bardzo ważny punkt docelowy takiej terapii, co wiąże się również z obniżeniem mitochondrialnego potencjału błonowego komórek nowotworowych. Kluczowym białkiem o właściwościach proapoptotycznych jest białko Bax. W badanych liniach komórek nowotworowych wykazałam wzrost stężenia tego białka, co dodatkowo potwierdza proapoptotyczny potencjał związku OM-86II zastosowanego z przeciwciałem anti-MUC1. Oceniłam również wpływ badanych związków (OM-86II oraz etopozydu) zastosowanych w formie monoterapii oraz w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1 na szereg białek związanych z inwazyjnością oraz metastazą komórek nowotworowych, a także w przypadku raka piersi zaangażowanych w proces zapalny. Najsilniejszy spadek stężenia cytokiny prozapalnej TNF- α zaobserwowałam po zastosowaniu skojarzonego działania związku OM-86II i przeciwciała anti-MUC1 w komórkach raka piersi MCF-7. Komórki nowotworowe z nadekspresją COX-2 są odporne na apoptozę, a COX-2 działa jako kluczowy czynnik wzrostu i inwazji komórek nowotworowych. Dowiodłam, że terapia skojarzona oparta na związku OM-86II i przeciwciele anti-MUC1 doprowadziła do obniżenia stężenia COX-2 w lizatach komórek MCF-7 w porównaniu z kontrolą. Oceniłam także stężenie metaloproteinazy-2 (MMP-2) oraz metaloproteinazy-9 (MMP-9) zarówno w komórkach raka piersi oraz komórkach raka żołądka. Potwierdziłam, że OM-86II z przeciwciałem anti-MUC1 w najwyższym stopniu obniżało stężenie MMP-2 oraz MMP-9 w supernatantach z hodowli komórek MCF-7 w porównaniu do kontroli, monoterapii badanymi związkami oraz skojarzonego działania etopozydu wraz z przeciwciałem anti-MUC1. W przypadku komórek

raka żołądka związek OM-86II w kombinacji z przeciwciałem anti-MUC1 obniżał stężenie MMP-9, natomiast prowadził do wzrostu stężenia MMP-2.

W kolejnym etapie badań oceniłam wpływ badanych związków na stężenie kinazy mTOR. Nadmierna aktywacja ścieżki sygnałowej PI3K/Akt/mTOR prowadzi do progresji nowotworu. Najniższe stężenie mTOR wykryłam po inkubacji ze związkiem OM-86II i anti-MUC1 w porównaniu do kontroli w obu badanych liniach komórek nowotworowych. Ponadto dokonałam oceny stężenia wydzielniczej cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1 (sICAM1) ze związkami zastosowanymi w formie monoterapii oraz w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1. Udowodniłam, że etopozyd, związek OM-86II, przeciwciało anti-MUC1 jak również oba chemioterapeutyki w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1 istotnie statystycznie obniżają poziom sICAM1. Zahamowanie interakcji MUC1 z ICAM1 ogranicza możliwości przemieszczania się komórek nowotworowych do naczyń krwionośnych i powstawanie nowych przerzutów (Gornowicz A. i wsp.: **Monoclonal anti-MUC1 antibody with novel octahydropyrazino[2,1-a:5,4-a']diisoquinoline derivative as a potential multi-targeted strategy in MCF-7 breast cancer cells. Oncology Reports 2019; 42(4): 1391-1403; Gornowicz A. i wsp.: Mucin 1 as a molecular target of a novel diisoquinoline derivative combined with anti-MUC1 antibody in AGS gastric cancer cells. Molecules 2021; 26(21): 6504).**

Podsumowując, potwierdziłam, że przeciwciało anti-MUC1 w skojarzeniu ze związkiem OM-86II blokuje szereg białek zaangażowanych we wzmożoną proliferację komórek raka piersi oraz raka żołądka takich jak: mTOR, MMP-9 oraz sICAM1.

Na podstawie dotychczas uzyskanych wyników udowodniłam, że zastosowanie przeciwciała monoklonalnego anti-MUC1 uwrażliwiło komórki raka piersi MCF-7 oraz raka żołądka na działanie nowej pochodnej diizochinoliny (OM-86II). Przeprowadzone badania pozwoliły na wyodrębnienie potencjalnego chemioterapeutyku, który wraz z przeciwciałem monoklonalnym może znaleźć zastosowanie w terapii nowotworów pochodzenia nabłonkowego charakteryzujących się nadekspresją mucyny 1, w szczególności nowotworów piersi.

W kolejnym etapie badań skupiłam się na terapii ukierunkowanej na receptor naskórkowego czynnika wzrostu HER2, który ulega nadmiernej ekspresji w wielu nowotworach, również w raku żołądka (Gornowicz A. i wsp.: **Anti-HER2 monoclonal antibodies intensify the susceptibility of human gastric cancer cells to etoposide by promoting apoptosis, but not autophagy. Plos One 2021; 16(8): e0255585).** Rak żołądka (GC) jest chorobą wieloczynnikową i pozostaje główną przyczyną zgonów na całym świecie [1]. Lepsza wiedza

na temat patogenezы raka żołądka, zwłaszcza na temat dysfunkcji szlaków sygnalizacji molekularnej, doprowadziła do wyboru celów molekularnych, które odgrywają znaczącą rolę w rozwoju i postępie choroby. Liczne związki należące do inhibitorów HER2 są testowane w badaniach przedklinicznych i klinicznych [2-7]. Wykazano korzyści z połączenia trastuzumabu z konwencjonalnymi chemioterapeutykami, takimi jak: doksorubicyna, paklitaksel, cisplatyna, karboplatyna, winorelbina i taksany [8-13], ale brak jest danych literaturowych, w których opisano interakcję między trastuzumabem lub pertuzumabem, a etopozydem. Kombinacja leków składająca się z: cisplatyny, kapecytabiny i trastuzumabu znacząco hamowała wzrost guza w modelach HER2 dodatniego raka żołądka [14]. Wyniki badania ToGA udowodniły, że połączenie przeciwciała anty-HER2 (trastuzumabu) z kapecytabiną i cisplatyną lub z fluorouracylem i cisplatyną doprowadziło do zwiększenia całkowitego przeżycia pacjentów z zaawansowanym rakiem żołądka HER2-dodatnim [2]. Inne badania wykazały, że trastuzumab stosowany razem z chemioterapią (epirubicyną i cyklofosfamidem) zwiększał całkowite przeżycie (OS), a także poprawiał skuteczność terapii i skracał czas trwania leczenia [15]. Pacjenci z HER-2 dodatnim, miejscowo zaawansowanym gruczolakorakiem przełyku i żołądka otrzymywali chemioterapię, trastuzumab i chemioradioterapię w badaniu TOXAG [16]. Dodatkowo trastuzumab wraz z kapecytabiną/oksaliplatyną jest również testowany w zaawansowanym raku żołądka [17].

Aktywność przeciwnowotworowa pertuzumabu w skojarzeniu z trastuzumabem i chemioterapią analizowano w badaniu JOSHUA, a uzyskane wyniki były podstawą badania JACOB (NCT01774786). Niestety, obserwacje nie wykazały poprawy całkowitego przeżycia pacjenta. Nie stwierdzono istotnej różnicy przy zastosowaniu dwóch przeciwciał anty-HER2: pertuzumabu, trastuzumabu i chemioterapii w porównaniu z trastuzumabem i chemioterapią [18,19]. Taka strategia nie przyczyniła się do zwiększenia skuteczności terapii, dlatego należy wziąć pod uwagę inne chemioterapeutyki lub zsyntetyzować nowe pochodne leków.

