



Autoreferat

dr Wojciech Trybus

Zakład Biologii Medycznej, Instytut Biologii
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
ul. Uniwersytecka 7, 25-406 Kielce

Kielce, 2026

Spis treści:

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy oraz stopnie naukowe.....	3
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu.....	4
4. Omówienie osiągnięcia naukowego (art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.).....	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	4
4.2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe.....	4
4.3. Cel naukowy cyklu prac, główne wyniki badań oraz ich znaczenie dla rozwoju dyscypliny..	6
5. Informacja o istotnej aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej.....	26
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę....	27
6.1. Działalność dydaktyczna.....	27
6.2. Działalność organizacyjna.....	28
6.3. Działalność popularyzująca naukę.....	29
7. Pozostałe informacje dotyczące kariery zawodowej.....	30
7.1. Pozostałe osiągnięcia naukowe niewchodzące w skład cyklu habilitacyjnego.....	30
7.2. Rozwój kierunków badawczych i współpraca naukowa.....	32
7.3. Plany badawcze i perspektywy dalszego rozwoju naukowego.....	35

1. Imię i nazwisko

Wojciech Trybus

2. Posiadane dyplomy oraz stopnie naukowe.**Stopień doktora nauk biologicznych**

Stopień uzyskany w dniu 17 września 2015 r. na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym (obecnie Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych) Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

Rozprawa przygotowana w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej (obecnie Zakład Biologii Medycznej) Instytutu Biologii.

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Efekty działania wybranych antrachinonów na komórki prawidłowe i nowotworowe”. Praca z wyróżnieniem.

Promotor rozprawy: dr hab. n. med. Teodora Król, prof. UJK

Recenzenci rozprawy: prof. zw. dr hab. Henryk Lach, dr hab. Halina Zaporowska, prof. KUL.

Tytuł zawodowy magistra

Tytuł zawodowy magistra uzyskany z wynikiem bardzo dobrym 28 czerwca 2005 r. na Akademii Świętokrzyskiej im. Jana Kochanowskiego w Kielcach, kierunek: biologia; studia uzupełniające magisterskie (2003-2005).

Tytuł pracy: „Wpływ egzogennej melatoniny na procesy degradacyjne w komórkach wątroby myszy”.

Promotor pracy: dr hab. n. med. Teodora Król, prof. UJK

Recenzent: prof. zw. dr hab. Henryk Lach

Tytuł zawodowy licencjata

Tytuł zawodowy licencjata uzyskany z wynikiem bardzo dobrym 24 czerwca 2003 r. na Akademii Świętokrzyskiej im. Jana Kochanowskiego w Kielcach, kierunek studiów: biologia (2000-2003).

Tytuł pracy: „Wpływ melatoniny i dehydroepiandrosteronu na aktywność proteolityczną w wybranych tkankach ssaków”.

Promotor pracy: dr hab. n. med. Teodora Król, prof. UJK

Recenzent: prof. zw. dr hab. Henryk Lach

Dyplom Studium Pedagogicznego

W latach 2000-2003 ukończyłem Studium Pedagogiczne na Akademii Świętokrzyskiej im. Jana Kochanowskiego w Kielcach uzyskując kwalifikacje pedagogiczne do pracy nauczycielskiej.

Studia podyplomowe

W ramach projektu "Nauka dla Biznesu-Uniwersytet inkubatorem komercjalizacji badań naukowych" ukończyłem studia podyplomowe Menadżer Komercjalizacji i Transferu Wiedzy. Dyplom ukończenia tych studiów na UJK otrzymałem 22 czerwca 2009 r.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu.

2005 rok

Zatrudnienie w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej Instytutu Biologii Akademii Świętokrzyskiej w Kielcach na stanowisku starszego referenta technicznego.

2006 rok

Zatrudnienie w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej Instytutu Biologii Akademii Świętokrzyskiej w Kielcach na stanowisku starszego biologa.

