



AUTOREFERAT

Dr Małgorzata Łysek-Gładysińska

**Zakład Biologii Medycznej
Instytut Biologii
Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych
Uniwersytet Jana Kochanowskiego
w Kielcach**

2025

ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

e-mail: [REDACTED]

tel. [REDACTED]

Spis treści

1	Imię i nazwisko.....	3
2	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.	3
3	Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych	4
4	Omówienie osiągnięć naukowych, 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 póź.zm.).	5
4.1	Tytuł osiągnięcia naukowego	5
4.2	Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego	5
4.3	Wstęp	8
4.4	Cel naukowy badań	9
4.4.1	Wprowadzenie do tematyki badań.....	11
4.5.	Omówienie pierwszego osiągnięcia wchodzącego w skład cyklu habilitacyjnego	13
4.6	Omówienie drugiego osiągnięcia wchodzącego w skład cyklu habilitacyjnego	22
4.7	Podsumowanie.....	25
4.8	Przyszłe cele naukowe.....	26
4.9	Literatura	27
5	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	31
6	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	42
6.1	Uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych.....	42
6.2.	Osiągnięcia dydaktyczne	42
6.3	Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki	43
6.4.	Wykłady na seminariach naukowym w kraju i zagranicą	44
6.5	Osiągnięcia organizacyjne	44
7.	Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.....	45
7.1	Udział w projektach badawczych	45
7.2	Pozostałe aktywności naukowe	47
7.3	Kursy i szkolenia	49
7.4	Członkostwa i pełnione funkcje.....	50
7.5	Nagrody i wyróżnienia	50

1 Imię i nazwisko

Małgorzata Łysek-Gładysińska

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

Tytuł magistra biologii

Temat pracy: „Wpływ różnych dawek taksolu na zmiany ultrastrukturalne w hepatocytach myszy”

Promotor: dr Teodora Król

Recenzent: prof. dr hab. Adam Kołataj

Data nadania: 23.06.1997 r.

Wyższa Szkoła Pedagogiczna im. Jana Kochanowskiego w Kielcach, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Instytut Biologii

Stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia

Temat pracy: „Wpływ dehydroepiandrosteronu i melatoniny na zmiany biochemiczne i morfologiczne w wątrobie myszy”

Promotor: prof. dr hab. Adam Kołataj

Recenzenci: prof. zw. dr hab. Henryk Lach i prof. dr hab. Krystyna Pierzchała-Koziec

Data nadania: 16.06.2004 r.

Akademia Pedagogiczna im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

Dyplom ukończenia studiów podyplomowych „Menadżer komercjalizacji i transferu wiedzy”

Temat pracy: „Alkaloidy izochinolinowe jako potencjalne leki w terapii onkologicznej”

Wydział Zarządzania i Administracji, Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy w Kielcach, 2009 r.

3 Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

01.10.1997 - 29.02.1998, Asystent w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej, Instytutu Biologii, Wyższej Szkoły Pedagogicznej im. Jana Kochanowskiego w Kielcach.

05.01.1998 - 30.10.2002, Młodszy asystent w Laboratorium Wód Powierzchniowych i Ścieków Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Kielcach.

01.11.2002 - 30.09.2004, Specjalista biolog w Zakładzie Biologii Medycznej, Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach (do 2018 r. funkcjonujący pod nazwą Zakładu Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej).

01.10.2004, Adiunkt do chwili obecnej w Zakładzie Biologii Medycznej, Instytutu Biologii, Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

- 4 Omówienie osiągnięć naukowych, 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 póź.zm.).

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl powiązanych tematycznie 6 artykułów naukowych opublikowanych w latach 2018 – 2024 w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR).

4.1 Tytuł osiągnięcia naukowego

Zmiany mikroskopowo-ultrastrukturalne i biochemiczne w wątrobie wywołane czynnikami fizycznymi i chemicznymi analizowane w doświadczalnym modelu myszy

4.2 Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

P1. **Lysek-Gładysinska M***, Wieczorek A, Walaszczyk A, Jelonek K, Jozwik A, Pietrowska M, Dörr W, Gabrys D, Widlak P. Long-term effects of low-dose mouse liver irradiation involve ultrastructural and biochemical changes in hepatocytes that depend on lipid metabolism. *Radiat Environ Biophys.* 2018 May;57(2):123-132. doi: 10.1007/s00411-018-0734-9.

IF₂₀₁₈: 1,267; MNiSW: 25 (10 cytowań)

Mój wkład w powstanie tego artykułu polegał na stworzeniu koncepcji pracy, technicznym przygotowaniu materiału badawczego, archiwizacji próbek oraz ich ocenie ultrastrukturalnej i histologicznej, zbieraniu i przeglądzie literatury, interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu tekstu manuskryptu, redakcji manuskryptu i zapewnieniu spójności całej pracy, korespondencji z redakcją czasopisma wraz z odpowiedziami na recenzje.

P2. Wieczorek A, **Lysek-Gładysinska M**, Walaszczyk A, Jelonek K, Smolarz M, Pietrowska M, Gabrys D, Kulik R, Widlak P. Changes in activity and structure of lysosomes from liver of mouse irradiated in vivo. *Int J Radiat Biol.* 2018 May;94(5):443-453. doi: 10.1080/09553002.2018.1451005.

IF₂₀₁₈: 2,266; MNiSW: 35 (5 cytowań)

Mój wkład w powstanie tego artykułu polegał na stworzeniu koncepcji pracy, technicznym przygotowaniu materiału badawczego, zbieraniu próbek oraz ich ocenie ultrastrukturalnej i histologicznej, przeglądzie literatury, przygotowaniu wniosków badawczych i tekstu manuskryptu, zapewnieniu integralności całego badania.

P3. Łysek-Gładysińska M*, Wieczorek A, Walaszczyk A, Jelonek K, Pietrowska M, Widłak P, Kulik R, Gabrys D. Late effects of ionizing radiation on the ultrastructure of hepatocytes and activity of lysosomal enzymes in mouse liver irradiated in vivo. *Metabolites*. 2024 Apr 9;14(4):212. doi: 10.3390/metabo14040212

IF₂₀₂₄:3,7; MNiSW: 100 (1 cytowanie)

Mój wkład w powstanie tego artykułu polegał na stworzeniu koncepcji pracy technicznym przygotowaniu materiału badawczego, archiwizacji próbek oraz ich ocenie ultrastrukturalnej i histologicznej, wykonaniu i analizie badań biochemicznych, zbieraniu i przeglądzie literatury, interpretacji uzyskanych wyników badań, redakcji manuskryptu, zapewnieniu spójności całego badania, korespondencji z redakcją czasopisma wraz z odpowiedziami na recenzje.

P4. Łysek-Gładysińska M*, Wieczorek A, Józwik A, Walaszczyk A, Jelonek K, Szczukiewicz-Markowska G, Horbańczuk OK, Pietrowska M, Widłak P, Gabrys D. Aging-related changes in the ultrastructure of hepatocytes and cardiomyocytes of elderly mice are enhanced in ApoE-deficient animals. *Cells*. 2021 Feb 26;10(3):502. doi: 10.3390/cells10030502.

IF₂₀₂₁: 7,666; MEiN: 140 (15 cytowań)

Mój wkład w powstanie tego artykułu polegał na stworzeniu koncepcji pracy, technicznym przygotowaniu materiału badawczego, archiwizacji próbek oraz ich ocenie ultrastrukturalnej i histologicznej, wykonaniu i analizie badań biochemicznych, zbieraniu i przeglądzie literatury, interpretacji uzyskanych wyników badań, redakcji manuskryptu, zapewnieniu spójności całego badania, pozyskaniu funduszy na publikację (grant specjalny Rektora UJK), korespondencji z redakcją czasopisma wraz z odpowiedziami na recenzje.

P5. Wieczorek A, Łysek-Gładysińska M, Krol T, Kordos K, Kosińska K, Atanasov AG, Strzalkowska N, Jozwik A. Biochemical and morphological changes in mouse

liver induced by mistletoe toxins. Food Chem Toxicol. 2019 Jul;129:229-238. doi: 10.1016/j.fct.2019.04.044.

IF₂₀₁₉: 4,679; MNiSW: 100 (2 cytowania)

Mój wkład w powstanie tego artykułu polegał na stworzeniu koncepcji pracy, technicznym przygotowaniu materiału badawczego, wykonaniu analiz ultrastrukturalnych i histologicznych, opracowaniu i dyskusji wyników, przygotowaniu wniosków końcowych i edytowaniu tekstu manuskryptu.

P6. Tewari D, Jóźwik A, **Łysek-Gładysińska M**, Grzybek W, Adamus-Białek W, Bicki J, Strzałkowska N, Kamińska A, Horbańczuk OK, Atanasov AG. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Seeds dietary supplementation regulates liver antioxidant defense systems in aging mice. Nutrients. 2020 Aug 24;12(9):2552. doi: 10.3390/nu12092552.

IF₂₀₂₀: 5,719; MNiSW: 140 (35 cytowań)

Mój wkład w powstanie tego artykułu polegał na współudziale w określeniu celów badawczych i zaplanowaniu badań, wykonaniu analiz biochemicznych, opracowaniu wyników, edytowaniu tekstu manuskryptu.

*Autor korespondencyjny

Łączny współczynnik oddziaływania IF (*Impact Factor*) publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego zgodnie z rokiem ich opublikowania: **IF= 25,297**

Suma punktów MNiSW/MEiN zgodnie z rokiem opublikowania: **540 pkt**

Suma cytowań publikacji wg. **Web of SciencesTM: 322 (bez autocytowań 303)**

Indeks Hirscha: **11**

dane wg serwisu **Web of SciencesTM**, październik 2025.

Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład w powstanie wskazanych publikacji naukowych znajdują się w Załączniku 7.

4.3 Wstęp

Wątroba odpowiada za regulację gospodarki energetycznej organizmu oraz odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy wewnątrzustrojowej. Jest to wielofunkcyjny narząd o hierarchicznej budowie, złożony z licznych zrazików wątrobowych, które działają jako funkcjonalne jednostki tkanki. Spośród wszystkich komórek tworzących tkankę wątroby, hepatocyty stanowią około 80% i są odpowiedzialne za metabolizm węglowodanów, syntezę białek, detoksykację ksenobiotyków, a także uczestniczą w procesie wydzielania żółci (1). Wątroba jest uważana za narząd, który utrzymuje swoją funkcję homeostatyczną dzięki podwójnemu krążeniu krwi, obfitym rezerwom i zdolnościom regeneracyjnym, również w stanach chorobowych wywołanych przez miażdżycę, cukrzycę i nadciśnienie tętnicze. Wykazano wielokrotnie, że niedokrwienie oraz niewydolność serca mogą negatywnie wpływać na funkcjonowanie wątroby (2). Wzrost ciśnienia krwi żyłnej spowodowany niewydolnością serca może prowadzić do atrofii hepatocytów i obrzęku okołozatokowego, co upośledza dyfuzję tlenu i składników odżywczych do komórki. W efekcie dochodzi do przekrwienia wątroby, łagodnej żółtaczk i nieprawidłowości w parametrach enzymów wątrobowych (3,4).

Ze względu na położenie anatomiczne i pełnione funkcje wątroba często jest narażona na działanie różnych zewnętrznych czynników pochodzenia chemicznego czy fizycznego. Mogą one działać na wątrobę jednorazowo lub wielokrotnie prowadząc do zmian o charakterze ostrym lub przewlekłym, upośledzając równocześnie wszystkie lub wybiórczo tylko niektóre z jej funkcji. Przewlekłe uszkodzenie wątroby może prowadzić do zmian poziomu enzymów wątrobowych, parametrów osocza krwi czy zmian martwiczo-zapalnych widocznych w obrazie histologicznym tkanki. Zostaje zaburzona homeostaza wewnątrzkomórkowa efektem czego dochodzi do zmian w ultrastrukturze hepatocytów widocznych dopiero na poziomie transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM).

Działające czynniki mają wpływ na zachodzące w komórkach i tkankach liczne procesy metaboliczne, których przebieg zależy od szybkości syntezy i degradacji podstawowych związków energetycznych. Procesy te są w dużej mierze regulowane przez hydrolazy lizosomalne, takie jak fosfatazy, proteazy, glikozydazy, aminopeptydazy i inne, które degradują materiał pochodzenia wewnątrzkomórkowego i pozakomórkowego np. uszkodzone organelle i agregaty białkowe, w procesach

zależnych od ATP (5,6). Układ lizosomalny jest bardzo dynamiczną, wysoce reaktywną strukturą, która odgrywa ważną rolę w adaptacyjnych reakcjach komórek w odpowiedzi na szeroki zakres czynników stresowych, poprzez przywracanie wewnątrzkomórkowej homeostazy biochemicznej (7). Zmiany w układzie lizosomalnym są szeroko stosowane do monitorowania wpływu różnych czynników na fizjologię komórki i jako wskaźniki jej uszkodzenia (8,9). W trakcie autofagii lizosomalnej uszkodzone organella zostają otoczone błoną tworząc autofagosom, który następnie ulega fuzji z lizosomem tworząc autofagolizosom w którym dochodzi do rozkładu między innymi białek, węglowodanów, lipidów. Autofagia lizosomalna jest aktywna na poziomie podstawowym w większości zdrowych, prawidłowych komórek, ale może być również silnie indukowana przez różne czynniki fizyczne czy chemiczne i stanowić ważne źródło energetyczne dla komórki w stanach zaburzenia jej homeostazy (10,11).

Zrozumienie mechanizmów odpowiedzi komórek na działanie czynników stresowych, takich jak promieniowanie jonizujące, zmiany towarzyszące starzeniu organizmu czy ekspozycja na związki chemiczne pochodzenia roślinnego, ma istotne znaczenie zarówno poznawcze, jak i aplikacyjne. Czynniki te mogą bowiem modulować aktywność układu lizosomalnego, prowadząc do aktywacji lub zahamowania procesów degradacji wewnątrzkomórkowej, co w konsekwencji wpływa na równowagę między procesami adaptacyjnymi a destrukcyjnymi w komórce.

Badania w tym zakresie pozwalają lepiej zrozumieć mechanizmy odpowiedzi tkanek prawidłowych na stres komórkowy, co może przyczynić się do optymalizacji strategii radioterapii, ograniczenia skutków ubocznych leczenia onkologicznego, a także do oceny potencjału ochronnego lub toksycznego substancji pochodzenia naturalnego.

4.4 Cel naukowy badań

W swoim osiągnięciu naukowym skupiłam się na tematyce związanej z dwoma głównymi zagadnieniami dotyczącymi:

- 1) Wczesnych i późnych efektów oddziaływania promieniowania jonizującego na zmiany morfologiczne i biochemiczne w tkance wątrobowej, ze szczególnym uwzględnieniem ultrastruktury młodych i starzejących się, zróżnicowanych genetycznie hepatocytów myszy (P1-P4).**

2) Efektów oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na zmiany biochemiczno-morfologiczne w wątrobie myszy (P5, P6).

Celem pierwszego zagadnienia włączonego do osiągnięcia naukowego było wykazanie zmian popromiennych w wątrobie myszy po napromienianiu obszaru serca.