Celem moich dalszych analiz było zbadanie aktywności przeciwnowotworowej etopozydu w skojarzeniu z trastuzumabem lub pertuzumabem w komórkach raka żołądka AGS z potwierdzoną ekspresją HER2 w porównaniu z monoterapią opartą na etopozydzie. Dodatkowo, cytotoksyczne działanie etopozydu w monoterapii i w skojarzeniu z trastuzumabem lub pertuzumabem sprawdziłam w komórkach raka piersi, takich jak MCF-7 (HER2-) i MDA-MB-231 (HER2-) oraz HCC1954 (HER2+). Badania te mają nowatorski charakter, gdyż dotychczas nie testowano takiej kombinacji w leczeniu raka żołądka i przeprowadzono je w celu sprawdzenia, czy przeciwciała anty-HER2 mogą uwrażliwiać komórki raka żołądka na etopozyd. Oceniłam wpływ monoterapii i skojarzonego działania

etopozytu z przeciwciałami monoklonalnymi anti-HER2 na przeżywalność, biosyntezę DNA i molekularny mechanizm indukcji apoptozy przy zastosowaniu szeregu testów biochemicznych takich jak: oznaczanie mitochondrialnego potencjału błonowego (MMP) oraz aktywności kaspaz inicjatorowych: -8 i -9. Ponadto oceniałam wpływ samego etopozytu i w skojarzeniu z pertuzumabem lub trastuzumabem na tworzenie autofagosomów i autolizosomów za pomocą cytometrii przepływowej. Stężenia Bekliny-1, LC3A i LC3B zbadalam za pomocą testu ELISA. Wykazałam, że komórki raka piersi nie były podatne na sam etopozyd i jego połączenie z przeciwciałami anti-HER2, natomiast obiecujące wyniki badań uzyskałam z eksperymentów przeprowadzonych na komórkach raka żołądka AGS. Sprawdziłam cytotoksyczne i anty-proliferacyjne działanie samego etopozytu oraz w skojarzeniu z trastuzumabem lub pertuzumabem w komórkach raka żołądka AGS. Udowodniłam, że etopozyd z pertuzumabem posiadał najbardziej znaczącą aktywność przeciwnowotworową. Pertuzumab wraz z etopozydem hamuje żywotność i proliferację skuteczniej niż monoterapia oparta na etopozydzie lub skojarzenie składające się z trastuzumabu i etopozytu. Pertuzumab z etopozydem doprowadził do indukcji apoptozy, gdzie wykazano dużą liczbę komórek z aktywną kaspazą-8 i kaspazą-9 oraz obniżony MMP. Ponadto zbadalam stężenia ważnych białek zaangażowanych w autofagię. Udowodniłam, że stężenie Bekliny-1 było zależne od dawki środka chemioterapeutycznego. Większa dawka etopozytu w skojarzeniu z trastuzumabem lub pertuzumabem prowadziła do niższego stężenia analizowanego białka w lizatach komórkowych. Wszystkie badane związki spowodowały obniżenie stężenia LC3A i LC3B w porównaniu z komórkami kontrolnymi. Analiza cytometryczna potwierdziła, że autofagia nie była indukowana po zastosowaniu monoterapii, ale także strategii skojarzonej. Powyższe rezultaty potwierdzają tezę, że hamowanie autofagii zwiększa podatność komórek nowotworowych na leczenie i sprzyja indukcji programowanej śmierci komórek raka żołądka (Gornowicz A. i wsp.: **Anti-HER2 monoclonal antibodies intensify the susceptibility of human gastric cancer cells to etoposide by promoting apoptosis, but not autophagy. Plos One 2021; 16(8): e0255585**).

Rak jelita grubego (CRC) również stanowi poważny problem zdrowotny i zajmuje drugie miejsce pod względem śmiertelności wśród nowotworów złośliwych na świecie. Chirurgia, chemioterapia i terapia celowana są nadal najczęstszymi metodami leczenia pacjentów z CRC. Chemioterapia opiera się na lekach stosowanych w monoterapii, takich jak 5-fluorouracyl (5-FU), ale także stosuje się terapię skojarzoną, która obejmuje oksaliplatynę, kapecytabinę i irynotekan. Niestety, niekorzystne efekty uboczne, takie jak zwiększona toksyczność, oporność i niska selektywność wobec komórek nowotworowych, dają podstawę

do poszukiwania nowych strategii oraz środków chemioterapeutycznych. Szereg doniesień naukowych wykazało, że pochodne 1,2,4-triazyny mają znaczącą aktywność przeciwnowotworową, a niektóre z nich są poddane analizie w ramach badań klinicznych. W kolejnym etapie badań poddałam ewaluacji dwie nowo zsyntetyzowane sulfonamidowe pochodne 1,2,4-triazyny (MM124, MM137) i oceniłam ich wpływ na proces autofagii w dwóch liniach komórkowych raka okrężnicy DLD-1 i HT-29. Jako związki referencyjne zastosowałam: 5-fluorouracyl oraz roskowitynę (**Gornowicz A. i wsp.: The effect of novel 7-methyl-5-phenyl-pyrazolo[4,3-e]tetrazolo[4,5-b][1,2,4]triazine sulfonamide derivatives on apoptosis and autophagy in DLD-1 and HT-29 colon cancer cells. International Journal of Molecular Sciences 2020: 21: 5221**).

Autofagia jest procesem samodegradacji i jest klasyfikowana jako makroautofagia, selektywna autofagia, mikroautofagia i autofagia zależna od białek opiekuńczych (CMA). Niektóre inhibitory autofagii znajdują się na różnych etapach badań przedklinicznych i klinicznych. Hydroksychlorochina, werteporfina i klarytromycyna są nadal w trakcie badań klinicznych. 3-metyloadenina, Lys05, mikonazol i α -hederyna zasługują na szczególną uwagę w grupie inhibitorów autofagii poddawanych badaniom przedklinicznym [20]. W badaniach znajduje się hydroksychlorochina w monoterapii oraz w skojarzeniu z chemioterapeutykami (oksaliplatyną, fluoropirymidyną). Dodatkowo testowana jest kombinacja hydroksychlorochiny z bewacyzumabem w terapii raka okrężnicy. Pozytywne wyniki badań uzyskano po zastosowaniu hydroksychlorochiny wraz z worinostatem w leczeniu pacjentów z nowotworem jelita grubego [21].

W moich badaniach wykazałam, że nowo zsyntetyzowane pochodne 1,2,4-triazyny powodują spadek stężenia Beclin-1, LC3A oraz LC3B w lizatach komórek HT-29 oraz DLD-1. Podsumowując oba badane związki posiadają obiecujące właściwości przeciwnowotworowe i hamują proces autofagii (**Gornowicz A. i wsp.: The effect of novel 7-methyl-5-phenyl-pyrazolo[4,3-e]tetrazolo[4,5-b][1,2,4]triazine sulfonamide derivatives on apoptosis and autophagy in DLD-1 and HT-29 colon cancer cells. International Journal of Molecular Sciences 2020: 21: 5221**).

W toku dalszych badań oceniłam molekularny mechanizm działania nowo zsyntetyzowanej sulfonamidowej pochodnej 1,2,4-triazyny oznaczonej symbolem MM131 w liniach komórkowych raka okrężnicy DLD-1 oraz HT-29. Wyniki badań porównywałam ze związkiem referencyjnym 5-fluorouracylem. Badania biologiczne obejmowały ocenę działania cytotoksycznego oraz anty-proliferacyjnego w badanych komórkach nowotworowych. Analiza cyklu komórkowego pozwoliła stwierdzić, że związek MM131 powoduje zatrzymanie

największego odsetka komórek linii DLD-1 w dwóch fazach: S oraz G₂/M, natomiast w przypadku linii HT-29 związek ten jest specyficzny tylko w stosunku do fazy S cyklu komórkowego. Szczególnie istotna była ocena wpływu badanego związku na stężenie białek: sICAM1, mTOR, Bekliny-1, Katepsyny B zaangażowanych w patogenezę oraz progresję nowotworu okrężnicy. Wykazałam, że nowa sulfonamidowa pochodna 1,2,4-triazyny przyczynia się do obniżenia stężenia sICAM-1, mTOR, Katepsyny-B, natomiast powoduje wzrost stężenia Bekliny-1 w obu analizowanych liniach nowotworowych (**Gornowicz A. i wsp.: The anticancer action of a novel 1,2,4-triazine sulfonamide derivative in colon cancer cells. Molecules 2021 : 26, 2045).**