2009-2015 rok

Zatrudnienie w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej Instytutu Biologii UJK w Kielcach na stanowisku specjalisty naukowo-technicznego.

W latach 2010-2012

Oddelegowanie (0,35 etatu)-praca wykonywana dla projektu „Rozbudowa Infrastruktury Dydaktycznej Uniwersytetu Humanistyczno-Przyrodniczego Jana Kochanowskiego w Kielcach-II etap budowa Campusu Uczelnianego”.

2016 rok

Zatrudnienie w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej Instytutu Biologii UJK w Kielcach na stanowisku asystenta ze stopniem naukowym doktora.

2017 rok-obecnie

Zatrudnienie w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej (obecnie Zakład Biologii Medycznej) Instytutu Biologii UJK w Kielcach na stanowisku adiunkta.

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r.- Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.

Wielokierunkowe mechanizmy przeciwnowotworowego działania antrachinonów w modelach komórkowych nowotworów *in vitro*.

4.2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe.

Współczynnik wpływu impact factor (IF) podano według Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania pracy oraz rokiem bieżącym. Punkty MNiSW podano według punktacji z roku opublikowania oraz zgodnie z aktualnym wykazem czasopism z 2024 roku (Komunikat Ministra Nauki z dnia 5 stycznia 2024 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych). Liczbę cytowań podano wg bazy Web of Science na dzień 22.04.2026.

P1. Wojciech Trybus*, Teodora Król, Ewa Trybus, Anna Stachurska. Phycion Induces Potential Anticancer Effects in Cervical Cancer Cells. Cells. 2021 Aug 8;10(8):2029.

doi: 10.3390/ cells10082029.

IF₂₀₂₁=7,666; punkty MNI_{SW}₂₀₂₁=140, IF₂₀₂₄= 5.2, MNI_{SW}₂₀₂₄=140

Cytowania Web of Science-30

P2. Wojciech Trybus*, Teodora Król, Ewa Trybus, Anna Stachurska, Grzegorz Król. The potential antitumor effect of chrysophanol in relation to cervical cancer cells. J Cell Biochem. 2021 Jun;122(6):639-652. doi: 10.1002/jcb.29891.

IF₂₀₂₁=4.481; punkty MNI_{SW}₂₀₂₁=100, IF₂₀₂₄=2.8, MNI_{SW}₂₀₂₄=100

Cytowania Web of Science-19

P3. Wojciech Trybus*, Ewa Trybus, Teodora Król. Emodin Sensitizes Cervical Cancer Cells to Vinblastine by Inducing Apoptosis and Mitotic Death. Int J Mol Sci. 2022 Aug; 23(15): 8510. doi: 10.3390/ijms23158510.

IF₂₀₂₂=5.6; punkty MNI_{SW}₂₀₂₂=140, IF₂₀₂₄= 4.9, MNI_{SW}₂₀₂₄=140

Cytowania-Web of Science-13

P4. Wojciech Trybus*, Teodora Król, Ewa Trybus. Rhein induces changes in the lysosomal compartment of HeLa cells. J Cell Biochem. 2022 Sep;123(9):1506-1524. doi: 10.1002/jcb.30311.

IF₂₀₂₂=4.0; punkty MNI_{SW}₂₀₂₂=100, IF₂₀₂₄=2.8, MNI_{SW}₂₀₂₄=100

Cytowania Web of Science-7

P5. Wojciech Trybus*, Ewa Trybus, Teodora Król. Lysosomes as a Target of Anticancer Therapy, Int J Mol Sci. 2023 Jan 22;24(3):2176. doi: 10.3390/ijms24032176.

IF₂₀₂₃=4.9; punkty MNI_{SW}₂₀₂₃=140, IF₂₀₂₄=4.9, MNI_{SW}₂₀₂₄=140

Cytowania Web of Science-45

P6. Wojciech Trybus*, Ewa Trybus, Mateusz Obarzanowski, Teodora Król. Quinalizarin induces autophagy, apoptosis and mitotic catastrophe in cervical and prostate cancer cells. Sci Rep. 2025; 15: 5252. doi: 10.1038/s41598-025-89847-8.