Cel ten został zrealizowany poprzez:

- 1) Ocenę późnych zmian histologicznych i ultrastrukturalnych oraz zmian aktywności hydrolaz lizosomalnych w wątrobie a także parametrów biochemicznych osocza krwi u myszy zróżnicowanych genetycznie, przeprowadzoną 60 tygodni po radioterapii konwencjonalnej z zastosowaniem promieniowania X o napięciu 200 kV, generowanym w urządzeniu YXLON MG325.
- 2) Analizę aktywności hydrolaz lizosomalnych we frakcji lizosomalnej i pozalizosomalnej, oznaczenie poziomów białek LC3-II i p62 związanych z autofagią lizosomalną, a także ocenę zmian histologicznych i ultrastrukturalnych w wątrobie myszy C57Bl/6J, przeprowadzoną kilka godzin po napromienianiu jednorazową dawką 8 Gy z zastosowaniem promieniowania X o wysokiej energii (6 MeV) generowanego w przyśpieszaczu liniowym Clinac 2300.
- 3) Ocenę późnych zmian histologicznych, ultrastrukturalnych i biochemicznych, obejmujących aktywność hydrolaz lizosomalnych w wątrobie myszy C57BL/6J, przeprowadzoną 40 tygodni po ekspozycji na niskie, umiarkowane i wysokie dawki (0,2Gy, 2Gy, 8Gy i 16 Gy) promieniowania X o wysokiej energii (6 MeV) generowanym w przyśpieszaczu liniowym Clinac 2300.
- 4) Ocenę zmian histologicznych, ultrastrukturalnych oraz parametrów biochemicznych w wątrobie starzejących się myszy, w korelacji ze zmianami zachodzącymi w sercu.

Ponieważ związki naturalne często charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną, a niekiedy toksycznością, celem drugiego zagadnienia wchodzącego w skład cyklu habilitacyjnego było zbadanie oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na zmiany zachodzące w wątrobie myszy.

Cel ten został zrealizowany poprzez:

- 1) Ocenę permeabilizacji błony lizosomalnej (LMP) na podstawie relokacji enzymów z frakcji lizosomalnej do cytozolowej oraz ocenę zmian histologicznych i ultrastrukturalnych w wątrobie myszy po iniekcji Iscadoru P.

- 2) Ocenę aktywności enzymów układu obrony antyoksydacyjnej w wątrobie myszy po suplementacji paszy nasionami kozieradki (*Trigonella foenum-graecum* L.).

4.4.1 Wprowadzenie do tematyki badań

Realizacja pierwszego zagadnienia była możliwa dzięki odbyciu staży naukowych (w latach 2012 i 2013) w Centrum Onkologii w Gliwicach (obecnie Narodowy Instytut Onkologii) oraz udziałowi projektach badawczych takich jak: 7 Program Ramowy Europejskiej Wspólnoty Energii Atomowej w ramach umowy o dotację nr 211403 (CARDIORISK) oraz w ramach grantu MNiSW (N 402 6856 40) (zał.4). Mój udział w badaniach zaowocował współpracą, której efektem są cztery publikacje (prace **P1-P4**) stanowiące część cyklu habilitacyjnego. Zespół badawczy z którym współpracowałam, zajmował się analizą uszkodzeń komórek i tkanek indukowanych przez promieniowanie jonizujące w sercu myszy.

Głównym celem moich badań było pogłębienie wiedzy na temat wpływu napromieniania obszaru serca na zmiany histologiczne, ultrastrukturalne oraz biochemiczne w wątrobie myszy. Do badań tych wykorzystałam myszy pochodzące ze Zwierzętarń Technische Universität w Dreźnie (praca **P1**) oraz Zwierzętarń Doświadczalnej Narodowego Instytutu Onkologii w Gliwicach (prace **P2, P3, P4**).

Wybrany modelem badawczym były myszy Apo E^{-/-} z usuniętymi allelami genu apolipoproteiny E, u których rozwijają się liczne zaburzenia, w tym miażdżyca, choroba niedokrwienna serca i mózgu oraz niektóre nowotwory. Z tego względu są one powszechnie stosowanym modelem w badaniach nad miażdżycą. Drugą grupę stanowiły myszy szczepu C57BL/6J, u których nie występuje taka mutacja a które charakteryzują się prawidłowym metabolizmem lipidowym. Wykorzystanie tych dwóch szczepów myszy umożliwiło ocenę zmian w zależności od predyspozycji genetycznych.

Drugie zagadnienie wchodzące w skład mojego cyklu habilitacyjnego dotyczyło efektów oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego (ekstraktów roślinnych) na wątrobę myszy. Realizacja tego zagadnienia była możliwa dzięki odbyciu kolejnych staży naukowych w Instytucie Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu (ówczesny Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN), co umożliwiło przygotowanie kolejnych dwóch publikacji (**P5, P6**) włączonych do cyklu habilitacyjnego.

W tych badaniach modelem doświadczalnym były myszy typu Swiss, popularny szczep myszy laboratoryjnych, charakteryzujący się wysoką płodnością i uniwersalnością w zastosowaniach badawczych, które pochodziły ze Zwierzętarń Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu .

Wszystkie badania przeprowadzono po uzyskaniu zgody właściwych Komisji Bioetycznych.

Materiały i metody

W pracach (**P1–P5**) do oceny histologicznej i ultrastrukturalnej wykorzystałam fragmenty wątroby zatopionej w żywicy epoksydowej, która po spolimeryzowaniu charakteryzuje się dużą twardością i spoistością. Umożliwiło to przygotowanie sekcji półcienkich (o grubości 0,5–1 μm), pozwalających na uzyskanie obrazu rozległych obszarów tkanki i ocenę zmian histologicznych w wątrobie myszy przy użyciu mikroskopii świetlnej. Natomiast sekcje ultracienkie (o grubości 40–60 nm) analizowałam w wysokorozdzielczym transmisyjnym mikroskopie elektronowym w celu uzyskania niezwykle wartościowych danych dotyczących zmian ultrastrukturalnych organelli komórkowych w hepatocytach myszy, których nie można pozyskać innymi technikami mikroskopowymi. Obrazowanie z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej przeprowadziłam w publikacjach (**P1–P5**) wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego.

Uzupełnieniem oceny histologicznej i ultrastrukturalnej były badania biochemiczne, obejmujące pomiar aktywności modelowo wybranych enzymów lizosomalnych, reprezentatywnych dla funkcji lizosomów (prace **P1 - P5**).

W celu oceny czynności wątroby oznaczono w osoczu krwi parametry biochemiczne takie jak aminotransferaza alaninowa (ALT), aminotransferaza asparaginianowa (AST), γ -glutamylotransferaza (GGT), lipaza, cholesterol frakcji lipoprotein o dużej gęstości (HDL), cholesterol frakcji lipoprotein o małej gęstości (LDL), cholesterol całkowity i trójglicerydy (TG) (prace **P1 i P4**).

W publikacji (**P6**) oznaczono w wątrobie endogenne antyoksydanty, takie jak dysmutaza nadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa GPx, reduktaza glutationowa (GR), które metabolizują toksyczne produkty pośrednie i chronią przed uszkodzeniami indukowanymi przez reaktywne formy tlenu (ROS). Ponadto oceniono aktywność wymiatania wolnych rodników oceniając stężenie witaminy C i zdolność redukcji DPPH, zawartość fenoli całkowitych oraz poziom malonodialdehydu (MDA).

4.5. Omówienie pierwszego osiągnięcia wchodzącego w skład cyklu habilitacyjnego

Wczesne i późne efekty oddziaływania promieniowania jonizującego na zmiany morfologiczne i biochemiczne w tkance wątrobowej, z uwzględnieniem ultrastruktury hepatocytów myszy młodych i starzejących się, zróżnicowanych genetycznie (prace **P1-P4**)

P1. Lysek-Gładysinska M, Wieczorek A, Walaszczyk A, Jelonek K, Jozwik A, Pietrowska M, Dörr W, Gabrys D, Widlak P. Long-term effects of low-dose mouse liver irradiation involve ultrastructural and biochemical changes in hepatocytes that depend on lipid metabolism. *Radiat Environ Biophys.* 2018 May;57(2):123-132. doi: 10.1007/s00411-018-0734-9

Podwyższone ryzyko chorób serca jest opóźnionym skutkiem ubocznym radioterapii raka piersi (12). Ekspozycja serca na niskie i średnie dawki promieniowania jonizującego powoduje niewielki, ale statystycznie istotny wzrost ryzyka chorób sercowo-naczyniowych często prowadzący do zgonu (13,14). Zaburzenia rytmu serca, niedokrwienie, zapalenie mięśnia sercowego i zapalenie osierdzia, a czasem nawet ostra niewydolność serca występująca po radioterapii, mogą również negatywnie wpływać na funkcjonowanie innych narządów, w tym wątroby (2). W związku z tym coraz większą uwagę poświęca się długoterminowym skutkom miejscowej ekspozycji serca na promieniowanie w kontekście narządów, które nie były bezpośrednio napromieniane, ale mogły zostać dotknięte wywołaną promieniowaniem dysfunkcją układu sercowo-naczyniowego.

Praca (**P1**) wchodząca w skład cyklu habilitacyjnego koncentruje się na ocenie późnych zmian popromiennych w wątrobie myszy podczas ukierunkowanego napromieniowania serca. Wątroba i serce są anatomicznie i fizjologicznie połączone za pośrednictwem układu naczyniowego, dlatego istotne jest badanie złożonych interakcji sercowo-wątrobowych, zwłaszcza wtedy, gdy jeden z narządów narażony jest na działanie promieniowania jonizującego.

W przeprowadzonych badaniach oceniałam oddziaływanie pojedynczej dawki promieniowania jonizującego (2 i 8 Gy) podanej w obrębie serca. Do badań wykorzystywałam myszy, które były napromieniane w Technische Universität promieniowaniem X, używając aparatu YXLON MG325, działającego przy napięciu 200 kV i natężeniu prądu lampy 20 mA i z filtrem wiązki 0,6 cm Cu, co dawało moc

dawki 0,8 Gy/min. Taki sposób napromieniania serca powodował jednoczesną, niewielką ekspozycję wątroby na dawki nieprzekraczające odpowiednio 30 i 120 mGy. Oceeniłam zmiany morfologiczno - ultrastrukturalne i biochemiczne w tkance wątrobowej myszy z niedoborem apolipoproteiny E i prawidłowym poziomem ApoE^{-/-} po 60-ciu tygodniach od radioterapii.

Uszkodzenia tkanek wywołane promieniowaniem jonizującym aktywują procesy zapalne, nie tylko miejscowe, ale również systemowe, które skutkują zwiększoną rotacją komórek blaszki miażdżycowej i stresem oksydacyjnym (15). Efekty te mogą sprzyjać tworzeniu się kropelek lipidowych poprzez wytwarzanie reaktywnych form tlenu (RFT), które utleniają lipidy już obecne w wątrobie i promują powstawanie innych RFT (12,16).

W badaniu morfologicznym tkanki wątrobowej wykazałam u myszy ApoE^{-/-} istotny wzrost złogów lipidowych, których liczba rosła wraz ze wzrostem mocy dawki. Ze względu na obecność dużych ilości kropelek lipidowych, hepatocyty myszy z niedoborem ApoE są bardziej podatne na procesy oksydacyjne, które mogą być dodatkowo nasilone z powodu innych konsekwencji wynikających z napromieniowania serca. Utlenianie lipidów sprzyja obniżeniu stabilności błon komórkowych i dalszemu wytwarzaniu RFT, co powoduje zablokowanie lizosomalnej autofagii niezbędnej do utrzymania homeostazy komórkowej (9,17–19). Ponadto, w hepatocytach u obu szczepów myszy, wykazałam wzrost liczby lizosomów pierwotnych, wakuoli autofagowych zawierających uszkodzone mitochondria w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi nienapromieniowanymi.

Analiza poziomu kilku enzymów wątrobowych w osoczu myszy wykazała zwiększoną aktywność ALT, AST, GGT i lipazy we krwi co potwierdza uszkodzenie wątroby (20,21). Warto zauważyć, że poziomy tych markerów uszkodzenia wątroby były obniżone w osoczu myszy z prawidłową ekspresją ApoE, co najwyraźniej odzwierciedla wyższą odporność hepatocytów na zmiany wywołane promieniowaniem (efekt ten przypuszczalnie związany jest z autofagią cytoprotekcyjną aktywowaną u tych zwierząt). Z drugiej strony, w osoczu napromieniowanych myszy ApoE^{-/-} stwierdzono podwyższony poziom lipazy wątrobowej, potwierdzający akumulację lipidów i uszkodzenie hepatocytów wywołane promieniowaniem.

Stwierdziłam istotne zmiany morfologiczno-ultrastrukturalne u myszy ApoE^{-/-} natomiast zmiany w aktywności hydrolaz lizosomalnych związane z

promieniowaniem wystąpiły jedynie u zwierząt z prawidłowym poziomem ApoE, co koreluje z obrazem zmian ultrastrukturalnych i sugeruje sprawniej zachodzące procesy degradacji lizosomalnej u tych myszy.

Podsumowując powyższe badania, należy podkreślić, że po raz pierwszy wykazałam występowanie tego typu zmian strukturalnych i funkcjonalnych w hepatocytach myszy, związanych z ogólnoustrojowym uszkodzeniem wywołanym przez niskie i umiarkowane dawki promieniowania X dostarczane do serca.

Co więcej, uzyskane dane wskazują na istotną rolę metabolizmu lipidów w wątrobie badanych zwierząt. Wykazałam istnienie funkcjonalnej interakcji między różnymi aspektami uszkodzenia hepatocytów u myszy z niedoborem apolipoproteiny E (ApoE^{-/-}) po napromieniowaniu serca, w tym stwierdzonej akumulacji uszkodzonych mitochondriów, gromadzeniu lipidów oraz zmianach w aktywności enzymów lizosomalnych, które wskazują na zahamowanie autofagii lizosomalnej. Ponadto uzyskane wyniki badań potwierdzają istnienie związku między uszkodzeniem serca wywołanym promieniowaniem, a funkcjami wątroby, co ma istotne znaczenie dla zapewnienia bezpiecznej i skutecznej radioterapii.

P2. Wieczorek A, Lysek-Gładysinska M, Walaszczyk A, Jelonek K, Smolarz M, Pietrowska M, Gabrys D, Kulik R, Widlak P. Changes in activity and structure of lysosomes from liver of mouse irradiated in vivo. Int J Radiat Biol. 2018 May;94(5):443-453. doi: 10.1080/09553002.2018.1451005.

Radiobiolodzy nieustannie starają się zlokalizować początkowe uszkodzenia spowodowane promieniowaniem jonizującym w organizmach żywych. Chociaż badania koncentrują się głównie na uszkodzeniach DNA i mechanizmach jego naprawy, liczne badania pokazują, że również inne struktury komórkowe biorą czynny udział w mechanizmie uszkodzenia komórek po napromieniowaniu (22).

Promieniowanie jonizujące generuje reaktywne formy tlenu (RFT), które są główną przyczyną uszkodzeń lizosomów, w tym labializacji ich błon i uwalniania enzymów lizosomalnych, co może prowadzić do poważnego uszkodzenia komórek, a nawet śmierci (11,23,24). Powstające zmiany strukturalne i funkcjonalne w komórkach obejmują uszkodzenie błony komórkowej, jądra komórkowego, mitochondriów, aparatu Golgiego, siateczki śródplazmatycznej, peroksysomów, czy lizosomów (25).