Podsumowując, badania zaprezentowane w pracach wchodzących w skład cyklu pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

1. Zastosowanie przeciwciała anti-MUC1 wraz z nowym berenilowym kompleksem platyny(II) lub nową pochodną oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny stanowi obiecującą strategię terapeutyczną w estrogenozależnych komórkach raka piersi MCF-7. Mechanizm przeciwnowotworowego działania berenilowego kompleksu platyny(II) polega na indukcji zewnątrz- i wewnątrzpochodnej ścieżki apoptozy związanej ze wzrostem stężenia białka Bax, cytochromu c, kaspazy-8, kaspazy-9 oraz białka p53. Wielokierunkowy mechanizm działania nowej pochodnej oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny i przeciwciała anti-MUC1 wiąże się z indukcją mitochondrialnego szlaku apoptozy, spadkiem stężenia MMP-2, MMP-9, sICAM1 i mTOR. Zastosowana strategia wykazuje działanie przeciwzapalne związane z obniżeniem stężenia TNF-alfa oraz COX-2.
2. Nowa pochodna oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1 przyczynia się do indukcji programowanej śmierci komórek raka żołądka AGS oraz obniżenia stężenia białek takich jak MMP-9, mTOR, sICAM1.
3. Nowe, sulfonamidowe pochodne 1,2,4-triazyny charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwnowotworową w komórkach raka okrężnicy HT-29 oraz DLD-1. Molekularny mechanizm ich działania polega na hamowaniu procesu autofagii i obniżeniu stężenia białek zaangażowanych w progresję nowotworu takich jak: sICAM-1, mTOR, Katepsyny-B.
4. Pertuzumab w skojarzeniu z etopozydem stanowi alternatywę monoterapii w leczeniu nowotworów żołądka z nadekspresją receptora HER2.

Piśmiennictwo:

1. Ferro A, Peleteiro B, Malvezzi M, Bosetti C, Bertuccio P, Levi F, et al. Worldwide trends in gastric cancer mortality (1980–2011), with predictions to 2015, and incidence by subtype. *Eur J Cancer*. 2014; 50: 1330–1344.
2. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomized controlled trial. *Lancet*. 2010; 376: 687–697.
3. Satoh T, Lee KH, Rha SY, Sasaki Y, Park SH, Komatsu Y, et al. Randomized phase II trial of nimotuzumab plus irinotecan versus irinotecan alone as second-line therapy for patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2015; 18: 824–832.
4. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, Dumitru F, Passalacqua R, Goswami C, et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2014; 383: 31–39.
5. Bang YJ, Van Cutsem E, Mansoor W. A randomized, openlabel phase II study of AZD4547 (AZD) versus Paclitaxel (P) in previously treated patients with advanced gastric cancer (AGC) with Fibroblast Growth Factor Receptor 2 (FGFR2) polysomy or gene amplification (amp): SHINE study. *J Clin Oncol*. 2015; 33: 4014.
6. Van Cutsem E, Yeh KH, Bang YJ, Shen L, Ajani JA, Bai YX, et al. Phase III trial of everolimus (EVE) in previously treated patients with advanced gastric cancer (AGC): GRANITE-1. *J Clin Oncol*. 2012; 30: LBA3.
7. Bang YJ, Im SA, Lee KW, Cho JY, Song EK, Lee KH, et al. Olaparib plus paclitaxel in patients with recurrent or metastatic gastric cancer: A randomized, double-blind phase II study. *J Clin Oncol*. 2013; 31: 4013–4013.
8. Pegram MD, Konecny GE, O'Callaghan C, Beryt M, Pietras R, Slamon DJ. Rational combinations of trastuzumab with chemotherapeutic drugs used in the treatment of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2004; 96: 739–749.
9. Pegram MD, Pienkowski T, Northfelt DW, Eiermann W, Patel R, Fumoleau P, et al. Results of two open-label, multicenter phase II studies of docetaxel, platinum salts, and trastuzumab in HER2-positive advanced breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2004; 96: 759–769.
10. Naruse I, Fukumoto H, Saijo N, Nishio K. Enhanced anti-tumor effect of trastuzumab in combination with cisplatin. *Jpn J Cancer Res*. 2002; 93: 574–581.

11. Robert N, Leyland-Jones B, Asmar L, Belt R, Illegbodun D, Loesch D, et al. Randomized phase III study of trastuzumab, paclitaxel, and carboplatin compared with trastuzumab and paclitaxel in women with HER-2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 2786–2792.
12. Perez EA. Carboplatin in combination therapy for metastatic breast cancer. *Oncologist*. 2004; 9: 518–527.
13. Burstein HJ, Harris LN, Marcom PK, Lambert-Falls R, Havlin K, Overmoyer B, et al. Trastuzumab and vinorelbine as first-line therapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer: multicenter phase II trial with clinical outcomes, analysis of serum tumor markers as predictive factors, and cardiac surveillance algorithm. *J Clin Oncol*. 2003; 21: 2889–2895.
14. Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yasuno H, Moriya Y, Mori K, Tanaka Y. Antitumor activity of trastuzumab in combination with chemotherapy in human gastric cancer xenograft models. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2007; 59: 795–805.
15. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001; 15: 783–92.
16. Clinical trials.gov. (2020b). A study of the combination of oxaliplatin, capecitabine and herceptin (trastuzumab) and chemoradiotherapy in the adjuvant setting in operated patients with HER2 gastric or gastro-esophageal junction cancer (TOXAG study).
17. Clinical trials.gov. (2020c). A study of capecitabine [xeloda] in combination with trastuzumab [herceptin] and oxaliplatin in patients with resectable gastric cancer.
18. Hoff P, Tabernero J, Shen L. P-0111 Pertuzumab, trastuzumab and chemotherapy in HER2-positive metastatic gastric or gastro-oesophageal junction cancer: an international phase III study (JACOB). *Ann Oncol*. 2013; 24: iv67.
19. Tabernero J, Hoff PM, Shen L, Ohtsu A, Shah MA, Cheng K, et al. Pertuzumab plus trastuzumab and chemotherapy for HER2-positive metastatic gastric or gastro-oesophageal junction cancer (JACOB): final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2018; 19: 1372–1384.
20. Buzun K, Gornowicz A, Lesyk R, Bielawski K, Bielawska A. Autophagy Modulators in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(11): 5804.
21. Patel S, Hurez V, Nawrocki ST, Goros M, Michalek J, Sarantopoulos J, Curiel T, Mahalingam D. Vorinostat and hydroxychloroquine improve immunity and inhibit autophagy in metastatic colorectal cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(37): 59087-59097.

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

a) Współpraca z zagranicznymi i krajowymi ośrodkami badawczymi

- **Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Danylo Halytsky Lviv National Medical University**- współpraca w zakresie syntezy nowych pochodnych 2-tioksytiazolidyno-4-onu i badania ich wpływu na proces autofagii, czego wynikiem jest 1 wspólna publikacja naukowa
- **Wydział Chemii Brooklyn College The City University of New York** – współpraca w zakresie syntezy nanocząstek, czego wynikiem jest 1 rozprawa doktorska Pani Anny Czajkowskiej
- **Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Chemii Przemysłowej, Zakład Farmacji, Chemii Kosmetycznej i Biotechnologii w Warszawie** - współpraca w zakresie syntezy nowych pochodnych diizochinoliny. W wyniku współpracy powstały 3 wspólne publikacje naukowe
- **Zakład Chemii Organicznej, Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie**-współpraca w zakresie syntezy nowych pochodnych diizochinoliny. W wyniku współpracy powstały 4 wspólne publikacje naukowe
- **Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach** – współpraca w zakresie syntezy nowych sulfonamidowych pochodnych 1,2,4-triazyny. W wyniku współpracy powstały 2 wspólne publikacje naukowe
- **Zakład Medycyny Wieku Rozwojowego i Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku** – współpraca dotyczyła przeprowadzenia oznaczeń biochemicznych w ślinie niestymulowanej u nastolatków z chorobą próchnicową, czego wynikiem są 3 wspólne prace naukowe.
- **Zakład Dietetyki i Żywienia Klinicznego, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**-współpraca dotyczyła wykonania oznaczeń immunoenzymatycznych, czego wynikiem jest 1 wspólna publikacja naukowa