IF₂₀₂₄=3.9; punkty MNI_{SW}₂₀₂₄=140

Cytowania Web of Science-1

P7. Wojciech Trybus*, Ewa Trybus, Teodora Król. Alizarin induces a multidirectional mechanism of anti-cancer action in cervical cancer and prostate cancer cells.

Sci Rep. 2026; 16: 12843. doi: 10.1038/s41598-026-43011-y.

IF₂₀₂₄=3.9; punkty MNiSW₂₀₂₄=140

Cytowania Web of Science-0

*prace w których jestem autorem korespondencyjnym

Pełne wersja artykułów wraz z oświadczeniami współautorów znajdują się w załączniku nr 4.

- Łączna wartość wskaźnika IF cyklu publikacji stanowiącego osiągnięcie naukowe: 34.447
- Łączna wartość punktów MNiSW wg punktacji z roku opublikowania pracy: 900
- Łączna liczba punktów MNiSW wg aktualnego wykazu czasopism z dnia 05 stycznia 2024: 900
- Liczba cytowań-Web of Science: 107

4.3. Cel naukowy cyklu prac, główne wyniki badań oraz ich znaczenie dla rozwoju dyscypliny.

Przedstawiony cykl sześciu oryginalnych prac badawczych oraz jednej pracy przeglądowej, opublikowanych w latach 2021-2026, stanowi spójny program badawczy poświęcony analizie mechanizmów działania wybranych antrachinonów w komórkach raka szyjki macicy oraz raka prostaty w modelach *in vitro*.

Wprowadzenie

Pomimo znacznego postępu w diagnostyce i rozwoju różnych terapii leczenia nowotwory złośliwe pozostają drugą po chorobach układu krążenia przyczyną zachorowalności i śmiertelności na świecie. Rak szyjki macicy oraz rak prostaty należą do najczęściej występujących nowotworów odpowiednio u kobiet i mężczyzn. W przypadku raka szyjki macicy kluczową rolę w patogenezie odgrywa zakażenie wirusem HPV, natomiast rak prostaty, szczególnie w postaci odpornej na kastrację, cechuje się wysoką zdolnością do adaptacji oraz aktywacją alternatywnych szlaków sygnałowych wspierających proliferację i przeżycie komórek. W obu typach nowotworów rozwój oporności na leczenie stanowi istotne ograniczenie skuteczności terapii.

Mechanizmy oporności obejmują zaburzenia regulacji apoptozy, aktywację alternatywnych szlaków przeżycia komórkowego oraz adaptacyjne zmiany metaboliczne umożliwiające komórkom nowotworowym przetrwanie w warunkach stresu.

Apoptoza, która stanowi podstawowy mechanizm eliminacji komórek nowotworowych w odpowiedzi na leczenie przeciwnowotworowe, była centralnym punktem prowadzonych przeze mnie badań. Zaburzenia regulacji tego procesu należą do najważniejszych mechanizmów

leżących u podłoża oporności terapeutycznej. Szczególne znaczenie przypisuje się nadekspresji białek antyapoptotycznych z rodziny Bcl-2, które stabilizują integralność mitochondriów i hamują aktywację kaspaz, umożliwiając komórkom nowotworowym uniknięcie śmierci programowanej. Obserwowany w odpowiedzi na leczenie wzrost poziomu Bcl-2 sprzyja selekcji komórek opornych, dlatego inhibitory tego białka stanowią istotny element współczesnych terapii celowanych. W tym kontekście uzasadnione było zbadanie, czy antrachinony modulują regulację apoptozy oraz czy mogą zwiększać wrażliwość komórek nowotworowych na inhibitory Bcl-2, co przedstawiono na przykładzie badanej alizaryny.