Celem drugiej publikacji był wykazanie efektów napromieniania serca różnymi dawkami na bardzo wczesne zmiany w obrębie wątroby. W pracy (**P2**)

zbadalam kilkugodzinny efekt oddziaływania promieniowania jonizującego na aktywności enzymów lizosomalnych oraz zmiany morfologiczne w hepatocytach myszy C57Bl/6J. Napromieniano obszar całego serca dawką jednorazową 8 Gy z wykorzystaniem promieniowania X o wysokiej energii (6 MeV), generowanym na przyspieszacz liniowym Clinac 2300. Dawkę promieniowania niecelowo dostarczoną do wątroby oszacowano na podstawie planu leczenia opartego na tomografii komputerowej i zgodnie z tą oceną średnia dawka dostarczona do całej wątroby wynosiła 4,9 Gy. Dodatkowo określono, że 50% objętości wątroby otrzymało dawkę 4 Gy i wyższą, podczas gdy 10–15% objętości wątroby napromieniowano dawkami poniżej 1 Gy i tą część wątroby pobrano do analiz 12, 36 i 120 godzin po radioterapii.

Zbadano aktywności wybranych enzymów lizosomalnych w pozyskanej frakcji lizosomalnej i pozalizosomalnej, oznaczono poziomy białek LC3-II i p62 związanych z autofagią lizosomalną oraz oceniono zmiany histologiczno - ultrastrukturalne w wątrobie myszy.

Lizosomy są organellami, które odgrywają kluczową rolę w reakcjach adaptacyjnych komórek na czynniki stresowe, takie jak promieniowanie jonizujące stosowane w radioterapii onkologicznej i nieonkologicznej (10,26). W związku z tym w niniejszym badaniu skoncentrowałam się głównie na ocenie permeabilizacji błony lizosomalnej (LPM) analizując relokację enzymów z frakcji lizosomalnej do pozalizosomalnej frakcji tkanki wątrobowej. Wykazałam obecność wszystkich analizowanych enzymów we frakcji pozalizosomalnej, co wskazuje na wzrost przepuszczalności błony lizosomalnej i ich potencjalny wyciek do cytozolu.

Również mitochondria są jednym z głównych „pozajądrowych” celów promieniowania jonizującego, a zmiany w ich strukturze i funkcji obserwuje się w napromieniowanych komórkach. Promieniowanie jonizujące powoduje dysfunkcję mitochondriów poprzez zmianę aktywności kompleksów łańcucha transportu elektronów, wzrost przepuszczalności błony mitochondrialnej i zwiększonej produkcji wolnych rodników (RFT) (27).

Wykazałam, że już po kilkunastu godzinach (12 h) od napromieniowania serca w hepatocytach myszy nastąpił wzrost liczby małych, nieuszkodzonych mitochondriów, prawdopodobnie powstałych w wyniku ich podziałów. W kolejnych godzinach po napromieniowaniu (36h i 120h) doszło do zwiększenia liczby obrzękniętych mitochondriów z przerwaną błoną oraz obniżenia całkowitej ich liczby w przeliczeniu

na komórkę w porównaniu do kontroli. Zmiany te mogą być efektem eliminacji uszkodzonych mitochondriów i stanowić mechanizm cytoprotekcyjny. W obrazie ultrastrukturalnym stwierdziłam zwiększoną liczbę autofagosomów zawierających uszkodzone mitochondria, jednak bez cech nasilonej degradacji lizosomalnej. Również analiza poziomu markerowych białek autofagowych (LC3-II i p62) nie potwierdziła zwiększonej aktywności autofagii, co koreluje z obrazem zmian ultrastrukturalnych badanych hepatocytów.

Na uzyskane wyniki badań mogły wpływać czynniki związane z dużą heterogennością rzeczywistej dawki oraz tzw. „efektem sąsiedztwa” (*bystander effect*), indukowanym przez sygnały emitowane przez komórki wątroby bezpośrednio napromieniowane wyższymi dawkami (do 5 Gy). Nie bez znaczenia mogły mieć również efekty systemowe pochodzące bezpośrednio z napromieniowanego serca.

Uzyskane wyniki stanowią nowy i istotny wkład w rozwój biologii radiacyjnej, ponieważ jednoznacznie udokumentowały zmiany lizosomów oraz w procesach autofagii w odpowiedzi komórkowej na promieniowanie jonizujące in vivo. Osiągnięcie to poszerza wiedzę na temat mechanizmów radiowrażliwości i adaptacji komórek do działania niskich dawek promieniowania, a także stanowi podstawę do dalszych badań nad procesami ochronnymi i naprawczymi w organizmach poddanych ekspozycji radiacyjnej.

P3. Łysek-Gładysińska M, Wieczorek A, Walaszczyk A, Jelonek K, Pietrowska M, Widłak P, Kulik R, Gabryś D. Late effects of ionizing radiation on the ultrastructure of hepatocytes and activity of lysosomal enzymes in mouse liver irradiated in vivo. *Metabolites*. 2024 Apr 9;14(4):212. doi: 10.3390/metabo14040212

Po radioterapii mogą wystąpić powikłania wczesne, pojawiające się w okresie do 3 miesięcy, które najczęściej są przemijające oraz późne, które bardzo często są trwałe i rzadko odwracalne, za te ostatnie uznaje się zmiany występujące po 3 miesiącach od radioterapii. Powikłania późne stanowią największy problem ograniczający stosowanie radioterapii w leczeniu onkologicznym.

W związku z tym w kolejnej pracy (**P3**) zajęłam się oceną późnych zmian indukowanych w wątrobie po napromienianiu obszaru serca niskimi, umiarkowanymi jak i wysokimi dawkami (0,2Gy, 2Gy, 8Gy i 16 Gy). Szacunkowe dawki promieniowania dostarczone do analizowanej tkanki wątrobowej myszy wynosiły odpowiednio 0,025Gy, 0,25Gy, 1Gy i 2Gy. Przeprowadziłam badania histologiczne,

ultrastrukturalne i biochemiczne obejmujące zmiany aktywności enzymów lizosomalnych w tkance wątrobowej myszy C57BL/6J. Tkanki analizowano 40 tygodni po napromieniowaniu z wykorzystaniem promieniowania fotonowego 6MeV na przyspieszaczu liniowym Clinac 2300.

Analiza biochemiczna wykazała istotny wzrost aktywności hydrolaz lizosomalnych, zwłaszcza katepsyny D i L, jedynie po średniej dawce 2 Gy dostarczonej do dystalnej części wątroby (przy zastosowanej dawce 16 Gy na obszar serca). Ocena histologiczna sekcji półcienkich tkanki wątrobowej myszy nie wykazała znamiennych zmian. Jednak analiza ultrastrukturalna hepatocytów wykazała późne skutki działania promieniowania jonizującego w postaci zwiększonej liczby lizosomów pierwotnych i wakuoli autofagowych, uszkodzonych mitochondriów szczególnie w tkankach napromieniowanych dawkami 0.25 Gy i wyższymi. Etiologia tych zmian może być wieloczynnikowa i może wynikać m.in. z niezamierzonego napromieniowania dystalnej części wątroby lub z funkcjonalnej interakcji wątroby z napromieniowanym sercem. Wyniki badań wykazały indukcje uszkodzeń w ultrastrukturze hepatocytów oraz zmiany parametrów biochemicznych wywołanych działaniem promieniowania jonizującego, które wskazują na adaptacyjną odpowiedź komórkową na miejscowe napromieniowanie serca a częściowo i wątroby. Biorąc pod uwagę silne powiązanie funkcjonalne między wątrobą a układem sercowo-naczyniowym, należy uwzględnić wpływ uszkodzenia serca bezpośrednio wystawionego na wysokie dawki promieniowania (od 0,2 Gy do 16 Gy) na zmiany obserwowane w wątrobie. W dłuższych okresach występowanie zmian może odzwierciedlać funkcjonowanie całej wątroby i fakt, że duża jej część była wystawiona na wyższe dawki promieniowania.

Przeprowadzona analiza ultrastruktury hepatocytów w transmisyjnym mikroskopie elektronowym dostarczyła szczegółowych informacji o zmianach w poszczególnych organellach komórkowych, co w połączeniu z analizą aktywności enzymów lizosomalnych pozwoliło uzyskać pełniejszy obrazu patologicznych zmian komórkowych.

Istotnym osiągnięciem naukowym było wykazanie późnych zmian ultrastrukturalnych i biochemicznych w hepatocytach myszy po napromieniowaniu in vivo. Stwierdzono, że promieniowanie X indukuje zależne od dawki uszkodzenia organelli komórkowych oraz zmiany w aktywności enzymów lizosomalnych, odzwierciedlające procesy przystosowawcze zachodzące w obrębie wątroby.

Na obserwowane zmiany mogły również wpływać pośrednie efekty uszkodzenia serca, które jest funkcjonalnie powiązanego z wątrobą. Uzyskane wyniki dostarczyły nowych informacji o mechanizmach odpowiedzi adaptacyjnej tkanek na promieniowanie jonizujące in vivo i stanowią istotny wkład w rozwój biologii radiacyjnej.

P.4 Łysek-Gładysińska M, Wieczorek A, Jóźwik A, Walaszczyk A, Jelonek K, Szczukiewicz-Markowska G, Horbańczuk OK, Pietrowska M, Widłak P, Gabryś D. Aging-Related Changes in the Ultrastructure of Hepatocytes and Cardiomyocytes of Elderly Mice Are Enhanced in ApoE-Deficient Animals. *Cells*. 2021 Feb 26;10(3):502. doi: 10.3390/cells10030502.

Nie tylko czynniki zewnętrzne, takie jak opisane powyżej promieniowanie, ale również sam proces starzenia wpływa na zmiany w tkankach. Charakteryzuje się on postępującą utratą homeostazy na poziomie komórkowym, tkankowym i całego organizmu, co prowadzi do zmniejszonej zdolności reagowania na stres, spadku funkcjonalności oraz zwiększonego ryzyka zachorowalności i śmiertelności (28).

Na poziomie komórkowym nasilone wraz z wiekiem procesy oksydacyjne prowadzą do uszkodzeń m.in. mitochondriów, lizosomów, peroksosomów, siateczki śródplazmatycznej, przyczyniając się do obniżenia funkcjonalności różnych szlaków katabolicznych (29–31). Akumulacja uszkodzonych makrocząsteczek i organelli jest jedną z istotnych zmian morfologicznych występujących w starzejących się komórkach (32).

Procesy starzenia są przyspieszane przez palenie papierosów, spożywanie w nadmiarze alkohol, światło ultrafioletowe i inne czynniki środowiskowe. Ponadto otyłość, miażdżyca i dyslipidemia powodują szereg zmian w wątrobie i predysponują do dysfunkcji tego narządu. Starzenie biologiczne wiąże się z różnymi zmianami morfologicznymi i funkcjonalnymi, jednak mechanizmy tych zjawisk pozostają niejasne w wielu tkankach i narządach (33).

Ponadto wszelkie nieprawidłowości zachodzące wraz z wiekiem w wątrobie znajdują odzwierciedlenie również w pracy serca, co podkreśla związek funkcjonalny między tymi narządami (34). Uszkodzenie wątroby znane jako „hepatopatia sercowa”, jest powszechną cechą różnych zaburzeń hemodynamicznych i może być związane z ostrą lub przewlekłą niewydolnością serca (35).

Starzenie się komórek nie jest definiowane przez pojedynczy marker, lecz charakteryzuje się kombinacją wielu wskaźników, takich jak ekspresja inhibitorów cyklu komórkowego, wzrost aktywności lizosomalnej β -galaktozydazy oraz zmiany morfologiczne, obejmujące m.in. powiększenie rozmiarów hepatocytów, zwiększenie liczby komórek poliploidalnych czy zmniejszenie liczby mitochondriów u starzejących się myszy (36).

Myszy są cenionym modelem badawczym, ponieważ ze względu na anatomiczne i fizjologiczne podobieństwo do człowieka rozwijają wiele podobnych jednostek chorobowych o zbliżonym podłożu genetycznym. Dostarczają one cennych informacji o mechanizmach zmian biologicznych na poziomie komórkowym i tkankowym. Podobieństwo struktury genów i białek myszy oraz ludzi jest na tyle wysokie, że poznanie funkcjonowania genów i białek myszy w dużym stopniu umożliwia zrozumienie podłoża chorób u człowieka (37,38). Szybki metabolizm tych zwierząt pozwala na obserwację oraz analizę wywołanych zmian chorobowych w krótkim czasie.

Chcąc ocenić zmiany zachodzące w tkance wątrobowej u starzejących się myszy w zależności od uwarunkowań genetycznych, ponownie wybrałam dwa szczepy: 17-miesięczne myszy o fenotypie dzikiego typu (C57BL/6J) oraz myszy z nokautem genu apolipoproteiny E ($ApoE^{-/-}$). Następnie przeanalizowałam zmiany histologiczne, ultrastrukturalne oraz biochemiczne w wątrobie, odnosząc je do obserwowanych zmian w sercu.

Wykazałam w badaniu histologicznym wzrost liczby kropli lipidowych w tkance wątrobowej starszych (17-miesięcznych) myszy z niedoborem apolipoproteiny E, co potwierdza zaburzony metabolizm lipidowy. Nie stwierdzono natomiast innych istotnych zmian morfologicznych. Badania ultrastrukturalne wykazały wzrost ilości uszkodzonych mitochondriów u starszych myszy obu szczepów, jednak zmiany związane ze starzeniem były bardziej istotne u myszy $ApoE^{-/-}$. Ponadto w hepatocytach tych myszy stwierdzono inkluzje lipidowe w jądrach komórkowych, a w cytoplazmie krople lipidowe i tzw. „pigment starczy” lipofuscyne. Gromadzenie się uszkodzonych makrocząsteczek i organelli jest jedną z najbardziej dotkliwych zmian w starzejących się komórkach i wiąże się ze obniżeniem aktywności różnych szlaków katabolicznych w tym procesów degradacyjnych z udziałem lizosomów (7,39). Przeprowadzona analiza ultrastrukturalna wykazała zahamowanie procesów autofagowych w starzejących się hepatocytach. Nie wykazano wzrostu liczby wakuoli

autofagowych i lizosomów wtórnych potwierdzających wzrost degradacji lizosomalnej. Stwierdzono natomiast wzrost liczby lizosomów pierwotnych, obecność dobrze rozwiniętego szorstkiego retikulum endoplazmatycznego w pobliżu mitochondriów, co może wskazywać na prawidłowo zachodzącą syntezę białka w hepatocytach.

Ponadto wykazano wzrost aktywności lizosomalnej β -galaktozydazy, będącej biochemicznym markerem starzenia bez istotnych różnic między równowiekowymi myszami dzikiego typu i z nokautem genu *ApoE*. Natomiast ocenione biomarkery osocza wykazały wzrost poziomu cholesterolu i HDL u starszych myszy z niedoborem ApoE, co korelowało z obecnością komórek piankowatych w tkance serca u tych zwierząt. Ta obserwacja potwierdza, że brak apolipoproteiny E prowadzi do wzrostu VLDL (lipoprotein o bardzo niskiej gęstości) i pozostałości chylomikronów w osoczu oraz wzrostu tworzenia się komórek piankowatych w naczyniach prowadząc w konsekwencji do miażdżycy. Wzrost całkowitego cholesterolu i trójglicerydów, przekształcenie profilu lipoprotein, zmniejszenie syntezy i liczby receptorów ApoE, zmniejszenie aktywności enzymów lipolitycznych i intensywności utleniania kwasów tłuszczowych to znane główne zmiany w metabolizmie lipidów u myszy *ApoE*^{-/-} (37,40).