- **Zakład Farmakologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku** – współpraca dotyczyła wykonania oznaczeń immunoenzymatycznych
- **Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku** – współpraca dotyczyła oceny ekspresji genów zaangażowanych w apoptozę i autofagię, czego wynikiem są 2 streszczenia zjazdowe
- **Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**-współpraca dotyczyła oceny aktywności mikrobiologicznej nowych związków, czego wynikiem jest 1 wspólna publikacja naukowa
- **Zakład Chemii Leków, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku** – współpraca dotyczyła oceny ekspresji białek metodą bioimaging, czego wynikiem jest 1 wspólna publikacja naukowa
- **Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**- współpraca dotyczyła uzyskania ekstraktu z *Nigella sativa* i oceny jego składu, czego wynikiem jest 1 wspólna publikacja naukowa
- **Zakład Chemii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku**- współpraca w zakresie badań dotyczących mucyny 1 (MUC1), czego wynikiem jest 5 wspólnych publikacji naukowych
- **Zakład Syntezy i Technologii Środków Leczniczych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku** – współpraca w zakresie syntezy nowych związków o aktywności przeciwnowotworowej i oceny ich molekularnego mechanizmu działania w modelu *in vitro*, czego wynikiem jest 27 wspólnych publikacji naukowych
- **Katedra Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Laboratoryjnej** – współpraca w zakresie immunofarmakologii

ODBYTE STAŻE:

14.09.2009 - 31.05.2010

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie; Zakład
Immunologii i Patologii Rozrodu; staż
naukowy na stanowisku technologa

6.09.2021 – 17.09.2021

Katedra Farmakologii i Toksykologii,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział
Medycyny Laboratoryjnej; staż naukowy

VI. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę lub sztukę.

Od 2011 roku prowadzę ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu Biotechnologia Farmaceutyczna dla studentów IV roku Farmacji na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej. Na kierunku Kosmetologia II stopnia II roku od 2014 roku prowadzę ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu Biotechnologia Kosmetyków oraz fakultety „Biotechnologia w medycynie regeneracyjnej”. Od 2016 roku prowadzę również ćwiczenia specjalizacyjne dla studentów V roku Farmacji i II roku II stopnia Kosmetologii. W roku akademickim 2020/2021 prowadziłam zajęcia fakultatywne na międzynarodowych studiach doktoranckich. Po uzyskaniu stopnia doktora w 2015 roku pełniłam funkcję promotora jedenastu prac magisterskich na Farmacji i Kosmetologii.

Wykaz prac magisterskich, w których pełniłam rolę promotora:

1. Wpływ przeciwciała anti-MUC1 z berenilowym kompleksem platyny(II) na stężenie markerów apoptozy w fibroblastach skóry ludzkiej. Karolina Sawczuk. Farmacja.
2. Mucyna 1 jako cel molekularny przeciwciała anti-MUC1 w skojarzeniu z nową pochodną alkaloidów izochinolinowych w komórkach raka piersi MCF-7. Maciej Konrad Turlewicz. Farmacja.
3. Badania biologiczne oleju z nasion *Nigella sativa* na komórkach fibroblastów skóry ludzkiej. Alexandra Gniazdowska. Kosmetologia.
4. Ocena wpływu nowych pochodnych oktahydropirazynodiizochinoliny na wybrane aspekty programowanej śmierci komórek raka piersi MDA-MB-231. Ada Skalimowska. Farmacja.
5. Ocena wpływu komórek macierzystych *Citrus aurantium* na biosyntezę DNA w fibroblastach skóry ludzkiej. Karolina Lendzion. Kosmetologia.
6. Wpływ nowych pochodnych oktahydropirazynodiizochinoliny na proces przekazywania sygnałowego w komórkach raka żołądka AGS. Adrian Dryl. Farmacja.
7. Ocena wpływu nowej pochodnej diizochinoliny w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1 na proces przekazywania sygnałowego w komórkach raka żołądka AGS. Martyna Żelaźnicka. Farmacja.

8. Badanie stężenia metaloproteinaz i markerów stanu zapalnego po zastosowaniu przeciwciała anti-MUC1 i nowej pochodnej diizochinoliny w komórkach raka piersi MCF-7. Weronika Boguska. Farmacja.
9. Badanie przeciwnowotworowego mechanizmu działania etopozydu w skojarzeniu z trastuzumabem w komórkach raka żołądka AGS. Emilia Morozewicz. Farmacja.
10. Ocena skojarzonego działania trastuzumabu z nową pochodną 2-tioksytiazolidyno-4-onu na proliferację komórek raka żołądka AGS. Przemysław Pasik. Farmacja.
11. Wpływ komórek macierzystych *Centella asiatica* na biosyntezę kolagenu w fibroblastach skóry ludzkiej. Ewelina Brzostowska. Kosmetologia.

Pełniłam również funkcję recenzenta 19 prac magisterskich na Farmacji oraz Kosmetologii oraz promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Pani Anny Czajkowskiej zatytułowanym: „Ocena skojarzonego działania oleju z nasion czarnuszki siewnej *Nigella sativa* z nowym analogiem alkaloidów izochinolinowych na proces apoptozy w komórkach raka żołądka AGS”.

Obecnie jestem promotorem pomocniczym w przewodach doktorskich mgr farm. Wojciecha Szymanowskiego pt. „Mucyna 1 jako cel molekularny nowej pochodnej diizochinoliny w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1 w komórkach raka piersi MCF-7 i raka żołądka AGS” oraz dysertacji mgr Karoliny Lendzion „Wpływ oleju i ekstraktów z nasion *Scorzonera hispanica* na proliferację fibroblastów skóry ludzkiej”.

W lipcu 2014 roku oraz w lipcu 2018 sprawowałam opiekę naukową nad grupą studentów zagranicznych w ramach wymiany IFMSA. Objęłam także nadzorem praktyki studentek kierunku biotechnologia z Politechniki Gdańskiej oraz technologii chemicznej Politechniki Warszawskiej odbywające się w Samodzielnej Pracowni Biotechnologii. W latach 2011-2020 brałam aktywny udział w organizacji i prowadzeniu zajęć laboratoryjnych w ramach Podlaskiego Festiwalu Nauki i Sztuki.

Od 2015 roku jestem opiekunem studenckiego koła przy Zakładzie Biotechnologii. Wyniki badań, w których uczestniczyli studenci zostały zaprezentowane między innymi w postaci prezentacji plakatowej podczas IX Konwersatorium Chemii Medycznej w Lublinie w 2018 roku. Studenci prezentują również wyniki badań na Białystok International Medical Congress for Young Scientists. W 2018 roku Przewodnicząca Koła Naukowego przy Samodzielnej Pracowni Biotechnologii otrzymała nagrodę za zajęcie trzeciego miejsca podczas 13th Białystok International Medical Congress for Young Scientists.

Od 15.04.2019 roku wchodzę w skład zespołu hospitującego praktyki zawodowe na kierunku Kosmetologia I stopnia. Od 1.10.2020 roku zostałam powołana do grupy roboczej na kierunku Kosmetologia Wydziałowego Zespołu do Spraw Zapewnienia i Doskonalenia Jakości Kształcenia Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

W dniach 30.06-2.07.2021 roku prowadziłam warsztaty pt. „Immunoenzymatic evaluation of the anticancer activity of newly synthesized triazine derivatives” podczas międzynarodowej szkoły letniej „Dyskurs naukowy i nowoczesne technologie badawcze a sukces naukowy” realizowanej na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku w ramach projektu „Interdyscyplinarne, międzynarodowe studia doktoranckie w zakresie biologii medycznej i nauk farmaceutycznych na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku”.

VII. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych.

a) Dane bibliometryczne.