W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na rolę alternatywnych form śmierci komórkowej w terapii nowotworów. Oprócz apoptozy istotne znaczenie mogą mieć autofagia, lizosomalna śmierć komórkowa oraz katastrofa mitotyczna, procesy ściśle powiązane z funkcjonowaniem mitochondriów, lizosomów oraz kluczowych szlaków sygnałowych takich jak PI3K/AKT/mTOR, czy MAPK/ERK. Zaburzenia w obrębie tych szlaków stanowią częsty mechanizm adaptacyjny komórek nowotworowych, który umożliwia im przetrwanie w warunkach stresu oksydacyjnego i uszkodzeń DNA.

W związku z powyższym istotnym kierunkiem badań jest poszukiwanie nowych związków zdolnych do jednoczesnego oddziaływania na wiele mechanizmów regulujących przeżycie i śmierć komórki nowotworowej, a takimi mogą być antrachinony stanowiące podstawę moich wieloletnich badań.

Celem przedstawionego cyklu badań było opracowanie i eksperymentalna weryfikacja koncepcji, zgodnie z którą wybrane antrachinony mogą stanowić wielokierunkowe modulatory przeżycia komórek nowotworowych poprzez jednoczesne oddziaływanie na kluczowe organelle komórkowe oraz mechanizmy regulujące różne formy śmierci komórkowej.

Punktem wyjścia badań był problem narastającej oporności nowotworów na klasyczne terapie przeciwnowotworowe, w których dominującym mechanizmem eliminacji komórek nowotworowych jest apoptoza.

Analiza szlaku mitochondrialnego apoptozy stanowiła zatem fundament realizowanego programu badawczego, który w kolejnych etapach został rozszerzony o ocenę mechanizmów odpowiedzialnych za oporność komórek nowotworowych na śmierć apoptotyczną oraz o identyfikację alternatywnych dróg eliminacji komórek.

Głównym założeniem mojego programu badawczego było zweryfikowanie hipotezy, że antrachinony, poza aktywacją mitochondrialnego szlaku apoptozy, mogą modulować mechanizmy warunkujące wrażliwość komórek nowotworowych na śmierć komórkową, a tym

samym zwiększać skuteczność ich eliminacji, zwłaszcza w komórkach o wysokim potencjale adaptacyjnym.

W ramach realizowanego celu dążyłem do:

- określenia stopnia indukcji apoptozy przez antrachinony, ze szczególnym uwzględnieniem roli stresu oksydacyjnego, odpowiedzi na uszkodzenia DNA oraz białek regulatorowych.
- zbadania, czy związki te modulują funkcję kluczowych organelli komórkowych tj. mitochondriów i lizosomów prowadząc do zaburzenia homeostazy komórkowej,
- identyfikacji udziału alternatywnych form śmierci komórkowej, w tym autofagii, katastrofy mitotycznej oraz lizosomalnej śmierci komórkowej, jako mechanizmów potencjalnie istotnych w kontekście komórek opornych na apoptozę,
- określenia wpływu antrachinonów na regulację cyklu komórkowego, proliferację, migrację i potencjał klonogeny komórek nowotworowych,
- oceny, czy antrachinony mogą pełnić rolę modulatorów wrażliwości komórek nowotworowych na leczenie, poprzez nasilenie efektu wybranych leków przeciwnowotworowych oraz poprzez modulację procesów autofagowych.

Celem nadrzędnym realizowanego programu badawczego było zatem wykazanie, że antrachinony nie działają wyłącznie jako klasyczne cytotoksyczne czynniki indukujące apoptozę, lecz jako związki zdolne do równoczesnej modulacji wielu mechanizmów regulujących los komórki nowotworowej. Takie podejście wpisuje się w aktualne strategie terapeutyczne ukierunkowane na przełamywanie oporności nowotworów poprzez jednoczesne oddziaływanie na kilka współzależnych szlaków regulacyjnych.