Uzyskane wyniki badań wskazują, że fenotyp myszy *ApoE* z hipercholesterolemią charakteryzuje się bardziej nasilonym starzeniem tkanki wątrobowej w porównaniu do myszy szczepu dzikiego. Wyniki te stanowią istotny wkład w poznanie mechanizmów starzenia się wątroby oraz zaburzeń metabolicznych wynikających z niedoboru apolipoproteiny E. Przyczyniają się również do lepszego zrozumienia współzależności między procesami starzenia, funkcją lizosomów, metabolizmem lipidów i uszkodzeniem mitochondriów, co pogłębia wiedzę na temat patologii metabolicznych w starzejącej się wątrobie myszy.

4.6 Omówienie drugiego osiągnięcia wchodzącego w skład cyklu habilitacyjnego

Efekty oddziaływania substancji chemicznych pochodzenia roślinnego na zmiany biochemiczno-morfologiczne w wątrobie myszy (P5, P6).

P5. Wieczorek A, **Lysek-Gladysinska M**, Krol T, Kordos K, Kosińska K, Atanasov AG, Strzalkowska N, Jozwik A. Biochemical and morphological changes in mouse liver induced by mistletoe toxins. Food Chem Toxicol. 2019 Jul;129:229-238. doi: 10.1016/j.fct.2019.04.044

Związki naturalne często charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną, a czasami również toksycznością. Ponieważ wątroba stanowi główny narząd zaangażowany w metabolizm ksenobiotyków, jest często celem działania różnych toksyn w tym związków, które są przekształcane w toksyczne metabolity w wyniku lokalnej konwersji.

Iscador P jest standaryzowanym preparatem pozyskanym z jemioli (*Viscum album L.*) rosnącej na sośnie (*Pinus silvestris*). Preparat ten zawiera szereg substancji o potencjalnej aktywności farmakodynamicznej, w tym wiskotoksyny (w wysokim stężeniu), wiskuminy (w śladowych ilościach) i inne biologicznie czynne związki takie jak związki alkaloidopodobne (tyramina, fenyloetyloamina, cholina i acetylocholina), liczne flawonoidy (kwercetyna), fenylopropanoidy (kwas kawowy, kwas ferulowy i kwas synapinowy), białka i peptydy o większej gęstości (np. wiskumamid), aminokwasy, kilka enzymów, fitosterole (β -sitosterol, stigmasterol i ich odpowiednie glikozydy), triterpeny (β -amyryna, octan β -amyryny, kwas betulinowy, kwas oleanolowy, kwas ursolowy), mono-, oligo- i polisacharydy (metyloester 1 $\rightarrow$ α 4 kwas galakturonowy, ramnogalakturonany), polialkohole (1D-1-O-metylo-muko-inozytol, mannitol, kebrachitol, pinitol i wiskumitol) oraz minerały. Wszystkie te składniki mogą przyczyniać się do właściwości farmakodynamicznych ekstraktu, jednak rola poszczególnych związków nie została dotychczas w pełni poznana (41).

Iscador P jest stosowany w terapii onkologicznej głównie w leczeniu nowotworów skóry w tym czerniaka. Wątroba jest jednym z najczęstszych miejsc przerzutów, stanowiąc 25% wszystkich przerzutów do narządów mięsaszowych (42,43). W kolejnej pracy oceniono wpływ pojedynczej iniekcji Iscadoru® P na procesy degradacji lizosomalnej w komórkach wątrobowych myszy, 24 i 48 godzin po ekspozycji in vivo na dawki 0,1 mg, 1 mg oraz 2 mg/kg m.c. Nasz protokół badania

opierał się na schematach leczenia stosowanych u pacjentów onkologicznych i był dostosowany do masy ciała myszy.

Prawidłowe funkcjonowanie organizmu opiera się na utrzymaniu homeostazy białkowej, czyli zachowaniu równowagi pomiędzy procesami syntezy i degradacji białek. Przemiany białek muszą być pod stałą i ścisłą kontrolą m.in. lizosomalnego systemu degradacyjnego, który uczestniczy w większości prawidłowych procesów fizjologicznych oraz jest powiązany z wieloma stanami patologicznymi. System ten odgrywa istotną rolę w reakcjach adaptacyjnych komórek w odpowiedzi na szeroki zakres czynników stresowych, umożliwiając przywrócenia homeostazy biochemicznej (44), (45). Systemy degradacyjne są szeroko wykorzystywane do monitorowania wpływu różnych czynników na komórki i stanowią ważne wskaźniki ich uszkodzenia.

W kolejnym badaniu oceniałam permeabilizację błony lizosomalnej (LMP) na podstawie relokacji enzymów z frakcji lizosomalnej do cytozolowej w wątrobie myszy. Wykazałam, że Iscador P powoduje obniżenie aktywności wszystkich hydrolaz lizosomalnych (oprócz katepsyn) w osadzie lizosomalnych, a także wzrost aktywności aminopeptydaz i β -D-glukuronidazy w cytozolu. Jednakże, pomimo membranotropowych właściwości wiskotoksyn, nie stwierdzono istotnego efektu labilizującego na błony lizosomalne. Jedynie aktywność β -D-glukuronidazy została przeniesiona do supernatantu frakcji lizosomalnej. Badania ultrastrukturalne hepatocytów wykazały powiększenie mitochondrów i wzrost ich ilości oraz zmniejszenie ilości kanałów szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. Wykazano obszary cytoplazmy wolne od organelli, co wydaje się być morfologicznym wskaźnikiem toksyczności ekstraktu z jemioli.

Istotnym osiągnięciem przeprowadzonych badań było wykazanie nowego spektrum działania Iscadoru P (ekstraktu z jemioli sosnowej) obejmującego zaburzenia wewnątrzkomórkowych procesów degradacji lizosomalnej. Uzyskane wyniki po raz pierwszy potwierdziły, że mimo obecności w preparacie wiskotoksyn o właściwościach membranotropowych, Iscador P nie powoduje istotnej labilizacji błon lizosomalnych, lecz prowadzi do modulacji aktywności enzymów lizosomalnych. Natomiast badania ultrastrukturalne wykazały istotne zmiany w organellach komórkowych komórek wątrobowych, stanowiące morfologiczny wskaźnik toksycznego działania ekstraktu z jemioli. Uzyskane wyniki mają istotne znaczenie poznawcze, gdyż poszerzają wiedzę o mechanizmach oddziaływania preparatów z jemioli na poziomie komórkowym. Wskazują one, że działanie to może być związane

zarówno z hamowaniem syntezy białek przez wiskotoksyny, jako i z udziałem innych składników ekstraktu. Osiągnięcie to wnosi istotny wkład w toksykologiczną ocenę bezpieczeństwa biologicznie czynnych ekstraktów roślinnych stosowanych w terapii wspomagającej. Stanowi również punkt wyjścia do dalszych badań nad mechanizmami ich działania w kontekście ochrony i funkcji wątroby.

P6. Tewari D, Jóźwik A, **Łysek-Gładysińska M**, Grzybek W, Adamus-Białek W, Bicki J, Strzałkowska N, Kamińska A, Horbańczuk OK, Atanasov AG. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Seeds dietary supplementation regulates liver antioxidant defense systems in aging mice. *Nutrients*. 2020 Aug 24;12(9):2552. doi: 10.3390/nu12092552.

Dotychczas opisałam występowanie niekorzystnych zmian w wątrobie wywołanych napromienianiem serca, procesem starzenia oraz zastosowaniem preparatu z jemioli. Istotnym zagadnieniem pozostaje jednak poszukiwanie sposobów na poprawę jej funkcjonowania. Komórki, w tym hepatocyty, chronione są przed nadmiernym działaniem reaktywnych form tlenu (RFT) przez szereg systemów antyoksydacyjnych. Obejmują one zarówno przeciwutleniacze nieenzymatyczne, jak i enzymatyczne (46). Wykazano, że dieta bogata w antyoksydanty wzmacnia mechanizmy obronne komórek i ogranicza poziom RFT. Przeciwutleniacze hamują reakcje utleniania, wchodząc w interakcje z czynnikami utleniającymi lub z pośrednimi produktami utleniania, takimi jak wolne rodniki. Udowodniono również, że dieta obfitująca w związki polifenolowe zmniejsza uszkodzenia i modyfikacje indukowane stresem oksydacyjnym, a tym samym redukuje ryzyko rozwoju wielu chorób (47).

Dlatego w kolejnej pracy (**P6**) po raz pierwszy oceniono wpływ suplementacji paszy nasionami kozieradki (*Trigonella foenum-graecum* L.) na systemy ochrony antyoksydacyjnej w wątrobie starzejących się myszy. Nasiona kozieradki zawierają kilka związków kumaryny, a także szereg alkaloidów w tym np. trygonelina, gentianina i karpaina, ale głównymi związkami bioaktywnymi są polifenole takie jak rapontycyna i izowitekyna. Ze względu na tak bogaty skład roślinie tej przypisuje się wiele korzystnych efektów farmakologicznych m.in. przeciwzapalnych, przeciwutleniających i wielu innych (48,49).

Oznaczono aktywność endogennych enzymów antyoksydacyjnych, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), peroksydaza glutationowa (GPx) i reduktaza

glutationowa (GR), które odgrywają kluczową rolę w neutralizowaniu reaktywnych form tlenu (RFT) i ochronie komórek przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Dodatkowo przeanalizowano całkowitą aktywność przeciwutleniającą metodą DPPH, zawartość fenoli ogółem, stężenie witaminy C oraz poziom malonodialdehydu (MDA) jako wskaźnika peroksydacji lipidów.

Uzyskane wyniki wykazały, że u starszych myszy przed suplementacją aktywność enzymów GPx i GR była wyższa niż po włączeniu do diety nasion kozieradki. Może to wskazywać, że suplementacja, poprzez ograniczenie powstawania reaktywnych form tlenu, uruchamia mechanizmy sprzężenia zwrotnego prowadzące do obniżenia aktywności tych enzymów. Jednocześnie zaobserwowano wzrost aktywności SOD, co może być wynikiem wysokiej zdolności kozieradki do neutralizowania wolnych rodników.

Zwiększona zawartość fenoli ogółem oraz silniejszy, zależny od dawki efekt wychwytywania wolnych rodników (DPPH) potwierdzają, że suplementacja diety nasionami kozieradki wspiera endogenne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej i wspomaga procesy hepatoprotekcyjne u starzejących się myszy.

Przeprowadzone badania poszerzają wiedzę na temat biologicznej aktywności nasion kozieradki i ich potencjału jako naturalnego źródła związków o działaniu przeciwutleniającym. Uzyskane wyniki mają istotne znaczenie zarówno poznawcze jak i aplikacyjne, gdyż mogą stanowić podstawę do opracowania strategii diet profilaktycznych wspierających funkcje wątroby oraz przeciwdziałających skutkom stresu oksydacyjnego w procesie starzenia się organizmu.

4.7 Podsumowanie

Zakres badań przedstawionych w osiągnięciu naukowym dotyczył określenia wpływu promieniowania jonizującego stosowanego w terapiach onkologicznych i nieonkologicznych oraz związków roślinnych o potencjalnych właściwościach leczniczych na wybrane parametry morfologiczne i biochemiczne w tkance wątrobowej myszy. Analizowano również zmiany związane ze starzeniem się organizmu u myszy zróżnicowanych genetycznie w porównaniu z młodymi osobnikami.

Za najważniejsze osiągnięcia w przedstawionym cyklu publikacji uważam następujące wnioski:

- 1) Uszkodzenia hepatocytów wywołane promieniowaniem oraz zmiany reaktywności układu lizosomalnego są ściśle zależne od uwarunkowań genetycznych myszy, dawki promieniowania i czasu, jaki upłynął od radioterapii.
- 2) Biorąc pod uwagę ściśle powiązania funkcjonalne między wątrobą a układem sercowo-naczyniowym, należy uwzględniać wpływ popromiennych uszkodzeń serca bezpośrednio narażonego na wysokie dawki promieniowania na zmiany obserwowane w wątrobie.
- 3) Wykazałam zmiany histologiczne, ultrastrukturalne i biochemiczne związane ze starzeniem się wątroby u myszy z niedoborem apolipoproteiny E, wskazujące na zaburzenia metabolizmu lipidów, uszkodzenia mitochondriów oraz ograniczoną aktywność procesów autofagowych. Wyniki te stanowią istotny wkład w poznanie mechanizmów starzenia i patologii metabolicznych w wątrobie.
- 4) Wykazałam nowe spektrum działania Iscadoru P, obejmujące zaburzenia wewnątrzkomórkowych procesów degradacji lizosomalnej oraz zmiany w ultrastrukturze hepatocytów, które mogą stanowić morfologiczny wskaźnik toksyczności ekstraktu z jemioły sosnowej.
- 5) Uzyskane wyniki dostarczyły wyraźnych dowodów wskazujących na modulujące działanie nasion kozieradki dodawanych do diety, ukierunkowane na systemy obrony antyoksydacyjnej w wątrobie myszy, a także na ich potencjalne korzyści dla populacji starzejących się organizmów.
- 6) Wykazałam przydatność analiz morfologicznych z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej do uzyskania szczegółowych informacji o zmianach ultrastrukturalnych w hepatocytach myszy. Połączenie tych analiz z oceną aktywności enzymów lizosomalnych oraz parametrami biochemicznymi osocza umożliwia uzyskanie pełniejszego obrazu patologicznych zmian komórkowych i stanowi cenne narzędzie diagnostyczne w badaniach nad hepatotoksycznością oraz procesami naprawczymi wątroby.

4.8 Przyszłe cele naukowe

W przyszłych badaniach planuję kontynuację i rozwinięcie dotychczasowych prac, koncentrując się na analizie mechanizmów molekularnych dotyczących badań nad udziałem lizosomów, procesów autofagii i stresu oksydacyjnego w odpowiedzi wątroby na czynniki uszkadzające, z wykorzystaniem technik omicznych (proteomika,

transkryptomika, metabolomika). W kolejnym etapie planuję weryfikację uzyskanych wyników badań w modelach bliższych człowiekowi (np. modelach myszy humanizowanych) oraz poszukiwanie nowych strategii profilaktycznych i terapeutycznych opartych na naturalnych substancjach bioaktywnych o potencjale hepatoprotekcyjnym.

Moje zainteresowania naukowe koncentrują się również na projektach dotyczących badania właściwości fizykochemicznych, w tym badań mikroskopowych nanomateriałów, elektroprzędzonych nanowłókien o właściwościach przeciwbakteryjnych, wykorzystywanych w leczeniu trudno gojących się ran. Modyfikacje tych nanowłókien biomakromolekułami, takimi jak białka o działaniu przeciwbakteryjnym, oraz nanocząsteczkami metali np. nanosrebrem wymagają szczegółowej analizy ich właściwości, zwłaszcza z zastosowaniem metod mikroskopowych, takich jak transmisyjny mikroskop elektronowy (TEM) czy skaningowy mikroskop elektronowy (SEM). W najbliższym czasie planuję aplikować o finansowanie projektów badawczych zarówno w konkursach krajowych (np. NCN) oraz międzynarodowych, w tym w ramach programu Horyzont Europa.