W latach 2011-2015 byłam uczestniczką studiów doktoranckich. Prowadziłam badania naukowe oraz zajęcia dydaktyczne w Samodzielnej Pracowni Biotechnologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Za swoje osiągnięcia naukowe byłam wielokrotnie wyróżniana stypendiami Jego Magnificencji Rektora UMB za wyniki w nauce. Byłam także stypendystą programu „Studiuje, badam, komercjalizuję – program wsparcia doktorantów UMB” - II edycja (jesień 2012) na rok akademicki 2012/2013, poddziałanie 8.2.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego oraz stypendystką Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW) w ramach realizowanego projektu naukowo-dydaktycznego.

W roku 2015, po obronie pracy doktorskiej, zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta w Samodzielnej Pracowni Biotechnologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Od 1 lipca 2018 zostałam przeniesiona na stanowisko adiunkta w Zakładzie Biotechnologii, gdzie pracuję do chwili obecnej.

Jestem autorką i współautorką 27 publikacji naukowych, w tym 20 prac oryginalnych, z których w 16 jestem pierwszym lub drugim autorem.

Ponadto, jestem współautorką 96 doniesień zjazdowych, w tym 71 krajowych i 25 zagranicznych opublikowanych w czasopiśmie lub materiałach zjazdowych.

Łączny dorobek naukowy wynosi:

- Sumaryczny Impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi **70.463**; łączna punktacja MEiN: **2140** pkt
- Liczba wszystkich cytowań publikacji według Web of Science Core Collection: **232**
- Liczba cytowań (bez autocytowań) publikacji według Web of Science Core Collection: **185**
- Liczba wszystkich cytowań publikacji według Web of Science All Databases: **237**
- Liczba wszystkich cytowań (bez autocytowań) publikacji według Web of Science All Databases: **190**
- Indeks Hirscha według Web of Science Core Collection: **8**
- Indeks Hirscha według Web of Science All Databases: **9**

b) Tematyka prac badawczych

Mój dorobek naukowy nie wchodzący w skład osiągnięcia dotyczy czterech głównych nurtów tematycznych:

1. Poszukiwania markerów choroby próchnicowej w ślinie niestymulowanej nastolatków
2. Skojarzonego działania przeciwciała monoklonalnego anti-MUC1 z berenilowymi kompleksami platyny(II) w komórkach raka piersi i fibroblastach skóry ludzkiej
3. Badania molekularnych mechanizmów działania nowych, potencjalnych leków przeciwnowotworowych
4. Poszukiwania markerów otyłości w ślinie niestymulowanej u kobiet.

Działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora

Mój dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora składał się z 7 prac doświadczalnych oraz 37 doniesień zjazdowych prezentowanych na konferencjach krajowych i zagranicznych. Łączny IF stanowiących dorobek przed uzyskaniem stopnia doktora wynosi 13,422 i 120 pkt MNiSW. Prace z tego okresu można pogrupować w dwa, poniżej zaprezentowane cykle tematyczne.

Ad. 1. Poszukiwanie markerów choroby próchnicowej w ślinie niestymulowanej nastolatków

Cykl ten obejmuje prace przedstawiające ocenę stężenia cytokin prozapalnych, mucyn, laktoperoksydazy, sIgA oraz histatyny-5 w ślinie niestymulowanej nastolatków z chorobą próchnicową.

W pierwszej pracy oceniliśmy stężenie cytokin prozapalnych: IL-6, IL-8 oraz TNF- α w ślinie niestymulowanej nastolatków z chorobą próchnicową oraz w grupie kontrolnej. Wskaźnik intensywności próchnicy (PUW) w grupie eksperymentalnej był większy niż 11,33, wskaźnik zapalenia dziąseł osiągnął wartość 0,3, natomiast wskaźnik płytki nazębnej wyniósł 0,53. Wykazaliśmy, że w przebiegu próchnicy u nastolatków dochodzi do istotnego wzrostu stężenia IL-6, IL-8 oraz TNF- α w ślinie niestymulowanej w porównaniu z grupą kontrolną.

W dalszym etapie badań ocenialiśmy stężenie sIgA, histatyny-5 oraz laktoperoksydazy w ślinie niestymulowanej nastolatków. sIgA to immunoglobulina, która pełni istotną rolę w zapobieganiu rozwojowi próchnicy poprzez inaktywację enzymów bakteryjnych i toksyn oraz oddziałuje synergistycznie z innymi czynnikami, które stanowią pierwszą linię obrony przed próchnicą, a mianowicie z lizozymem czy laktoferyną. Potwierdziliśmy wzrost stężenia sIgA w ślinie nastolatków z próchnicą. Histatyny wykazują głównie działanie przeciwgrzybicze, ale posiadają również właściwości przeciwbakteryjne. Odnotowaliśmy wzrost stężenia histatyny-5 w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Z kolei laktoperoksydaza pełni istotną rolę w ochronie białek obecnych w ślinie przed degradacją. W tym przypadku wykazaliśmy również podwyższone stężenie laktoperoksydazy w ślinie niestymulowanej u nastolatków z chorobą próchnicową. W naszych badaniach zasugerowaliśmy, że nastolatki z wysoką intensywnością próchnicy charakteryzują się podwyższonym stężeniem wielu czynników obecnych w ślinie wykazujących silne działanie bakteriobójcze czy bakteriostatyczne w rezultacie przyczyniając się do agregacji bakterii w jamie ustnej.

W trzeciej pracy przedstawiono wyniki dotyczące oceny stężenia mucyn: MUC1, MUC5B oraz MUC7 w ślinie nastolatków z chorobą próchnicową. W grupie nastolatków ze wskaźnikiem intensywności próchnicy > 11 wykazano istotny statystycznie wzrost poziomu MUC1 w porównaniu z grupą kontrolną z niskim wskaźnikiem intensywności próchnicy. Odnotowano nieistotny statystycznie wzrost stężenia MUC5B w grupie badanej, natomiast w przypadku MUC7 zaobserwowano nieznaczny spadek stężenia analizowanego białka. W badaniach wykazano związek między stężeniem MUC1 i MUC5B, a chorobą próchnicową.

Wyniki naszych badań zaprezentowane w przedstawionym cyklu prac potwierdziły, że wiele czynników jest zaangażowanych w patogenezę choroby próchnicowej u nastolatków i ważnym celem jest znalezienie markerów ułatwiających diagnostykę tej choroby.

Ad.2. Skojarzone działanie przeciwciała monoklonalnego anty-MUC1 z berenilowymi kompleksami platyny(II) w komórkach raka piersi i fibroblastach skóry ludzkiej

MUC1 została uznana przez National Cancer Institute jako jeden z najbardziej obiecujących celów molekularnych w terapii przeciwnowotworowej [107]. Jej nadmierną ekspresję wykazano w wielu nowotworach pochodzenia nabłonkowego, a w szczególności w raku piersi, co wiąże się ze złym rokowaniem. Mucyna 1 stanowi istotną przeszkodę sferyczną utrudniającą przenikanie leków, jak również może uczestniczyć w hamowaniu apoptozy w komórkach nowotworowych. Zablokowanie jej funkcji przez przeciwciała monoklonalne lub inhibitory drobnocząsteczkowe może wspomagać efekt terapeutyczny i przyczyniać się do zwiększonej wrażliwości komórek nowotworowych na działanie chemioterapeutyków. Skojarzone działanie przeciwciała monoklonalnego anty-MUC1 z nowymi związkami o właściwościach przeciwnowotworowych może przynieść lepszy efekt terapeutyczny niż monoterapia.

W Zakładzie Syntezy i Technologii Środków Leczniczych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku uzyskano na drodze syntezy chemicznej nowy dwurdzeniowy kompleks platyny(II) o wzorze $[Pt_2-4-etylopirydyna_4(berenil)_2]Cl_4$ (Pt12).