Antrachinony stanowią klasę policyklicznych związków aromatycznych opartych na szkielecie 9,10-antracenedionu, zawierającym dwie grupy karbonylowe w pozycjach 9 i 10 centralnego pierścienia. Planarna struktura oraz obecność układu sprzężonych wiązań π warunkują ich właściwości redoksove oraz zdolność do oddziaływania z makrocząsteczkami biologicznymi. Ugrupowanie chinonowe umożliwia udział w reakcjach przeniesienia elektronów oraz generowanie reaktywnych form tlenu, co ma istotne znaczenie dla ich aktywności biologicznej (Sharma i Kaur, 2025).

Zróznicowanie podstawników (hydroksylowych, metoksyłowych, metylowych, karboksylowych) w obrębie rdzenia 9,10-antracenedionu prowadzi do powstania licznych pochodnych o odmiennych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych. Nawet niewielkie modyfikacje strukturalne mogą istotnie wpływać na zdolność oddziaływania z białkami regulatorowymi, kwasami nukleinowymi, czy błonami komórkowymi, co czyni tę grupę

związków szczególnie interesującą z punktu widzenia badań nad zależnością struktura-aktywność (Pandey i Kumar, 2025).

Antrachinony występują jako metabolity wtórne wielu roślin (rodzina *Polygonaceae*, *Rhamnaceae* i *Juglandaceae*), grzybów i mikroorganizmów (Duran i Beydemir, 2024; Sharma i Kaur, 2025). Do najlepiej poznanych przedstawicieli należą m.in. emodyna oraz aloe-emodyna. Antrachinony wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwirusowe, neuroprotektoryjne oraz przeciwnowotworowe (Merino i wsp., 2025; Sharma i Kaur, 2025) związane z modulacją proliferacji komórek, indukcją apoptozy i autofagii, generowaniem stresu oksydacyjnego oraz wpływem na kluczowe szlaki sygnałowe.

Ich wielokierunkowy mechanizm działania oraz zdolność oddziaływania zarówno na poziomie struktur subkomórkowych, jak i głównych szlaków regulacyjnych, uzasadniają prowadzenie badań eksperymentalnych ukierunkowanych na ocenę ich potencjału jako samodzielnych czynników przeciwnowotworowych lub komponentów terapii skojarzonej.

Jednym z analizowanych mechanizmów ich działania była katastrofa mitotyczna-proces eliminacji komórek niezdolnych do prawidłowej mitozy (Mc Gee, 2015), która indukowana jest m.in. przez uszkodzenia DNA, dysfunkcję aparatu mitotycznego oraz zaburzenia punktów kontrolnych cyklu komórkowego. Komórki ulegające katastrofie mitotycznej charakteryzują się obecnością makro- i mikronukleacji będących konsekwencją nieprawidłowej segregacji chromosomów (Sazonova i wsp., 2021; Vitale i wsp., 2011), a mechanizm ten może być indukowany stosunkowo niskimi dawkami czynników terapeutycznych, co potencjalnie ogranicza toksyczność ogólnoustrojową (Li i wsp., 2020). Stanowi to istotną zaletę dla terapii onkologicznej, gdyż wysokie stężenia chemioterapeutyków są często niezbędne do indukcji apoptozy komórek nowotworowych. Wdrożenie w terapii onkologicznej leków przeciwnowotworowych indukujących śmierć mitotyczną komórek nowotworowych może być nową strategią leczenia przeciwnowotworowego (Li i wsp., 2020).

Istotną część badań poświęciłem analizie wpływu wybranych antrachinonów na przedział lizosomalny i autofagię, proces degradacji uszkodzonych organelli i nieprawidłowo sfałdowanych białek odgrywający kluczową rolę w adaptacji komórkowej na działanie czynników stresowych (Gómez-Virgilio i wsp., 2022). Komórki nowotworowe wykazują aktywację odmiennych mechanizmów adaptacji i wzrostu, nawet w odpowiedzi na stres, dlatego obecnie zwraca się szczególną uwagę na podwójną rolę autofagii w nowotworach, która działa jak „miecz obosieczny”. Autofagia stanowi mechanizm supresji nowotworu, ale również może wspierać przeżycie komórek w warunkach stresu i zwiększać oporność na leczenie (Chavez-Dominguez i wsp., 2020). Z tego względu podejmuje się próby terapii skojarzonej chemioterapeutyków z inhibitorami autofagii, która hamuje wzrost guza i nasila śmierć komórek (Yang i wsp., 2011).