4.9 Literatura

1. Marcos R, Correia-Gomes C. Long live the liver: immunohistochemical and stereological study of hepatocytes, liver sinusoidal endothelial cells, Kupffer cells and hepatic stellate cells of male and female rats throughout ageing. *Cell Tissue Res.* 1 grudnia 2016;366(3):639–49.
2. Alvarez AM, Mukherjee D. Liver abnormalities in cardiac diseases and heart failure. *Int J Angiol.* września 2011;20(3):135–42.
3. Abdel-Moneim AM, Al-Kahtani MA, El-Kersh MA, Al-Omar MA. Free Radical-Scavenging, Anti-Inflammatory/Anti-Fibrotic and Hepatoprotective Actions of Taurine and Silymarin against CCl₄ Induced Rat Liver Damage. *PLOS ONE.* 11 grudnia 2015;10(12):e0144509.
4. Parlakgöl G, Arruda AP, Pang S, Cagampan E, Min N, Güney E, et al. Regulation of liver subcellular architecture controls metabolic homeostasis. *Nature.* marca 2022;603(7902):736–42.
5. Cursio R, Colosetti P, Codogno P, Cuervo AM, Shen HM. The Role of Autophagy in Liver Diseases: Mechanisms and Potential Therapeutic Targets. *Biomed Res Int.* 2015;2015:480508.
6. Madrigal-Matute J, Cuervo AM. Regulation of Liver Metabolism by Autophagy. *Gastroenterology.* 1 lutego 2016;150(2):328–39.

7. Zhang Z, Yue P, Lu T, Wang Y, Wei Y, Wei X. Role of lysosomes in physiological activities, diseases, and therapy. *J Hematol Oncol.* 14 maja 2021;14(1):79.
8. Cuervo A. Autophagy: in sickness and in health. *Trends in Cell Biology.* 1 lutego 2004;14(2):70–7.
9. Levine B. Eating Oneself and Uninvited Guests: Autophagy-Related Pathways in Cellular Defense. *Cell.* 28 stycznia 2005;120(2):159–62.
10. Codogno P, Meijer AJ. Autophagy and signaling: their role in cell survival and cell death. *Cell Death Differ.* listopada 2005;12 Suppl 2:1509–18.
11. Terman A, Kurz T, Gustafsson B, Brunk UT. Lysosomal labilization. *IUBMB Life.* września 2006;58(9):531–9.
12. Darby SC, Cutter DJ, Boerma M, Constone LS, Fajardo LF, Kodama K, et al. Radiation-related heart disease: current knowledge and future prospects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 marca 2010;76(3):656–65.
13. Marmagkiolis K, Finch W, Tsitlakidou D, Josephs T, Iliescu C, Best JF, et al. Radiation Toxicity to the Cardiovascular System. *Curr Oncol Rep.* marca 2016;18(3):15.
14. Stewart FA, Heeneman S, Te Poele J, Kruse J, Russell NS, Gijbels M, et al. Ionizing radiation accelerates the development of atherosclerotic lesions in ApoE^{-/-} mice and predisposes to an inflammatory plaque phenotype prone to hemorrhage. *Am J Pathol.* lutego 2006;168(2):649–58.
15. van der Veen J, Laenen A, Nuyts S. Modern radiotherapy techniques versus three-dimensional conformal radiotherapy for head and neck cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 13 grudnia 2017;2017(12):CD012904.
16. Tanaka K, Sata M, Fukuda D, Suematsu Y, Motomura N, Takamoto S, et al. Age-Associated Aortic Stenosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *JACC.* 5 lipca 2005;46(1):134–41.
17. Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature.* 30 kwietnia 2009;458(7242):1131–5.
18. Cui H, Kong Y, Zhang H. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging. *J Signal Transduct.* 2012;2012:646354.
19. Madrigal-Matute J, Cuervo AM. Regulation of liver metabolism by autophagy. *Gastroenterology.* lutego 2016;150(2):328–39.
20. Gharib OA, Ellatif UAA, Abdellah NM, Mohammad MA. Radio-protective response on the environmental pollutant induced oxidative stress. *Advances in Bioscience and Biotechnology.* 30 listopada 2012;3(7):989–96.

21. El-Missiry MA, Fayed TA, El-Sawy MR, El-Sayed AA. Ameliorative effect of melatonin against gamma-irradiation-induced oxidative stress and tissue injury. *Ecotoxicol Environ Saf.* lutego 2007;66(2):278–86.
22. Morgan WF. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: II. Radiation-induced genomic instability and bystander effects in vivo, clastogenic factors and transgenerational effects. *Radiat Res.* maja 2003;159(5):581–96.
23. Roy A, Bera S, Saso L, Dwarkanath BS. Role of autophagy in tumor response to radiation: Implications for improving radiotherapy. *Front Oncol.* 2022;12:957373.
24. Telbisz Á, Kovács AL, Somosy Z. Influence of X-ray on the autophagic-lysosomal system in rat pancreatic acini. *Micron.* 1 stycznia 2002;33(2):143–51.
25. Somosy Z. Radiation response of cell organelles. *Micron.* 1 kwietnia 2000;31(2):165–81.
26. Bright S, Fletcher AG, Fell D, Kadhim MA. Evidence of a role for radiation-induced lysosomal damage in non-targeted effects: an experimental and theoretical analysis [Internet]. *Cell Biology*; 2015 sie [cytowane 14 lutego 2023]. Dostępne na: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/024661>
27. Yamamori T, Sasagawa T, Ichii O, Hiyoshi M, Bo T, Yasui H, et al. Analysis of the mechanism of radiation-induced upregulation of mitochondrial abundance in mouse fibroblasts. *J Radiat Res.* 1 maja 2017;58(3):292–301.
28. Gregg SQ, Gutiérrez V, Robinson AR, Woodell T, Nakao A, Ross MA, et al. A mouse model of accelerated liver aging caused by a defect in DNA repair. *Hepatology.* lutego 2012;55(2):609–21.
29. Bakala H, Delaval E, Hamelin M, Bismuth J, Borot-Laloi C, Corman B, et al. Changes in rat liver mitochondria with aging. Lon protease-like reactivity and N(epsilon)-carboxymethyllysine accumulation in the matrix. *Eur J Biochem.* maja 2003;270(10):2295–302.
30. Tandler B, Dunlap M, Hoppel CL, Hassan M. Giant mitochondria in a cardiomyopathic heart. *Ultrastruct Pathol.* 2002;26(3):177–83.
31. Yen WL, Klionsky DJ. How to live long and prosper: autophagy, mitochondria, and aging. *Physiology (Bethesda).* października 2008;23:248–62.
32. Hoare M, Das T, Alexander G. Ageing, telomeres, senescence, and liver injury. *J Hepatol.* listopada 2010;53(5):950–61.
33. Bonomini F, Rodella LF, Rezzani R. Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress. *Aging Dis.* marca 2015;6(2):109–20.
34. Shah SC, Sass DA, Associate Professor of Medicine, Division of Gastroenterology and Hepatology, Sidney Kimmel Medical College, Jefferson University, 132 S. 10th Street, Main Building, Suite 480, Philadelphia, PA

- 19107, USA. "Cardiac Hepatopathy": A Review of Liver Dysfunction in Heart Failure. *Liver Res Open J.* 15 maja 2015;1(1):1–10.
35. Fouad YM, Yehia R. Hepato-cardiac disorders. *World J Hepatol.* 27 stycznia 2014;6(1):41–54.
 36. Sheedfar F, Di Biase S, Koonen D, Vinciguerra M. Liver diseases and aging: friends or foes? *Aging Cell.* grudnia 2013;12(6):950–4.
 37. Pendse AA, Arbones-Mainar JM, Johnson LA, Altenburg MK, Maeda N. Apolipoprotein E knock-out and knock-in mice: atherosclerosis, metabolic syndrome, and beyond. *J Lipid Res.* kwietnia 2009;50 Suppl(Suppl):S178-182.
 38. Wierzbicki M. Modele zwierzęce w badaniach medycznych, biologicznych i zootechnicznych. *Przegląd hodowlany.* 2014;(6).
 39. Toshima T, Shirabe K, Fukuhara T, Ikegami T, Yoshizumi T, Soejima Y, et al. Suppression of autophagy during liver regeneration impairs energy charge and hepatocyte senescence in mice. *Hepatology.* lipca 2014;60(1):290–300.
 40. Patties I, Haagen J, Dörr W, Hildebrandt G, Glasow A. Late inflammatory and thrombotic changes in irradiated hearts of C57BL/6 wild-type and atherosclerosis-prone ApoE-deficient mice. *Strahlenther Onkol.* lutego 2015;191(2):172–9.
 41. Pfüller U. Chemical Constituents of European Mistletoe (*Viscum album* L.) Isolation and Characterisation of the Main Relevant Ingredients: Lectins, Viscotoxins, Oligo-/polysaccharides, Flavonoides, Alkaloids. W: *Mistletoe*. 1st edition. CRC Press; 2000.
 42. Christen-Clottu O, Klocke P, Burger D, Straub R, Gerber V. Treatment of clinically diagnosed equine sarcoid with a mistletoe extract (*Viscum album austriacus*). *J Vet Intern Med.* 2010;24(6):1483–9.
 43. Werthmann PG, Hintze A, Kienle GS. Complete remission and long-term survival of a patient with melanoma metastases treated with high-dose fever-inducing *Viscum album* extract: A case report. *Medicine (Baltimore).* listopada 2017;96(46):e8731.
 44. Marinković M, Šprung M, Buljubašić M, Novak I. Autophagy Modulation in Cancer: Current Knowledge on Action and Therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:8023821.
 45. Wong YC, Kim S, Peng W, Krainc D. Regulation and Function of Mitochondria-Lysosome Membrane Contact Sites in Cellular Homeostasis. *Trends Cell Biol.* czerwca 2019;29(6):500–13.
 46. Caetano AC, da Veiga LF, Capaldi FR, de Alencar SM, Azevedo RA, Bezerra RMN. The antioxidant response of the liver of male Swiss mice raised on a AIN 93 or commercial diet. *BMC Physiol.* 24 stycznia 2013;13:3.

47. Tavakoly R, Maracy MR, Karimifar M, Entezari MH. Does fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed improve inflammation, and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus? A parallel group randomized clinical trial. *European Journal of Integrative Medicine*. lutego 2018;18:13–7.
48. Ahmad A, Alghamdi SS, Mahmood K, Afzal M. Fenugreek a multipurpose crop: Potentialities and improvements. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 14 września 2015;23(2):300.
49. Madhava Naidu M, Shyamala BN, Pura Naik J, Sulochanamma G, Srinivas P. Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT - Food Science and Technology*. 1 marca 2011;44(2):451–6.

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

Istotnym etapem w moim rozwoju naukowym było odbycie licznych staży naukowych w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu (obecnie Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN) oraz nawiązanie współpracy z dr hab. Arturem Jóźwikiem. Podczas tych staży prowadziłam badania na różnych gatunkach zwierząt, takich jak myszy, strusie, indyki i krowy. Dzięki temu udoskonaliłam swoje umiejętności w zakresie analiz biochemicznych, morfologicznych i ultrastrukturalnych komórek pozyskanych od zwierząt doświadczalnych. W trakcie badań poznałam również nowe metody badawcze, które znacząco wzbogaciły mój warsztat pracy i umiejętności eksperymentalne. Współpraca naukowa zaowocowała opublikowaniem siedmiu manuskryptów w tym czterech wchodzących do cyklu habilitacyjnego i trzech prac badawczych opublikowanych poza tym cyklem, przedstawionych poniżej:

- 1) Jóźwik A, Polawska E, Strzałkowska N, Niemczuk K, **Łysek-Gładysińska M**, Kamińska A, Michalczyk M. Effect of linseed, rapeseed, and vitamin E long term supplementation on the activity of the lysosomal enzymes in ostrich liver. *Bull Vet Inst Pulawy*, 57, 2013, 573-578, doi: 10.2478/bvip-2013-0098.
- 2) Jóźwik A, Strzałkowska N, Lipińska P, Markiewicz-Kęszycka M, **Łysek-Gładysińska M**, Wróblewska B, Stanisławska I. The effect of breed and the feeding system on activity of glycosidases in cow's milk. *Animal Science Papers and Reports*, 2016, 34(1) 41-52.

- 3) Jóźwik A., Strzałkowska N., Marchewka J., Horbańczuk O., Szumacher-Srabel M., Cieślak A., Gogulski M., Kamińska A., Michalczuk M., **Łysek-Gładysińska M.**, Atanasov A.G. The activity of glycosidases in turkey muscles as influenced by the form and level of Cu, Zn, Mn dietary supplementation. *Animal Science Papers and Reports*, 2018, 36(3) 297-310.

Zostały również przygotowane cztery prace poglądowe prezentowane poniżej dotyczące związków roślinnych o potencjalnych właściwościach leczniczych, takich jak berberyna, antocjany, imbir czy żywność funkcjonalna.

- 1) Yeung AWK, Orhan IE, Aggarwal BB, Battino MB T., Bishayee A., Daglia M, Devkota HP, El-Demerdash A, Balacheva A A., Georgieva M G., Gupta VK, Horbańczuk J O, Jóźwik A, Mozos I, Nabavi S M, Pittala V, Feder-Kubis J, Sanches Silva A, Sheridan H., Sureda A, Wang D, Weissig V, Yang Y, Zengin G, Shanker K, Moosavi M A, Shah M A, Al-Rimawi F, Durazzo A, Lucarini M, Souto E B., Santini A, Djilianov D, Das N, Skotti E P., Wieczorek A, **Łysek-Gładysińska M**, Michalczuk M, , Horbańczuk OK., Tzvetkov Nikolay T., Atanasov AG. Berberine, a popular dietary supplement for human and animal health: Quantitative research literature analysis - a review. *Animal Science Papers and Reports*, 2020 38(1) 5-19.
- 2) Yeung AWK, Solka M, Jóźwik A, Ksepka N, Matin M, Wang D, Zielińska A, Mohanasundaram A, Vejux A, Zarrouk A, Tewari D, Horbańczuk JO, Lucarini M, Durazzo A, Ghzaïel I, Michalczuk M, Rezig L, Tzvetkov NT, Matin FB, Lizard G, Bishayee A, Devkota HP, El-Demerdash A, Brnčić M, Santini A, Mickael ME, Horbańczuk O, Charuta A, Szafrąńska K, Małachowska E, Wieczorek M, Siddiquea BN, Hrg D, Frazzini S, Rossi L, Singla RK, Wieczorek A, **Łysek-Gładysińska M**, Chandragiri SS, Adamska O, Stolarczyk A, Klusek J, Szymańska-Czerwińska M, Niemczuk K, Hejna M, Sztandarski P, Jaszczyk A, Michnowska H, Tomasik C, Zima-Kulisiewicz B, Marchewka J, Ławiński M, Atanasov AG. Anthocyanins - dietary natural products with a variety of bioactivities for the promotion of human and animal health. *Animal Science Papers and Reports*. 2024; 42 (1), 5-34, doi: 10.2478/aspr-2023-0020.
- 3) Matin M, Hrg D, Litvinova O, **Łysek-Gładysińska M**, Wierzbicka A, Horbańczuk JO, Jóźwik A, Atanasov AG. The global patent landscape of functional food innovation. *Nat Biotechnol*. 2024 Oct;42(10):1493-1497. doi: 10.1038/s41587-024-02410-0. Erratum in: *Nat Biotechnol*. 2025 Jan 3, doi: 10.1038/s41587-024-02544-1. PMID: 39402344.