Celem badań była ocena cytotoksyczności, wpływu na proces biosyntezy DNA i kolagenu monoterapii oraz skojarzonego działania przeciwciała anty-MUC1 i kompleksów platyny: cisplatyny i berenilowego kompleksu platyny(II) - (Pt12). Badania przeprowadzono na komórkach raka piersi estrogenozależnych MCF-7 i estrogenoniezależnych MDA-MB-231 oraz fibroblastach skóry ludzkiej. Kluczowym elementem była ocena wpływu badanych związków zastosowanych w monoterapii jak również w skojarzeniu z przeciwciałem anty-MUC1 na molekularny mechanizm indukcji apoptozy w komórkach raka piersi. Porównano wpływ monoterapii oraz skojarzonego działania badanych związków na mitochondrialny potencjał błonowy i fragmentację DNA. Ponadto dokonano oceny wpływu badanych związków na stężenie wybranych markerów zewnątrz- jak i wewnątrzpochodnego szlaku apoptozy: proapoptotycznego białka Bax, kaspazy-8, kaspazy-9 oraz kaspazy-3 w komórkach MDA-MB-231.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że przeciwciało anti-MUC1 zastosowane z cisplatyną oraz z kompleksem platyny(II) - Pt12 wykazuje silniejsze działanie cytotoksyczne w porównaniu do monoterapii cisplatyną oraz związkiem Pt12 w komórkach raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231. Skojarzona terapia przeciwciałem anti-MUC1 ze związkiem Pt12 wykazuje silniejsze właściwości antyproliferacyjne oraz proapoptotyczne w porównaniu do skojarzonego działania przeciwciała anti-MUC1 i cisplatyny. Molekularny mechanizm działania przeciwnowotworowego przeciwciała anti-MUC1 i związku Pt12 związany jest z indukcją apoptozy w komórkach raka piersi. Udowodniliśmy, że w komórkach MDA-MB-231 aktywowane są oba szlaki apoptozy: zewnętrzny oraz mitochondrialny.

Związek Pt12 stosowany razem z przeciwciałem anti-MUC1 charakteryzuje się niską cytotoksycznością w stosunku do komórek prawidłowych skóry ludzkiej [115]. Stężenie proapoptotycznego białka Bax, kaspazy-3,-8,-9 jest niższe niż w próbie kontrolnej. Jedynie cisplatyna o stężeniu 20 μ M powoduje wzrost stężenia wszystkich badanych markerów apoptozy powyżej wartości kontrolnej, co potwierdza jej cytotoksyczne i antyproliferacyjne działanie na komórki prawidłowe.

Podsumowując w badaniach wykazano, że zastosowanie przeciwciała anti-MUC1 i kompleksów platyny(II) w terapii skojarzonej może stanowić nową strategię leczenia nowotworów ukierunkowaną na cel molekularny jakim jest mucyna 1.

Działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia doktora

Prace z tego okresu można pogrupować w dwa, poniżej zaprezentowane cykle tematyczne.

Ad.3. Molekularne mechanizmy działania nowych, potencjalnych leków przeciwnowotworowych

Wysoka śmiertelność pacjentów z rakiem żołądka wiąże się z niewystarczającą efektywnością chemioterapii, dlatego tak ważne jest poszukiwanie nowych, potencjalnych chemioterapeutyków i poznanie ich molekularnego mechanizmu działania w modelu *in vitro*. Niezwykle istotnym kierunkiem moich badań była ocena przeciwnowotworowego mechanizmu działania nowych pochodnych oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny w komórkach raka piersi oraz raka żołądka AGS. W tym badaniu oceniliśmy aktywność cytotoksyczną i antyproliferacyjną nowych pochodnych diizochinoliny (związki 1-7) w liniach

komórkowych raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231. Przeprowadzono test z Aneksyną V znakowaną FITC i oceniono wpływ badanych związków na obniżenie potencjału mitochondrialnego. W celu wyjaśnienia szczegółowego molekularnego mechanizmu indukcji apoptozy po 24 h inkubacji komórek raka piersi z badanymi związkami zmierzono aktywność kaspazy 3, 8, 9 i 10. Nasze badanie wykazały, że najbardziej aktywnymi związkami w obu analizowanych liniach komórkowych raka piersi były związki oznaczone jako 3 i 4. Zaobserwowaliśmy również, że wszystkie związki indukują apoptozę. Wykazaliśmy wyższą aktywność kaspaz 3, 8, 9 i 10, co potwierdziło, że indukcja apoptozy jest związana z zewnętrznym i wewnętrznym szlakiem programowanej śmierci komórek. Nasze badanie potwierdziło, że nowe związki w grupie pochodnych diizochinoliny są obiecującymi kandydatami w terapii przeciwnowotworowej.

W dalszym etapie badań, po wyselekcjonowaniu dwóch najaktywniejszych związków oznaczonych następnie jako 1 i 2 oceniono ich wpływ na przeżywalność, biosyntezę DNA, cykl komórkowy w porównaniu z etopozydem w komórkach raka żołądka AGS. Metodą elektroforetyczną zbadano czy analizowane związki są inhibitorami topoizomerazy II. Oceniono również wpływ badanych związków na indukcję apoptozy dwoma niezależnymi metodami: mikroskopią fluorescencyjną oraz cytometrią przepływową. Technika bioobrazowania oceniono ekspresję następujących białek: kaspazy-3, kaspazy-9, p53, AKT, ERK1/2 zaangażowanych w proces programowanej śmierci komórek i w przekazywanie sygnałowe. W pierwszym etapie doświadczeń udowodniliśmy, że nowe pochodne oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny w większym stopniu hamują przeżywalność i proliferację komórek raka żołądka w porównaniu ze związkiem referencyjnym etopozydem. Nowosyntetyzowane związki analogicznie jak związek referencyjny powodują zatrzymanie komórek w fazie G2/M i przyczyniają się do inhibicji topoizomerazy II w stężeniu 100 μ M. Analiza cytometryczna wykazała, że związek 2 w największym stopniu indukuje apoptozę, co skutkowało największym odsetkiem komórek wczesno- i późnoapoptotycznych. Indukcja programowanej śmierci komórek została potwierdzona za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej. W badaniach potwierdzono także, że nowe pochodne diizochinoliny aktywują inicjatorową kaspazę-9 oraz wykonawczą kaspazę-3, a apoptoza przebiega z udziałem białka p53, którego wzrost ekspresji odnotowano po 24h godzinnej inkubacji z badanymi związkami. Ponadto odnotowaliśmy spadek ekspresji kinaz: AKT i ERK1/2 w komórkach raka żołądka poddanych ekspozycji nowych pochodnych diizochinoliny oraz etopozydu. Efekt inhibicji ulegał nasileniu wraz ze wzrostem zastosowanych dawek.

Podsumowując nowe pochodne diizochinoliny, w szczególności związek 2 posiadają obiecujące działanie przeciwnowotworowe w komórkach raka żołądka AGS.

W kolejnej pracy sprawdziliśmy właściwości cytotoksyczne i proapoptotyczne nowej pochodnej diizochinoliny (OM-90) w skojarzeniu z ekstraktem lub olejem z czarnuszki siewnej (*Nigella sativa*) w porównaniu do monoterapii badanymi związkami oraz w odniesieniu do etopozyny zastosowanej wraz z ekstraktem lub olejem *N. sativa* w komórkach raka żołądka. Wykazaliśmy, że związek OM-90 zastosowany wspólnie z olejem lub ekstraktem wykazuje znacznie silniejszy efekt proapoptotyczny niż monoterapia. Odnotowano najwyższy odsetek komórek wczesno- i późnoapoptotycznych oraz największy spadek potencjału mitochondrialnego, co potwierdziło udział mitochondrium w procesie programowanej śmierci komórek.

Ad.4. Poszukiwania markerów otyłości w ślinie niestymulowanej u kobiet.

Rozszerzeniem wachlarza tematycznego moich zainteresowań były badania nad poszukiwaniem markerów otyłości w ślinie niestymulowanej kobiet ze wskaźnikiem BMI > 30 kg/m².

Otyłość jest chorobą wieloczynnikową i stanowi globalny oraz istotny problem zdrowotny. Celem pracy była ocena stężenia cytokin prozapalnych: czynnika martwicy nowotworu- α (TNF- α), interleukiny-8 (IL-8) i innych wybranych białek oraz enzymów takich jak sICAM1, kalprotektyna, metaloproteinaza-9 (MMP-9), metaloproteinaza-2 (MMP-2), (TLR2) wykrywalnych w ślinie kobiet.