Stąd kolejnym etapem moich badań była próba łączenia antrachinonów z chlorochiną-inhibitorem autofagii zaburzającym fuzję autofagosomów z lizosomami, co blokuje degradację produktów przemiany materii w komórkach i prowadzi do ich kumulacji. Indukuje to stres komórkowy, a w konsekwencji może prowadzić do śmierci komórki (Liu i wsp., 2024).

Kolejnym analizowanym mechanizmem działania antrachinonów była lizosomalna śmierć komórki związana z permeabilizacją błony lizosomalnej (LMP) oraz uwolnieniem do cytoplazmy katepsyn, które aktywują wewnątrzkomórkowe kaskady prowadzące do śmierci komórki zależnej od lizosomów (Serrano-Puebla i Boya, 2018). Różnorodne czynniki indukujące przepuszczalność błony lizosomalnej oraz mechanizmy regulujące lizosomalną śmierć komórki zostały przeze mnie szczegółowo omówione w artykule przeglądowym (poz. P5). Kumulacja związków przeciwnowotworowych w lizosomach prowadzi do zaburzenia ich homeostazy oraz destabilizacji błony lizosomalnej, co może inicjować kaskady śmierci komórkowej zależnej od lizosomów. W świetle przedstawionych danych lizosomy należy traktować jako istotny i perspektywiczny cel terapeutyczny, zwłaszcza w nowotworach o wysokim potencjale inwazyjnym. Organelle te uczestniczą bowiem w regulacji mikrośrodowiska guza, degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, modulacji odpowiedzi komórek na stres oraz w procesach sprzyjających wzrostowi i inwazji nowotworu (Sutherland i wsp., 2023; Jaccard i Ho, 2020). Ukierunkowanie terapii na destabilizację przedziału lizosomalnego może zatem stanowić racjonalną strategię zwiększającą skuteczność leczenia przeciwnowotworowego.

Poniżej prezentuję sześć oryginalnych prac badawczych oraz jedną pracę przeglądową, składających się na moje osiągnięcie naukowe z przedstawieniem celów i wyników badań, co stanowi spójny program badawczy poświęcony analizie mechanizmów działania wybranych antrachinonów w komórkach raka szyjki macicy oraz raka prostaty w modelach *in vitro*.

P1. Wojciech Trybus, Teodora Król, Ewa Trybus, Anna Stachurska. Physcion Induces Potential Anticancer Effects in Cervical Cancer Cells. *Cells*. 2021 Aug 8;10(8):2029. doi: 10.3390/cells10082029.

Celem pracy było określenie przeciwnowotworowego potencjału fisjonu w komórkach raka szyjki macicy oraz identyfikacja mechanizmów odpowiedzialnych za indukcję śmierci komórkowej. Fisjon posiada właściwości uwrażliwiające komórki nowotworowe na działanie chemioterapeutyków, poprzez zwiększenie apoptozy i zahamowanie wzrostu komórek, co potwierdzają m.in. badania Pan'a i wsp., 2023, pokazujące zwiększoną wrażliwość na sorafenib, lek stosowany w leczeniu raka wątrobowokomórkowego (HCC).

Do badań wybrałem komórki raka szyjki macicy (linia HeLa) ponieważ jest to ludzka linia komórkowa szeroko stosowana w badaniach nad odkrywaniem leków, szczególnie przy opracowywaniu nowych terapii przeciwnowotworowych.

Żywotność komórek oceniano metodą kolorymetryczną (test MTT), natomiast zmiany w cyklu komórkowym oraz rodzaj indukowanej śmierci komórkowej (poziom aktywności kaspaz oraz ekspresji białka Bcl-2) analizowano przy użyciu cytometrii przepływowej.