- 4) Matin M, Yeung AWK, Joshi T, Tzvetkov NT, Matin FB, Strzałkowska N, Ksepka N, Wysocki K, Tomasik C, Mickael ME, Szymańska-Czerwińska M, Niemczuk K, Koszarska M, Frazzini S, Rossi L, Adamska O, Kamińska A, Łapiński M, Stolarczyk A, Pirgozliev VR, **Łysek-Gładysińska M**, Wieczorek A, Lach K, Ławiński M, Lagoa R, Boukhari RE, Fatimi A, Lisco G, Piazzolla G, Triggiani V, Petrykowski S, Siwiec D, Karpiński TM, Półtorak A, Wierzbicka A, Marchewka J, Horbańczuk JO, Jóźwik A, Atanasov AG. Ginger: a total-scale analysis of the scientific literature on a widely used spice and phytotherapeutic. *Animal Science Papers and Reports* vol. 42 (2024) no. 4, 349-364, doi: 10.2478/aspr-2023-0042.

Istotny wpływ na mój rozwój naukowy miało również nawiązanie współpracy z dr hab. Dorotą Gabryś z Narodowego Centrum Onkologii w Gliwicach, która była kierownikiem części polskiej projektu CARDIORISK realizowanego w ramach międzynarodowego grantu Euratom 7th Framework Programme for Nuclear Research and Training. W projekcie tym brałam udział jako wykonawca zadania celem którego była analiza zmian ultrastrukturalnych w hepatocytach i kardiomiocytach oraz zmian biochemicznych zachodzących w obrębie wątroby po napromienianiu obszaru serca. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane w publikacjach wchodzących w skład mojego cyklu habilitacyjnego i konferencji naukowych (zał. 4). Kolejny wspólnie realizowany temat badawczy dotyczył analizy toksycznego działania promieniowania jonizującego i antracyklin na układ sercowo-naczyniowy w ramach projektu MNiSW (N402 6856 40), w którym byłam wykonawcą zadania. Wyniki tych badań były prezentowane na kongresach i są w trakcie publikacji (zał. 4).

Odbycie dwóch kolejnych staży w latach 2012 - 2013 w Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Nowotworów Centrum Onkologii w Gliwicach (obecnie Narodowy Instytut Onkologii) umożliwiło również nawiązanie współpracy z prof. Moniką Pietrowską, która zaprosiła mnie do udziału w projekcie dotyczącym analizy egzosomów uwalnianych z komórek raka głowy i szyi w odpowiedzi na czynniki genotoksyczne. W ramach grantu (NCN2013/11/B/NZ7/01512) byłam wykonawcą zadania polegającego na analizie ultrastruktury egzosomów w transmisyjnym mikroskopie elektronowym w próbkach uzyskanych z hodowli komórkowych oraz surowicy krwi pacjentów. Uzyskane wyniki badań zostały opublikowane w pracy: Jelonek K, Wojakowska A, Marczak L, Muer A, Tinhofer-Keilholz I, **Łysek-Gładysińska M**, Widlak P, Pietrowska M. Ionizing radiation affects protein

composition of exosomes secreted in vitro from head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Biochim Pol.* 2015;62(2):265-72, doi: 10.18388/abp.2015_970 w której przeanalizowano skład białkowy egzosomów uwalnianych in vitro z komórek wystawionych na działanie promieniowania jonizującego (dawka 2 Gy) i porównano go ze składem egzosomów pochodzących z komórek kontrolnych (nienapromieniowanych). Egzosomy wydzielane z komórek FaDu, pochodzących z ludzkiego płaskonabłonkowego raka głowy i szyi analizowano metodą LC-MS/MS. Stwierdzono, że ekspozycja komórek na promieniowanie jonizujące spowodowała istotne zmiany w składzie białkowym egzosomów. W egzosomach pochodzących z komórek kontrolnych zidentyfikowano 217 białek, natomiast w egzosomach z napromieniowanych komórek 384 białka, w tym 148 białek wspólnych, 236 białek wykrytych wyłącznie po napromieniowaniu i 69 nie wykrytych po napromieniowaniu. Wśród białek specyficznych dla egzosomów komórek napromieniowanych znalazły się białka zaangażowane w transkrypcję, translację, obrót białek, podział komórkowy oraz sygnalizację komórkową. Wyniki te wskazują, że ładunek egzosomalny odzwierciedla wywołane promieniowaniem zmiany w procesach komórkowych, takich jak przejściowe zahamowanie transkrypcji i translacji czy aktywacja szlaków sygnalizacji stresowej.

W kolejnym artykule: Abramowicz A, Wojakowska A, Marczak L, **Lysek-Gładysinska M**, Smolarz M, Story MD, Polanska J, Widlak P, Pietrowska M. Ionizing radiation affects the composition of the proteome of extracellular vesicles released by head-and-neck cancer cells in vitro. *J Radiat Res.* 2019 May 1;60(3):289-297. doi: 10.1093/jrr/rrz001, zbadano profil proteomu egzosomów uwalnianych in vitro przez napromieniowane komórki UM-SCC6 pochodzące z ludzkiego raka głowy i szyi oraz zidentyfikowano procesy związane z białkami poddanymi działaniu promieniowania. Egzosomy i inne małe pęcherzyki zewnątrzkomórkowe oczyszczano metodą chromatografii z pożywek, zebranych 24 godziny po napromieniowaniu komórek pojedynczą dawką 2, 4 lub 8 Gy, a następnie białka identyfikowano metodą shotgun LC-MS/MS. Zidentyfikowano białka specyficzne dla egzosomów, kodowane przez 1217 unikalnych genów. Stwierdzono 472 białka, których liczebność w egzosomach była istotnie zmieniona pod wpływem promieniowania (przy każdej z zastosowanych dawek), w tym 425 o zwiększonej i 47 o obniżonej ekspresji. Najliczniejszą grupę (369) stanowiły białka, których liczebność wzrastała po zastosowaniu wszystkich dawek promieniowania (≥ 2 Gy). Kilka terminów ontologii genów było powiązanych

z białkami egzosomów poddanych działaniu promieniowania. Wśród nadreprezentowanych procesów znalazły się te związane z odpowiedzią na promieniowanie, metabolizmem reaktywnych form tlenu, naprawą DNA, pakowaniem chromatyny i fałdowaniem białek. Zatem zawartość białkowa egzosomów uwalnianych przez napromieniowane komórki wskazuje na ich potencjalną rolę w pośredniczeniu w odpowiedzi na promieniowanie jonizujące.

W trakcie dwumiesięcznego stażu zagranicznego (maj-lipiec, 2014) na **University of East Anglia, Norwich Medical School, Norwich, UK**, uczestniczyłam w badaniach realizowanych w ramach projektu prof. Toma Wilemana dotyczącego choroby Leśniewskiego-Crohna. Jest to schorzenie charakteryzująca się przewlekłym stanem zapalnym jelit, wynikającym z nieprawidłowego mikrobiomu, złego odżywiania raz uwarunkowań genetycznych. Stwierdzono również zaburzenia w procesach degradacji lizosomalnej. Uczestniczyłam w badaniach na myszach z nokautem genu autofagii (Atg 16L1^{-/-}) u których dochodzi do zaburzenia procesów autofagii lizosomalnej. Celem moich badań była analiza zmian submikroskopowych w komórkach Paneta i Gobleta, enterocytach i organoidach jelitowych, a także ocena połączeń międzykomórkowych, które ulegają modyfikacjom podobnym o obserwowanych w przebiegu choroby Leśniewskiego-Crohna. Podczas stażu udoskonaliłam umiejętności w zakresie hodowli fibroblastów oraz hodowli organoidów jelitowych wyizolowanych z komórek macierzystych jelit myszy Atg 16L1^{-/-} oraz hodowli organoidów w trójwymiarowej matrycy zewnątrzkomórkowej (Matrigel-3D).

Kontynuując tematykę związaną z promieniowaniem jonizującym podjęłam również współpracę z grupą badawczą prof. Andrzeja Wójcika z **University of Stockholm, Department of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute**, oraz dr hab. Beatą Brzozowską z Zakładu Fizyki Biomedycznej Uniwersytetu Warszawskiego. Efektem tej współpracy jest publikacja: „Akuvudike P, López-Riego M, Ginter J, Cheng L, Wieczorek A, Życieńska K, **Łysek-Gładysińska M**, Wojcik A, Brzozowska B, Lundholm L. Mechanistic insights from high resolution DNA damage analysis to understand mixed radiation exposure” DNA Repair (Amst). 2023 Oct;130:103554. W badaniu tym oceniłam zależność między lokalizacją pęknięć dwuniciowego DNA wewnątrz jądra a strukturą chromatyny, za pomocą wysokorozdzielczej transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Barwienie immunocytochemiczne z drugorzędowym przeciwciałem γ H2AX sprzężonym z

nanocząstkami złota wykazało największy stopień uszkodzeń (w oparciu o ilość nanocząsteczek złota- γ H2AX) w komórkach napromieniowanych promieniowaniem alfa tuż przed promieniowaniem gamma (tzw. wiązką mieszaną), a następnie w komórkach napromienionych promieniowaniem alfa, a w dalszej kolejności promieniowaniem gamma. Ogniska γ H2AX indukowane przez promieniowanie wiązką mieszaną miały tendencję do lokalizowania się w obszarach euchromatyny (jaśniejsze rejony w obrazie TEM), jednak ogniska zawierające największą liczbę nanocząstek złota, tj. większe ogniska reprezentujące złożone uszkodzenia DNA, utrzymywały się w rejonach heterochromatyny. Frakcjonowane napromienianie wiązką mieszaną, podawane codziennie, wywołało najsilniejsze obniżenie żywotności komórek oraz zdolności tworzenia kolonii w liniach MDA-MB-231 i U2OS (osteosarcoma), w porównaniu z innymi rodzajami promieniowania oraz z ekspozycją ostrą. Zjawisko to można częściowo tłumaczyć nawracającym uszkodzeniem oksydacyjnym DNA o niskim LET w każdej frakcji oraz opóźnioną rekompaktacją chromatyny po napromienianiu o wysokim LET, co potwierdziły niskie poziomy markera heterochromatyny H3K9me3 zaobserwowane dwie godziny po ostatniej frakcji wiązki mieszanej w komórkach MDA-MB-231.

Podsumowując, wczesne różnice w odpowiedzi komórkowej na złożone uszkodzenia DNA mogą prowadzić do silniejszego efektu cytotoksycznego indukowanego przez frakcjonowaną ekspozycję, co wskazuje na potencjalne znaczenie terapeutyczne połączonego napromieniania o wysokim i niskim LET. Wyniki tych badań zostały również opublikowane w materiałach konferencyjnych 47th Annual Meeting of the European Radiation Research Society (zał.4).

Nawiązanie współpracy z grupą badawczą z University de Alcalá w Hiszpani zapoczątkowało nowy etap moich badań, czego efektem jest pięć publikacji. Wspólne badania dotyczyły oporności bakterii Gram-ujemnych na antybiotyki oraz poszukiwaniu alternatywnych metod ich zwalczania. Spośród wielu alternatyw dla antybiotyków, dwie wydają się być najbardziej obiecujące, a mianowicie substancje zwiększające przepuszczalność błon komórkowych i enzymy niszczące ściany komórkowe bakterii. Przeanalizowano mechanizm strategii transportu lizozymu przy użyciu dwóch typów karbosilanowych dendronizowanych nanocząsteczek srebra (DendAgNP), niemodyfikowanych glikolem polietylenowym (PEG) i PEGylowanych (PEG-DendAgNP), w celu zwiększenia przepuszczalności błony zewnętrznej i

degradacji peptydoglikanu. Wyniki badań zostały opublikowane w pięciu publikacjach prezentowanych poniżej.

W pracy „Skrzyniarz K, Sanchez-Nieves, J de la Mata FJ, **Łysek-Gładysińska M**, Lach K, Ciepluch K. Mechanistic insight of lysozyme transport through the outer bacteria membrane with dendronized silver nanoparticles for peptidoglycan degradation. *Int J Biol Macromol.* 2023, May 15;237:124239” doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124239, wykazaliśmy, że DendAgNP mogą gromadzić się na powierzchni komórki bakteryjnej, niszcząc błonę zewnętrzną, a tym samym umożliwiając lizozymom penetrację do wnętrza bakterii i zniszczenie ściany komórkowej. Z drugiej strony PEG-DendAgNP mają zupełnie inny mechanizm działania. Łańcuchy PEG zawierające złożony lizozym spowodowały agregację bakterii i wzrost lokalnego stężenia enzymu w pobliżu błony bakteryjnej, tym samym hamując wzrost bakterii. Jest to spowodowane gromadzeniem się enzymu w jednym miejscu na powierzchni bakterii i wnikaniem do niej poprzez niewielkie uszkodzenie błony z powodu interakcji nanocząsteczek z błoną. Wyniki tego badania poszerzyły wiedzę odnośnie skuteczniejszych nanośrodków białek przeciwdrobnoustrojowych.

W kolejnej naszej publikacji „Skrzyniarz K, Takvor-Mena S, Lach K, **Łysek-Gładysińska M**, Barrios-Gumiel Ó, Cano J, Ciepluch K. Molecular mechanism of action of imidazolium carbosilane dendrimers on the outer bacterial membrane - From membrane damage to permeability to antimicrobial endolysin”. *J Colloid Interface Sci.* 2024 Jul, 665:814-824, doi: 10.1016/j.jcis.2024.03.130, zbadaliśmy kationowe układy dendrytyczne takie jak dendrymery imidazoliowe karbosilanów. Wybraliśmy jeden typ z pojedynczą grupą kationową (metyloimidazolium) i drugi z tą samą grupą kationową, ale przyłączony do grupy funkcyjnej (z fragmentem pirydylowym), zdolnej do nawiązywania interakcji z błonami poprzez wiązanie wodorowe lub oddziaływania elektrostatyczne jonowo-dipolowe. Wykorzystaliśmy różne modele zewnętrznej błony bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*. Dodatkowo oceniliśmy łączny wpływ dendrymerów i antybakteryjnej endolizyny na *P. aeruginosa*. Nasze wyniki pokazują, że mechanizm działania zależy od rodzaju dendrymeru i składu lipidowego błony. Wykazaliśmy również, że zmiana płynności błony i przepuszczalności dla endolizyny przez dendrymery metyloimidazoliowe i pirydyloimidazoliowe może odgrywać istotniejszą rolę w aktywności przeciwdrobnoustrojowej w porównaniu z uszkodzeniem błony spowodowanym przez dendrymery o ładunku dodatnim.