W badaniu pilotażowym wzięło udział 10 kobiet z otyłością (BMI > 30 kg/m²) i 6 kobiet o prawidłowej masie ciała (grupa kontrolna). Poziomy TNF- α , IL-8, sICAM1, kalprotektyny, MMP-9, MMP-2 i TLR2 sprawdzono za pomocą techniki ELISA. Udowodniono, że kobiety z otyłością metaboliczną miały znacznie zwiększone stężenia IL-8, kalprotektyny i MMP-2 w porównaniu z grupą kontrolną. Zaobserwowano znaczące dodatnie korelacje BMI z TNF- α , IL-8 i MMP-2. Co ciekawe, stwierdziliśmy, że poziom insuliny dodatnio korelował ze stężeniem TNF- α , co dodatkowo potwierdzało otyłość metaboliczną.

c) Udział przy realizacji projektów badawczych

Kierownik 10 projektów badawczych:

- 2012: 124-29934F** Terapia skojarzona monoklonalnego przeciwciała MUC1 na cytotoksyczność kompleksów platyny(II) w hodowli komórek raka piersi
- 2013: 134-29504F** Wpływ nowych syntetycznych pochodnych alkaloidów izochinolinowych na ekspresję białek przekazywania sygnałowego w komórkach raka piersi MCF-7
- 2013-2015:
39/KNOW/2013** Ocena wpływu przeciwciała anty-MUC1 i berenilowego kompleksu platyny na proces apoptozy i przekazywania sygnałowego w komórkach raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231
- 2015: 154-29585F** Ocena skojarzonego działania przeciwciała przeciwciała MUC1 oraz kompleksu platyny(II) na szlaki przekazywania sygnałów regulujące HIF-1 w komórkach raka piersi MCF-7
- 2017:
2017/01/X/NZ7/01315
(N/NCN/MI/17/001/2229)
MINIATURA 1** Molekularny mechanizm przeciwnowotworowego działania nowych pochodnych oktahydropirazy[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny i berenilowych kompleksów platyny(II) w skojarzeniu z przeciwciałem anty-MUC1
- 2017:
N/ST/MN/17/001/2229** Mucyna 1 (MUC1) jako cel molekularny przeciwciała anty-MUC1 w skojarzeniu z nowymi pochodnymi alkaloidów izochinolinowych w komórkach raka piersi MCF-7.
- 2018:
N/ST/MN/18/001/2229** Badanie skojarzonego wpływu przeciwciała anty-MUC1 z etopozydem na wybrane aspekty programowanej śmierci komórek raka żołądka AGS.

- 2019:**
SUB/1/DN/19/001/2229 Molekularny mechanizm działania trastuzumabu w skojarzeniu z nową pochodną 2-tioksytiazolidyno-2-onu w komórkach nowotworowych z nadekspresją receptora HER2.
- 2020:**
SUB/2/DN/20/002/2229 Ocena wpływu nowej pochodnej 2-tioksytiazolidyno-4-onu z pertuzumabem na molekularny mechanizm indukcji apoptozy i autofagii w komórkach nowotworowych z nadekspresją receptora HER2
- 2021:**
SUB/2/DN/21/001/2229 Ocena stężenia metaloproteinaz i markerów stanu zapalnego po zastosowaniu przeciwciała anty-MUC1 i nowej pochodnej diizochinoliny w komórkach raka żołądka

Współwykonawca w 29 projektach badawczych:

- N/NCN/OP/13/001/2217** Synteza i własności przeciwnowotworowe pochodnych oktahydropirazyno[2,1-a:5,4a']diizochinoliny.
 Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2013: 133-17576F** Indukcja mitochondrialnego szlaku apoptozy w komórkach nowotworowych raka piersi przez nowe berenilowe pochodne platyny(II). Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2013: 133-17575F** Znaczenie czynnika transkrypcyjnego NF-κB w hamowaniu apoptozy wywołanej berenilowymi pochodnymi platyny(II). Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2013: 133-29583** Skojarzona terapia echistatyny z cisplatyną na hamowanie wzrostu komórek raka piersi MDA-MB-231.
 Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2014: 143-17805F** Wybrane aspekty apoptozy i proliferacji komórkowej wywołanej przez berenilowe kompleksy platyny w komórkach raka piersi. Kierownik: dr Robert Czarnomysy

- 2015: 153-17565F** Synteza i właściwości przeciwnowotworowe pirazolowych kompleksów platyny. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2015: 153-17566F** Znaczenie pro- i antyapoptotycznych białek w indukcji śmierci komórkowej wywołanej przez berenilowe kompleksy platyny(II) w komórkach raka piersi. Kierownik: dr Robert Czarnomysy
- 2015: 153-29586F** Ocena skojarzonego działania przeciwciała przeciwko MUC1 oraz kompleksu platyny(II) - Pt12 w fibroblastach skóry ludzkiej. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2015: 153-29587F** Ocena wpływu przeciwciała anti-MUC1 i kompleksu platyny(II) na ekspresję HIF-1 α oraz białka p53 w estrogenozależnych komórkach raka piersi MCF-7. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2016: N/ST/ZB/16/001/2217** Ocena cytotoksycznego działania oleju i ekstraktu z nasion *Nigella sativa* (czarnuszki siewnej) na ludzkie komórki nowotworowe w hodowli *in vitro*. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2016: N/ST/ZB/16/002/2217** Mechanizm indukcji apoptozy w komórkach raka piersi wywołany przez związki tetrahydroizochinolinowe. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2016: N/ST/ZB/16/003/2217** Poszukiwanie potencjalnego mechanizmu przeciwnowotworowego działania N-podstawionych pirazolowych kompleksów platyny(II). Kierownik: dr Robert Czarnomysy
- N/ST/ZB/16/001/2229** Ocena wpływu nowego berenilowego kompleksu platyny(II) wraz z przeciwciałem anti-MUC1 na stężenie wybranych markerów apoptozy w komórkach raka piersi MCF-7. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- N/ST/ZB/16/002/2229** Ocena skojarzonego działania nowego berenilowego kompleksu platyny(II) w połączeniu z przeciwciałem

- anty-MUC1 na stężenie markerów apoptozy w fibroblastach skóry ludzkiej. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2016: N/ST/ZB/16/003/2217** Poszukiwanie potencjalnego mechanizmu przeciwnowotworowego działania N-podstawionych pirazolowych kompleksów platyny(II). Kierownik: dr Robert Czarnomysy
- 2017: N/ST/ZB/17/001/2229** Badanie wpływu przeciwciała anti-MUC1 i nowych pochodnych alkaloidów izochinolinowych na molekularny mechanizm przekazywania sygnałowego w komórkach raka piersi MDA-MB-231. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2017: N/ST/ZB/17/002/2229** Ocena wpływu przeciwciała anti-MUC1 i nowych pochodnych alkaloidów izochinolinowych na molekularny mechanizm indukcji apoptozy w komórkach raka piersi MDA-MB-231. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2017: N/ST/ZB/17/001/2217** Poszukiwanie związków o właściwościach przeciwnowotworowych w grupie pochodnych alkaloidów izochinolinowych. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2017: N/ST/ZB/17/002/2217** Badanie molekularnego mechanizmu działania pochodnych oktahydropirazyno[2,1-a:5,4-a']diizochinoliny o właściwościach przeciwnowotworowych w komórkach raka żołądka CRL1739. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2018: N/ST/ZB/18/001/2229** Ocena wpływu przeciwciała monoklonalnego anti-MUC1 w skojarzeniu z etopozydem na proliferację ludzkich komórek raka żołądka AGS. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2018: N/ST/ZB/18/002/2229** Mucyna 1 jako potencjalnie nowy cel molekularny przeciwciała anti-MUC1 w skojarzeniu z nową