Zastosowano barwienie aneksyną V/PI, pomiar potencjału błony mitochondrialnej oraz oznaczenie poziomu reaktywnych form tlenu.

Jak wykazano w prezentowanych badaniach działanie fiscjonu związane jest z jego wpływem na mitochondria-organelle zaangażowane w programowaną śmierć komórki typu I. Świadczy o tym spadek potencjału błony mitochondrialnej, a także obniżenie intensywności emisji rodaminy 123 w znakowanych mitochondriach. Ujawnione zmiany ultrastrukturalne w badanych komórkach nowotworowych wykazały, że wraz ze wzrostem stężenia następuje obrzęk mitochondriów z widocznym uszkodzeniem błon mitochondrialnych. W cytoplazmie komórek pojawiały się także megamitochondria, a zmiany te korelowały ze wzrostem oznaczonych reaktywnych form tlenu.

Działanie prooksydacyjne fiscjonu jest godne uwagi ponieważ cytostatyki stosowane w terapii onkologicznej, w tym związki pochodzenia roślinnego, często działają cytotoksycznie na komórki nowotworowe produkując wolne rodniki, co przyczynia się do uszkodzenia błon w różnych przedziałach komórkowych, w tym w mitochondriach. Prowadzi to do zwiększania poziomu stresu oksydacyjnego, a w konsekwencji do aktywacji apoptozy i autofagii w komórkach nowotworowych. Wg danych literaturowych współczesne terapie onkologiczne opierają się na strategiach z wykorzystaniem związków prooksydacyjnych ponieważ ich działanie przyspiesza akumulację ROS, zaburza homeostazę redoks, prowadząc w konsekwencji do uszkodzenia komórek nowotworowych (Kim i wsp., 2019).

Oprócz szerokiego spektrum działania na komórki raka szyjki macicy, fiscjon działa również hamująco na progresję cyklu komórkowego i zatrzymuje komórki w fazie G0/G1 oraz obniża indeks mitotyczny.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że fiscjon zależnie od stężenia wpływa na apoptozę, autofagię i cykl komórkowy, a możliwość modyfikacji tych niezmiennie istotnych dla komórek procesów może mieć istotne znaczenie w rozwoju terapii antynowotworowej.

Praca ta stanowi pierwszy element przedstawionego cyklu publikacji, wyznaczający kierunek dalszych badań nad mechanizmami działania antrachinonów w komórkach nowotworowych.

P2. Wojciech Trybus, Teodora Król, Ewa Trybus, Anna Stachurska, Grzegorz Król. The potential antitumor effect of chrysophanol in relation to cervical cancer cells. *J Cell Biochem.* 2021 Jun;122(6):639-652. doi: 10.1002/jcb.29891.

Wyniki otrzymane w powyższej pracy (poz. P1) skłoniły mnie do poszerzenia badań nad wpływem innego antrachinonu na komórki raka szyjki macicy jakim jest chryzofanol posiadający udokumentowane właściwości farmakologiczne obejmujące działanie przeciwnowotworowe, hepatoprotekcyjne, neuroprotekcyjne, przeciwzapalne oraz przeciwdrobnoustrojowe (Prateeksha i wsp., 2019).

Badania te stanowiły rozwinięcie wstępnych obserwacji dotyczących cytotoksyczności antrachinonów i miały na celu określenie, czy działanie chryzofanolu obejmuje modulację kluczowych regulatorów apoptozy oraz cyklu komórkowego.