Następnie skupiliśmy się na badaniu właściwości przeciwbakteryjnych nanowłókien polimerowych, które ze względu na wysoki stosunek powierzchni do objętości, wysoką porowatość i dobrą wytrzymałość mechaniczną, wydają się obiecującymi materiałami wielofunkcyjnymi do zastosowań biomedycznych. Dzięki swojej jednokierunkowej strukturze, imitującej macierz pozakomórkową (ECM), mogą być stosowane jako rusztowania do adhezji i proliferacji komórek. Ponadto włączenie grup aktywnych wewnątrz nanowłókna może nadać właściwości bakteriobójcze. Uzyskane wyniki badań opublikowano w pracy: „Lasak M, Nirwan VP, Kuc-Ciepluch D, **Lysek-Gładysinska M**, Javier de la Mata F, Gomez R, Fahmi A, Ciepluch K. Dendronized Ag/Au Nanomats: Antimicrobial Scaffold for Wound Healing Bandages”. *Macromol Biosci.* 2024 Jun; 24(6):2300513, doi: 10.1002/mabi.202300513. Proponowane nanomaty to elektroprzędzone nanowłókna zawierające nanocząstki złota (Au) osadzone w mieszaninie kopolimeru PL-b-CL (70:30) i poliwinylpirolidonu (PVP). Charakteryzują się niską cytotoksycznością oraz umiarkowaną immunoreaktywnością. Wzbogacenie ich dendronizowanymi nanocząstkami srebra (Dend-Ag) znacząco zwiększa aktywność przeciwbakteryjną, zwłaszcza wobec opornego szczepu *Pseudomonas aeruginosa*, oraz podnosi cytotoksyczność makrofagów. Jednokierunkowe nanostruktury tych hybrydowych nanomatów wykazują korzystne właściwości fizykochemiczne i biologiczne, sprzyjające regeneracji tkanek i przyspieszonemu gojeniu ran oraz do szerokiego zakresu zastosowań biomedycznych.

W publikacji: „Lach K, Skrzyniarz K, Takvor-Mena S, **Lysek-Gładysińska M**, Furmańczyk P, Barrios-Gumiel O, Sanchez-Nieves J, Ciepluch K. Endolysin CHAP domain-carbosilane metallodendrimer complexes with triple action on Gram-negative bacteria: Membrane destabilization, reactive oxygen species production and peptidoglycan degradation”. *Int J Biol Macromol.* 2024 Oct;278(Pt 3):134634, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134634, przedstawiono trzyetapowy mechanizm działania endolizyny w połączeniu z dwoma różnymi metalodendrymerami srebra karbosilanowego (CBS), w których rdzeń jest modyfikowany ligandami N-heterocyklicznymi karbenowymi (NHC) koordynującymi atom srebra. Ligandy NHC zawierały hydrofobowe grupy metylowe lub donorowe grupy pirydylowe. Skuteczność kombinacji endolizyny i dendrymeru opiera się na trzech etapach: permeabilizacji błony zewnętrznej, degradacji peptydoglikanu oraz generacji reaktywnych form tlenu (RFT). Wyniki wykazały, że CBS indukuje permeabilizację

blony (pierwszy etap), ogranicza wzrost bakterii w wyższych stężeniach zarówno samodzielnie, jak i w obecności endolizyny, zwiększa produkcję RFT (drugi etap) oraz powoduje uszkodzenie komórek bakteryjnych (trzeci etap). Kompleks utworzony pomiędzy domeną CHAP endolizyny a srebrnym metalodendrymerem CBS, wykazujący potrójny mecha, vnizm działania, może stanowić obiecującą alternatywę dla tradycyjnych środków przeciwdrobnoustrojowych o pojedynczym mechanizmie oporności.

Wraz ze wzrostem oporności bakterii na antybiotyki istnieje pilna potrzeba opracowania alternatywnych strategii przeciwbakteryjnych oraz doskonalenia materiałów o działaniu przeciwbakteryjnym. Jednym z obiecujących kierunków jest kontrolowany transport substancji przeciwdrobnoustrojowych, który pozwala skutecznie zapobiegać infekcjom wywoływanym przez szczepy odporne, szczególnie w terapii trudno gojących się ran. Dlatego w następnej publikacji „Lasak M, **Łysek-Gładysińska M**, Lach K, Nirwan VP, Kuc-Ciepluch D, Sanchez-Nieves J, de la Mata FJ, Fahmi A, Ciepluch K. „Electrospun Nanofibers for the Delivery of Endolysin/Dendronized Ag-NPs Complex Against *Pseudomonas aeruginosa*”. *Nanotechnol Sci Appl*. 2025 Feb 18;18:57-70, doi: 10.2147/NSA.S498942, zastosowano elektroprzędzone nanowłókna PLCL/PVP (poli(L-laktyd-ko-ε-kaprolakton)/poliwinylpirolidon) modyfikowane dwoma środkami o właściwościach przeciwbakteryjnych, lecz odmiennych mechanizmach działania: dendrytycznymi nanocząstkami srebra (Dend-AgNPs) oraz endolizyną. Wykazano, że otrzymana nanomata charakteryzuje się znaczącą aktywnością przeciwbakteryjną wobec szczepów *Pseudomonas aeruginosa* opornych na antybiotyki, skutecznie hamując ich wzrost oraz produkcję kluczowych pigmentów i czynników wirulencji. Ponadto zastosowanie nanowłókien jako nośników tych czynników znacząco obniżyło ich cytotoksyczność wobec ludzkich fibroblastów. Uzyskane wyniki potwierdzają potencjał opracowanego materiału jako innowacyjnego opatrunku, otwierającego nowe perspektywy w terapii ran i zwalczaniu zakażeń wywołanych przez bakterie lekooporne.

Podjęłam również współpracę z grupą badawczą **dr hab. Pawła Konieczki ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**. Nasze wspólne badania koncentrowały się na poszukiwaniu najskuteczniejszych źródeł selenu (Se) do zastosowań komercyjnych, a uzyskane wyniki zostały opublikowane w pracy „Bień

D, Michalczuk M, **Łysek-Gładysińska M**, Józwik A, Wieczorek A, Matuszewski A, Kinsner M, Konieczka P. „Nano-Sized Selenium Maintains Performance and Improves Health Status and Antioxidant Potential While Not Compromising Ultrastructure of Breast Muscle and Liver in Chickens. *Antioxidants* (Basel)”. 2023 Apr 10;12(4):905, doi: 10.3390/antiox12040905. Oceniliśmy wpływ różnych form selenu nieorganicznego, organicznego, selenizowanych drożdży oraz nanoform selenu na jakość mięsa piersiowego, markery antyoksydacyjne w wątrobie i krwi, ultrastrukturę tkanek oraz ogólny stan zdrowia kurcząt brojlerów. Ptaki żywiono standardową dietą komercyjną zawierającą 0,3 mg Se/kg (selen nieorganiczny) lub dietą eksperymentalną ze zwiększonym poziomem selenu (0,5 mg/kg). Wykazano, że zastosowanie nanoform selenu w porównaniu z selenianem sodu znacząco zwiększało zawartość kolagenu w mięśniach piersiowych, nie wpływając negatywnie na ich właściwości fizykochemiczne ani na wydajność wzrostu. Dodatkowo, wyższa dawka selenu w postaci nano-Se sprzyjała wydłużeniu sarkomerów w mięśniach piersiowych, redukcji uszkodzeń mitochondriów w hepatocytach oraz poprawie parametrów oksydacyjnych. Zastosowanie nano-Se w ilości 0,5 mg/kg paszy cechowało się wysoką biodostępnością i niską toksycznością, przy jednoczesnej poprawie jakości mięsa i stanu zdrowia ptaków. Selen w postaci nanocząsteczek skutecznie wspierał wydajność, potencjał antyoksydacyjny oraz integralność ultrastrukturalną mięśni i wątroby kurcząt brojlerów.

Kolejna moja aktywność naukowa związana jest z realizacją badań prowadzonych we współpracy z **Medycznym Laboratorium Diagnostycznym podmiotu leczniczego Meduniv Sp. z o.o. w Kielcach**, w gdzie w 2021 roku podjęłam dodatkową, roczną pracę na podstawie umowy zlecenia, w okresie pandemii wywołanej przez wirusa SARS-CoV-2 odpowiedzialnego za zachorowania na COVID-19. W trakcie tego okresu nabyłam nowe umiejętności w zakresie procedur diagnostyki molekularnej, obejmujące przygotowanie próbek biologicznych oraz prowadzenie reakcji PCR. Analizowałam uzyskane wyniki badań zarówno do celów diagnostycznych, jak i naukowych. Materiał biologiczny (RNA wirusa SARS-CoV-2) wyizolowany od pacjentów z zakażeniem COVID-19 poddano analizie zmienności genu *RdRp* w korelacji z różnym przebiegiem klinicznym choroby. Uzyskane wyniki badań zostały opublikowane w artykule: Majchrzak M, Madej Ł, **Łysek-Gładysińska M**, Zarębska-Michaluk D, Zegadło K, Dziuba A, Nogal-Nowak K, Kondziołka W, Sufin I, Myszone-Tarnowska M, Jaśkowski M, Kędzierski M, Maciukaję J,

Matykiewicz J, Głuszek S, Adamus-Białek W. „The RdRp genotyping of SARS-CoV-2 isolated from patients with different clinical spectrum of COVID-19”. BMC Infect Dis. 2024;24(1):281, doi: 10.1186/s12879-024-09146-x. Liczba wariantów *RdRp* była dodatnio skorelowana z ciężkością zachorowania na COVID-19 i starszymi pacjentami płci męskiej. Wykryliśmy cztery zmienności genetyczne, które znacząco zwiększyły ryzyko hospitalizacji pacjentów z COVID-19 (14676C > T, 14697C > T, 15096 T > C i 15279C > T), podczas gdy wariant 15240C > T był powszechny wśród szczepów izolowanych od pacjentów ambulatoryjnych. Zidentyfikowane warianty genetyczne przeszukano w bazie danych GISAID i ich obecność również potwierdziła zaobserwowaną korelację. Zidentyfikowane mutacje mogą potencjalnie posłużyć do oceny zwiększonego ryzyka hospitalizacji u pacjentów z pozytywnym wynikiem testu na COVID-19. Potrzebne są jednak badania eksperymentalne i obszernie dane epidemiologiczne, aby zbadać związek między poszczególnymi mutacjami, a ciężkością przebiegu COVID-19.

Celem następnej publikacji było zbadanie w jaki sposób trzecia dawka szczepionki przeciwko COVID-19 koreluje z dynamiką poziomów przeciwciał IgG przeciwko białku kolca (białku S) wirusa SARS-CoV-2 w grupie zdrowych osób. Uzyskane wyniki opublikowano w pracy: **Łysek-Gładysińska M**, Starz M, Borowiec-Sęk A, Sufin I, Wieczorek A, Chrapek M, Zarębska-Michaluk D, Sufin P, Głuszek S, Adamus-Białek W. „The Levels of Anti-SARS-CoV-2 Spike Protein IgG Antibodies Before and After the Third Dose of Vaccination Against COVID-19”. J Inflamm Res. 2023 Jan 11;16:145-160, doi: 10.2147/JIR.S394760. Wykazaliśmy, że poziomy IgG były istotnie wyższe i mniej zróżnicowane po tym samym czasie obserwacji po drugim szczepieniu w porównaniu z pierwszym szczepieniem. Poziomy przeciwciał były dodatnio skorelowane u kobiet, pracowników służby zdrowia, osób starszych i uczestników z negatywną historią COVID-19. Ponadto wzrost przeciwciał IgG po drugim szczepieniu przypominającym korelował odwrotnie z poziomem wyjściowym przeciwciał przed szczepieniem. Szczepienia przypominające wydają się lepiej stymulować pamięć immunologiczną, a w przypadku granicznego poziomu IgG indukują największy wzrost przeciwciał. Dlatego warto monitorować poziom przeciwciał przed przyjęciem szczepionki i propagować szczepienia przeciw COVID-19.

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

6.1 Uczestnictwo w programach europejskich oraz innych programach międzynarodowych i krajowych.

Brałam udział w następujących programach dydaktyczno - naukowych:

1) „Progress: Gospodarka-Edukacja-Sukces” (POKL.04.01.01-00-077/10).

Program był realizowany przez Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Priorytet IV Szkolnictwo Wyższe i Nauka. Poddziałanie 4.1.1 Wzmocnienie potencjału dydaktycznego uczelni. Z tego programu odbyłam dwumiesięczny staż dydaktyczno-naukowy w University of East Anglia, Norwich, UK (maj-lipiec, 2014).

2) Program Erasmus+

Uczestniczyłam w 3 wyjazdach zagranicznych z programu Unii Europejskiej Erasmus+ w trakcie których prowadziłam zajęcia dydaktyczne dla studentów w języku angielskim.

- Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Department for Innovation in Biological Systems, Food and Forestry (DIBF), Viterbo, Włochy, 1 tydzień, 2014.
- Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Department for Innovation in Biological Systems, Food and Forestry (DIBF), Viterbo Włochy, 1 tydzień, 2017.
- Shibaura Institute of Technology, Department of Applied Chemistry, Toyosu, Koto-ku, Tokyo, Japonia, 1 tydzień, 2019.

6.2. Osiągnięcia dydaktyczne

Prowadziłam wykłady, ćwiczenia i laboratoria na kierunkach:

1) Lekarskim: podstawy biologii komórki (laboratoria i ćwiczenia), ultrastruktura komórki (wykłady, laboratoria, ćwiczenia) w języku polskim i angielskim, cytofizjologia w języku angielskim (wykłady, laboratoria, ćwiczenia) -1 rok.

- 2) Biologii: Biologia komórki (laboratoria)- 3 rok, Podstawy gerontologii (wykłady, konwersatoria) – 1rok, Regulacja sygnalizacji komórkowej (wykłady) - studia doktoranckie, Podstawy technik mikroskopowych (wykłady, laboratoria) -1 rok, Nowoczesne techniki mikroskopowe (wykłady) - 5 rok.
- 3) Biotechnologii: Biologia komórki (laboratoria) - 1 rok, Techniki mikroskopowe w języku polskim i angielskim (wykłady, laboratoria) – 1 rok.
- 4) Kosmetologii: Cytofizjologia (laboratoria) - 1 rok.
- 5) Informatycznych systemach diagnostycznych: Mikroskopia w medycynie (wykłady) - 2 rok
- 6) Byłam opiekunem studiów na kierunku biologia w latach 2009/2010
- 7) Była promotorem 30 prac magisterskich w latach 2006-2025 i 27 prac licencjackich, oraz recenzentem kilkunastu prac magisterskich i licencjackich.
- 8) Obecnie jestem promotorem pomocniczym mgr Karoliny Lach w Instytucie Biologii UJK w Kielcach. Obrona pracy doktorskiej pt. „Badanie właściwości przeciwbakteryjnych nanocząstek dendrytycznych wzmacniających działanie endolizyn fagowych przeciwko bakteriom gram-ujemnym – ocena aktywności przeciwbakteryjnej i działania cytotoksycznego w badaniach in vitro” przewidziana jest na maj 2026 roku.

6.3 Osiągnięcia w zakresie popularyzacji nauki

- 1) Prowadziłam weekendowe zajęcia z młodzieżą licealną w ramach programu: PO.03.01.00-00-C070/16; UNIWERSYTET MŁODYCH, grudzień 2020, styczeń 2021.
- 2) Prowadziłam warsztaty dla młodzieży licealnej w ramach cyklicznego wydarzenia popularyzującego naukę „Noc Biologów” organizowanego w Instytucie Biologii w latach 2018-2025.
- 3) Prowadziłam warsztaty i laboratoria dla młodzieży licealnej w ramach programu „Dzisiaj uczeń jutro student” (2024-2025).