- pochodną diizochinoliny w ludzkich komórkach raka żołądka AGS. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2018: N/ST/ZB/18/002/2217** Poszukiwanie związków o właściwościach przeciwnowotworowych w grupie pochodnych spiroaminoketonów. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2018: N/ST/ZB/18/003/2217** Ocena wpływu dendrymerów PAMAM drugiej i trzeciej generacji na procesy apoptozy w komórkach fibroblastów ludzkich. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2019: SUB/2/DN/19/001/2229** HER2 jako cel molekularny pertuzumabu i nowych pochodnych 2-tioksytiazolidyno-2-onu w wybranych komórkach nowotworowych. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2019: SUB/2/DN/19/001/2217** Ocena wpływu nowych pochodnych 2-tioksytiazolidyno-2-onu na ekspresję topoizomerazy II w komórkach nowotworowych raka piersi. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2020: SUB/2/DN/20/001/2229** Badania wpływu wybranych ekstraktów z roślinnych komórek macierzystych na fibroblasty skóry ludzkiej. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2020: SUB/2/DN/20/001/2217** Aktywność przeciwnowotworowa kompleksów supramolekularnych kukurbit[n-uryli] i aminowych pochodnych platyny. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski
- 2021: SUB/2/DN/21/002/2229** Badanie molekularnego mechanizmu skojarzonego działania przeciwnowotworowego etopozytu wraz z pertuzumabem w ludzkich komórkach raka żołądka AGS. Kierownik: prof. dr hab. Anna Bielawska
- 2021: SUB/2/DN/21/001/2217** Ocena wpływu nowych aromatycznych enonów na proces apoptozy w komórkach nowotworowych raka piersi. Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Bielawski

ODBYTE KURSY I SZKOLENIA:

30-31.05.2012	Kurs pt. „Immunodetekcja białek” organizowany przez Blirt S.A. dział DNA Gdańsk w ramach projektu „Wyższa jakość kształcenia kluczem do rozwoju Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku”
24-26.06.2013	Szkolenie realizowane w ramach projektu pt. „Studiuję, badam, komercjalizuję- program wsparcia doktorantów UMB” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego
19.11.2013-29.03.2014	Szkolenie pt. „Zaszczep w sobie przedsiębiorczość” realizowane w ramach projektu: „UMB na ścieżce innowacyjnego rozwoju” współfinansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju
9.05.2017	Szkolenie w zakresie obsługi i użytkowania chromatografu flash CombiFlash EZ Prep
14.02.2018	Seminarium pt. „ Practical approaches of multicolor and high sample throughput flow cytometry analysis using Bio-Rad solutions”
2.11.2020	Szkolenie e-learningowe pt. „ Korupcja w administracji publicznej

d) Działalność ekspercka:

- Pełniłam funkcję recenzenta manuskryptów opublikowanych w wielu prestiżowych czasopismach takich jak:
International Journal of Molecular Sciences, Cancers, Molecules, Marine Drugs, Journal of Clinical Medicine, Processes, Biomolecules – 15 recenzji

Experimental and Therapeutic Medicine – 7 recenzji
 Oncology Letters – 5 recenzji
 Oncology Reports – 3 recenzje
 Molecular Medicine Reports – 3 recenzje
 Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research – 3 recenzje
 Molecular and Clinical Oncology – 1 recenzja
 International Journal of Oncology – 1 recenzja
 International Journal of Molecular Medicine – 1 recenzja
 International Journal of Functional Nutrition – 1 recenzja
 Bioorganic & Medicinal Chemistry – 1 recenzja
 International Journal of Nanomedicine – 1 recenzja
 Cancer Management and Research – 1 recenzja
 Breast Cancer: Targets and Therapy – 1 recenzja

- Jestem także członkiem zespołu recenzenckiego (Reviewer Board) w czasopiśmie International Journal of Molecular Sciences (IF=5,924).

e) Stypendia, nagrody, wyróżnienia

- 2012** Nagroda Rektora UMB za osiągnięcia naukowe; Stypendium naukowe realizowane w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki finansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego pt: „Studiuje, badam, komercjalizuję - program wsparcia doktorantów UMB” w latach 2012-2013
- 2013-2015** Stypendium naukowe w ramach realizacji projektu 39/KNOW/2013
- 2014** Naukowa nagroda Rektora UMB za osiągnięcia naukowe; III miejsce za najlepszy poster na VI Konwersatorium Chemii Medycznej w Lublinie w dniach 18-20.09.2014 roku
- 2015** Nagroda Rektora UMB I stopnia za osiągnięcia naukowe
- 2017** Nagroda Rektora UMB I stopnia za osiągnięcia naukowe; Nagroda Rektora UMB III stopnia za uzyskanie w roku 2017 finansowania projektu MINIATURA 1 pt. "Molekularny mechanizm przeciwnowotworowego działania nowych pochodnych oktahydropirazyno[2,1-

a:5,4a']diizochinoliny i berenilowych kompleksów platyny(II) w skojarzeniu z przeciwciałem anti-MUC1”.

2018 Nagroda Rektora UMB II stopnia za osiągnięcia naukowe

2020 Nagroda Rektora UMB II stopnia za osiągnięcia naukowe

f) Aktywny udział w prestiżowych konferencjach krajowych

W trakcie swojej pracy naukowej wygłosiłam 7 referatów na konferencjach naukowych.

Korzekwa A., Bah M. M., Groblewska A., Skarzyński D. J. (2010 r.) „*Leukotrieny: profil syntezy, lokalizacja i koncentracja w błonie śluzowej macicy podczas cyklu rujowego; modulacja funkcji wydzielniczych układu rozrodczego krwi pod wpływem leukotrienów*” – referat na Sympozjum sprawozdawczym w ramach Konsorcjum Biocentrum Animpol (Kraków, Polska)

Gornowicz Agnieszka, Bielawska Anna, Popławska Bożena, Bielawski Krzysztof. (2012 r.) „*Combined therapy of monoclonal antibody against MUC-1 and berenil complexes of platinum(II) in breast cancer cell line MCF-7*” – referat na V Konwersatorium Chemii Medycznej (Lublin, Polska)

Gornowicz Agnieszka, Bielawska Anna, Bielawski Krzysztof, Maciorkowska Elżbieta, Wójcicka Anna. (2012 r.) „*Pro-inflammatory cytokines in saliva of adolescents with dental caries disease. = Cytokiny prozapalne w ślinie młodzieży z chorobą próchnicową.*” - referat na 7th Białystok International Medical Congress for Young Scientists (Białystok, Polska)

Gornowicz Agnieszka, Gabryel-Porowska Halina, Bielawski Krzysztof, Popławska Bożena, Bielawska Anna. (2013 r.) *Skojarzone działanie przeciwciała przeciwko MUC1 oraz kompleksu platyny (II) na komórki raka piersi MCF-7.*” – referat na XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja - Nauka - Społeczeństwo" (Białystok, Polska)

Gornowicz Agnieszka, Bielawska Anna, Gabryel-Porowska Halina, Popławska Bożena, Bielawski Krzysztof. (2013 r.) „*Wpływ przeciwciała monoklonalnego przeciwko MUC 1 na cytotoksyczność kompleksu platyny (II) w komórkach raka piersi MDA-MB-231*” – referat na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowo-Szkoleniowej Doktorantów Uczelni Medycznych (Warszawa, Polska)

Gornowicz Agnieszka, Czarnomysy Robert, Bielawska Anna, Popławska Bożena, Bielawski Krzysztof. (2014 r.) „*The molecular mechanism of apoptosis by novel dinuclear platinum (II) complex with anti-MUC1 in estrogen negative MDA-MB-231 breast cancer cells.*” - referat na VI Konwersatorium Chemii Medycznej (Lublin, Polska)

Gornowicz Agnieszka (2018 r.) „*Przeciwciała monoklonalne w leczeniu nowotworów u seniorów.*” – wykład na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Studenckiej Sekcji Polskiego Towarzystwa Farmakologicznego "Postępy farmakoterapii personalizowanej seniorów" (Białystok, Polska)

Gornowicz Agnieszka

(podpis wnioskodawcy)