6.4. Wykłady na seminariach naukowym w kraju i zagranicą

W ramach mobilności nauczycieli akademickich wygłosiłam wykłady dla studentów i pracowników:

- 1) „Preparative techniques for the different types of microscopes”. Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Department for Innovation in Biological Systems, Food and Forestry (DIBF), Viterbo, Włochy, 24.09.2014.
- 2) „The effect of ionizing radiation on the morphological changes in the liver and heart of mouse”. University of East Anglia, Norwich Medical School, Biomedical Research Centre, United Kingdom, 9.07.2014.
- 3) „The application of different types of microscope in biology sciences”. Università Degli Studi Della Tuscia Di Viterbo, Department for Innovation in Biological Systems, Food and Forestry (DIBF), Viterbo, Włochy, 20.09.2017.
- 4) „General principles of cell culture. Assessment of the effects of genotoxic factors on in vitro cell survival”. Shibaura Institute of Technology, Department of Applied Chemistry, Toyosu, Koto-ku, Tokyo, Japonia, 25.05.2019.
- 5) „Zastosowanie transmisyjnej mikroskopii elektronowej do analiz ultrastrukturalnych obiektów biologicznych”. Zakład Fizyki Biomedycznej Uniwersytetu Warszawskiego, 18.11. 2021.
- 6) „Microscopic techniques in the study of interactions between nanomaterials and nanoparticles and the outer bacterial membrane”. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 16.09.2024.

6.5 Osiągnięcia organizacyjne

- 1) Przewodnicząca i członek Zespołu Ewaluacji Jakości Kształcenia (ZEIK) na Wydziale Nauk Ścisłych i Przyrodniczych w latach 2022 - 2024.
- 2) Koordynator ds. Nocy Biologów w Instytucie Biologii Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach od 2024 roku.
- 3) Członek Rady Instytutu Biologii UJK w latach 2005 - 2011; 2020 - 2024.
- 4) Członek Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego UJK w latach 2012 - 2020.
- 5) Przewodnicząca Komisji Skrutacyjnej Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego w latach 2012 - 2020.

- 6) Sekretarz Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego powołany w latach 2018-2020.
- 7) Koordynator Współpracy Międzynarodowej pomiędzy Uniwersytetem Jana Kochanowskiego w Kielcach a Università Degli Studi Tuscia w Viterbo od 2017.
- 8) Kierownik studiów podyplomowych „Biologia z elementami diagnostyki” w Instytucie Biologii, Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach w latach 2006 – 2008.

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

7.1 Udział w projektach badawczych

Brałam udział w projektach jako wykonawca zadania w których byłam odpowiedzialna za całościowe przygotowanie materiału do obserwacji mikroskopowych przeprowadzonych w transmisyjnym mikroskopie elektronowym i analizą uzyskanych wyników.

- 1) Siódmy Program Ramowy Europejskiej Wspólnoty Energii Atomowej (FP7/2—7-2011) w ramach umowy o dotację nr 211403 (CARDIORISK) - Wykonawca zadania związanego z analizami ultrastrukturalnymi kardiomiocytów myszy w transmisyjnym mikroskopie elektronowym.
- 2) 2011-2016; MNiSWN 402 6856 40: Analiza toksycznego działania promieniowania jonizującego i antracyklin na układ sercowo-naczyniowy – wykonawca.
- 3) 2014-2018; NCN2013/09/B/NZ5/01815 Wpływ białka HSPA2, należącego do rodziny białek szoku termicznego HSPA(HSP70) na modulowanie wrażliwości komórek niedrobnokomórkowego raka płuca na pochodne platyny – wykonawca.
- 4) 2014-2019; NCN2013/11/B/NZ7/01512: Proteom, lipidom oraz miRN-om egzosomów uwalnianych z komórek raka głowy i szyi w odpowiedzi na czynniki genotoksyczne – wykonawca.

Kierowałam 15 projektami finansowanymi ze środków własnych Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach a w 6 projektach byłam członkiem zespołu.

- 1) 2002-2004; Aktywność układu lizosomalnego komórki wątroby myszy po obciążeniu morfiną i wybranymi cytostatykami - członek zespołu.
- 2) 2002-2004; Aktywność układu lizosomalnego w komórkach ssaków po obciążeniu C-Med 100 - członek zespołu.
- 3) 2004-2005; Enzymy lizosomalne hepatocytów myszy jako wskaźnik procesów starzenia''-1, Komitet Badań Naukowych - kierownik.
- 4) 2005-2007; Dynamika procesów proteolitycznych w modelowych tkankach myszy po obciążeniu dehydroepiandrosteronem i jego skojarzonym działaniu z innymi hormonami - kierownik.
- 5) 2005-2007; Wpływ iscadoru M na aktywność układu lizosomalnego w hepatocytach myszy - członek zespołu.
- 6) 2005-2007; Aktywność układu lizosomalnego w komórkach ssaków po obciążeniu wybranymi lekami przeciwleukotrienowymi - członek zespołu.
- 7) 2005-2008; Zmiany biochemiczne i ultrastrukturalne w komórkach ssaków po obciążeniu chemioterapeutykami o różnej zawartości wiskumin i wiskotoksyn - członek zespołu.
- 8) 2008-2010; Skojarzone działanie alkaloidów, terpenów i witamin na układ lizosomalny w modelowych tkankach ssaków - członek zespołu.
- 9) 2008-2010; Zmiany biochemiczne i morfologiczne w tkankach myszy po zastosowaniu octanu megestrolu w skojarzeniu z innymi lekami cytostatycznymi - członek zespołu.
- 10) 2010; Zmiany biochemiczne i ultrastrukturalne w komórkach po zastosowaniu manumycyny A - członek zespołu.
- 11) 2008-2010; Ocena zmian biochemicznych i morfologicznych w modelowych tkankach myszy po podaniu alkaloidów benzofenantrydynowych wyizolowanych z Chelidonium majus - kierownik.
- 12) 2011-2014; Adaptacyjne zmiany w modelowych komórkach in vitro i in vivo pod wpływem chemioterapii i radioterapii - członek zespołu.
- 13) 2019-2020; Mini grant Rektora UJK - Analiza profilu ultrastrukturalnego egzosomów wyizolowanych z komórek raka głowy i szyi (RgiSz) eksponowanych na czynniki genotoksyczne - kierownik.

- 14) 2020/2021; Grant specjalny Rektora UJK przeznaczony na publikacje w czasopismach recenzowanych - kierownik.
- 15) 2020/2021; Mini grant Rektora UJK - Analiza zmian ultrastrukturalnych i biochemicznych w modelowych liniach komórkowych poddanych działaniu chlorku berberyny - kierownik.
- 16) 2021-2022;- Mini grant Rektora UJK - Wpływu kurcząt brojlerów różnych źródeł i poziomu selenu na zmiany morfologiczne tkanki mięśnia piersiowego - kierownik.
- 17) 2022-2023; Mini grant Rektora UJK - Ocena zmian morfologicznych w tkance mięśniowej serca myszy po iniekcji doksorubicyny w skojarzeniu z promieniowaniem jonizującym - kierownik.
- 18) 2023-2024; Mini grant Rektora UJK - Zmiany biochemiczne i morfologiczne w wątrobie kurcząt żywionych różnymi formami i poziomami selenu - kierownik.
- 19) 2024; Uzyskanie dofinansowania ze środków budżetu państwa w ramach programu „Nauka dla Społeczeństwa” na realizację projektu pt: „Opracowanie nanomateriału na bazie nanowłókien zmodyfikowanymi białkami antybakteryjnymi” - kierownik projektu.
Efektem realizacji badań związanych z tym projektem jest publikacja: Lasak M, **Łysek-Gładysińska M**, Lach K, Nirwan VP, Kuc-Ciepluch D, Sanchez-Nieves J, de la Mata FJ, Fahmi A, Ciepluch K. Electrospun Nanofibers for the Delivery of Endolysin/Dendronized Ag-NPs Complex Against *Pseudomonas aeruginosa*. Nanotechnol Sci Appl. 2025 Feb 18;18:57-70. doi: 10.2147/NSA.S498942.
- 20) 2023-2024; Kierownik Projektu Specjalnego przyznanego w celu odbycia wyjazd zagranicznego. Efektem realizacji projektu był 3 tygodniowy staż w National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, Waszyngton, USA, 06.09.2024-25.09.2024 (3 tygodnie).
- 21) 2024-2026; Mini grant Rektora UJK - Efekt oddziaływania promieniowania jonizującego na aktywność enzymów lizosomalnych i ultrastrukturę hepatocytów myszy - kierownik.

7.2 Pozostałe aktywności naukowe

W ramach współpracy z pracownikami Collegium Medicum Uniwersytetu Jana Kochanowskiego brałam udział w badaniach, celem których było wykazanie związku

między czasem trwania karmienia piersią, a częstością występowania zespołu metabolicznego (MetS) i jego składowych u kobiet w okresie okołomenopauzalnym. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy „Suliga E, Ciesla E, Gluszek-Osuch M, **Lysek-Gładysinska M**, Wawrzycka I, Gluszek S. „Breastfeeding and Prevalence of Metabolic Syndrome among Perimenopausal Women”. *Nutrients*. 2020 Sep 3;12(9):2691, doi: 10.3390/nu12092691. Wykazaliśmy, że całkowity czas karmienia piersią dłuższy niż 12 miesięcy znacząco zmniejszył ryzyko wystąpienia zespołu metabolicznego w badanej populacji. Dodatkowe analizy przeprowadzone w trzech kategoriach porodów wykazały, że najsilniejszy efekt ochronny przed zespołem metabolicznym stwierdzono w przypadku laktacji trwającej maksymalnie 18 miesięcy oraz u kobiet z co najmniej dwójką dzieci. Ponadto kobiety z więcej niż trójką dzieci miały niższe szanse na wzrost stężenia TG a te, które karmiły piersią przez 1–6 miesięcy, miały również niższe ryzyko otyłości brzusznej. Dlatego karmienie piersią może być zalecane w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia zespołu metabolicznego i jego składników w późniejszym życiu. Wsparcie ze strony pracowników służby zdrowia i interwencje wspierające laktację mogą znacząco wpłynąć na wskaźniki karmienia piersią.

W kolejnej pracy „Filipiak A, Chrapek M, Literacka E, Wawszczak M, Głuszek S, Majchrzak M, Wróbel G, **Lysek-Gładysińska M**, Gniadkowski M, Adamus-Białek W. „Pathogenic Factors Correlate With Antimicrobial Resistance Among Clinical *Proteus mirabilis* Strains”. *Front Microbiol*. 2020 Nov 25;11:57938, doi: 10.3389/fmicb.2020, przeprowadzono analizę właściwości patogennych wybranych grup klinicznych izolatów *P. mirabilis*, wrażliwych na antybiotyki i wielolekoopornych (MDR), zebranych ze szpitali w różnych regionach Polski. Szczepy zbadano na podstawie występowania genów wirulencji, produkcji ureazy i hemolizyny, tworzenia biofilmu oraz zdolności do namnażania się. Dodatkowo, szczepy scharakteryzowano na podstawie testu Dienes i wzorów wrażliwości na antybiotyki. Wykazano, że szczepy MDR częściej wykazują pokrewieństwo niż szczepy wrażliwe. Szczepy, które były w stanie utworzyć silniejszy biofilm, miały szersze profile oporności na leki przeciwdrobnoustrojowe. Stwierdzono również, że najsilniejszy wzrost korelował z wrażliwością na większość antybiotyków. Korelacje opisane w niniejszej pracy zachęcają do dalszych badań nad mechanizmami patogenności *P. mirabilis*.

7.3 Kursy i szkolenia

W ramach podnoszenia swoich kwalifikacji brałam udział w licznych szkoleniach:

- 1) Ukończone szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń, ich przeprowadzanie, wykonywanie procedur oraz uśmiercanie zwierząt wykorzystywanych w procedurach. Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych, PIWet, Puławy, 25 - 27 kwietnia 2006 r.
- 2) Ukończone szkolenie w Centrum Onkologii w Krakowie pt. „*Wybrane zagadnienia z diagnostyki biochemicznej chorób nowotworowych*”. Centrum Kształcenia Podyplomowego Fundacji Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej, 8 - 11 maja 2006 r.
- 3) Ukończone szkolenie w Klinice Chorób Metabolicznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pt. „*Postępy w zakresie patogenez, rozpoznawania, zapobiegania i leczenia powikłań cukrzycy*”. Centrum Kształcenia Podyplomowego Fundacji Rozwoju Diagnostyki Laboratoryjnej, 13–15 listopada 2006 r.
- 4) Udział w szkoleniu „*System finansowania badań naukowych oraz procesu wdrażania technologii*”, Kielce, 14 maja 2009 r.
- 5) Udział w szkoleniu „*Ochrona własności intelektualnej w Polsce i Unii Europejskiej*”, Kielce, 18 czerwca 2009 r.
- 6) Ukończony cykl seminariów „*Nauka dla biznesu – Uniwersytet inkubatorem komercjalizacji badań naukowych*”, obejmujący:
 - *Integracja środowisk społeczno-gospodarczych na rzecz innowacji – stan obecny i perspektywy*, Kielce, 4 grudnia 2008 r.
 - *Innowacyjne potrzeby przedsiębiorstw*, Kielce, 8 stycznia 2009 r.
 - *Usługi okołobiznesowe i transfer technologii w komercjalizacji badań naukowych*, Kielce, 12 marca 2009 r.
 - *Tworzenie warunków i instrumentów wspierających naukę i przedsiębiorstwa w komercjalizacji wiedzy*, Kielce, 23 kwietnia 2009 r.
- 7) Ukończone szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie i przeprowadzanie procedur oraz doświadczeń na zwierzętach, wykonujących procedury i uśmiercanie zwierząt wykorzystywanych w procedurach. Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych (PoLASA), 30 listopada – 4 grudnia 2015 r.

- 8) Wolontariat w Laboratorium Inżynierii Tkankowej i Banku Tkanek, Centrum Naukowo-Badawcze Artmedik Sp. z o.o., Kielce, lipiec–wrzesień 2020 r.
- 9) Udział w warsztatach „*Biotechnologia molekularna dla zdrowia*” organizowanych przez Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, 21–22 lutego 2012 r.
- 10) Udział w szkoleniu w ramach projektu „*Uniwersytet otwarty na potrzeby osób z niepełnosprawnościami*” – szkolenie dla kadry dydaktycznej

7.4 Członkostwa i pełnione funkcje

- 1) Członek Polskiego Towarzystwa Diagnostów Laboratoryjnych (PTDL) w latach 2005 - 2008.
- 2) Członek Stowarzyszenia na Rzecz Wspierania Badań nad Rakiem z siedzibą w Gliwicach, od 2013 r.
- 3) Członek Świętokrzyskiego Oddziału Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych od 2018 r.
- 4) Członek Polskiego Towarzystwa Badań Radiacyjnych od 2023 r.

7.5 Nagrody i wyróżnienia

- 1) Medal Brązowy za długoletnią służbę, przyznany w 2014r.
- 2) Nagroda indywidualna I stopnia Rektora Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach za wyróżniające osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2023/2024.
- 3) Nominacja Kapituły Redakcji „Echa Dnia” do tytułu *Osobowość Roku 2024* w kategorii Nauka.



PODPIS ZAUFANY
MAŁGORZATA
ŁYSEK-GLĄDYSIŃSKA
26.10.2025 15:25:09 GMT+1
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

.....
podpis