Eksperymenty przeprowadzono na liniach komórkowych raka szyjki macicy hodowanych w warunkach 2D. Żywotność komórek oceniano przy użyciu testu kolorymetrycznego, umożliwiającego analizę efektu cytotoksycznego chryzofanolu w zależności od dawki i czasu inkubacji. W celu określenia rodzaju indukowanej śmierci komórkowej zastosowano analizę cytometryczną z wykorzystaniem barwienia aneksyna V-FITC/PI, co pozwoliło na rozróżnienie komórek żywych, we wczesnej i późnej fazie apoptozy oraz komórek martwiczych. Dodatkowo oceniono rozkład faz cyklu komórkowego metodą cytometrii przepływowej. Analizowano także poziom białek pro- i antyapoptotycznych oraz aktywację kaspaz wykonawczych, co umożliwiło określenie udziału mitochondrialnego szlaku apoptozy. Identyfikowano również zmiany potencjału błony mitochondrialnej oraz poziom reaktywnych form tlenu, wskazujące na udział stresu oksydacyjnego w mechanizmie działania badanego związku.

Podobnie jak w przypadku fiscjonu wykazano zależne od stężenia zmiany dotyczące struktury mitochondriów, które związane były ze wzrostem poziomu wolnych rodników generowanych przez chryzofanol. W analizie ultrastrukturalnej wykazano obecność komórek z obrzmiałymi mitochondriami, przejaśnioną macierzą oraz skróconymi i uszkodzonymi grzebieniami mitochondrialnymi, a niektóre mitochondria charakteryzowały się uszkodzeniem błony z widocznym wylaniem się zawartości. Obserwowano także komórki z charakterystycznymi dla stresu oksydacyjnego megamitochondriami.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono nowym grupom związków przeciwnowotworowych, które indukują śmierć komórek poprzez dysfunkcję mitochondriów, które są miejscem kierowania leków przeciwnowotworowych. Ponieważ mitochondria pełnią kluczową rolę zarówno w proliferacji, jak i śmierci komórkowej, dlatego uznawane są za ważny cel terapii przeciwnowotworowej (Battogtokh i wsp., 2018 a i b).

Do związków ukierunkowanych na mitochondria zalicza się chemioterapeutyki stosowane w onkologii takie jak doksorubicyna, cisplatyna i bortezomib (Gorini i wsp., 2018) oraz leki antymitotyczne, m.in. paklitaksel i winblastyna (Canta i wsp., 2015; Cirrincione i wsp., 2020). Związki te przyczyniają się do uszkodzenia mitochondriów podobnie jak chryzofanol poprzez generowanie ROS uszkadzających łańcuch oddechowy oraz mtDNA, co indukuje apoptozę zależną od szlaku mitochondrialnego. Znaczący stopień uszkodzenia mitochondriów obserwowano także w barwieniu fluorescencyjnym, gdzie wykazano zależność od stężenia chryzofanolu wygaszenie fluorescencji rodaminy 123 (znacznika mitochondriów). Otrzymane wyniki korelowały z wysokim poziomem kaspaz 3/7 oraz wzrostem poziomu fosforylacji antyapoptotycznego białka Bcl-2. W najwyższym stężeniu (300 μ M) w barwieniu DAPI, obserwowano liczne komórki z fragmentacją jądra komórkowego, co korelowało z wykazaną w cytometrii przepływowej zwiększoną liczbą komórek z nasilonym poziomem fosforylacji H2A.X i ATM, a wykazana ich podwójna aktywacja świadczyła o dwuniciowym pęknięciu DNA (DSBs). Zaobserwowano także zaburzenie cyklu komórkowego, obejmujące zatrzymanie komórek w określonej fazie cyklu, co korelowało z zahamowaniem proliferacji.

Wykazano, że chryzofanol indukuje wzrost odsetka komórek apoptotycznych, przy jednoczesnym ograniczeniu udziału procesów nekrotycznych, co wskazuje na aktywację kontrolowanego procesu śmierci komórkowej.

W kontekście całego cyklu badań praca ta miała istotne znaczenie, ponieważ potwierdziła, że **antrachinony nie działają wyłącznie jako nieswoiste czynniki cytotoksyczne, lecz aktywują precyzyjnie regulowane mechanizmy prowadzące do apoptozy oraz zahamowania proliferacji komórek.** Uzyskane dane stanowiły podstawę do dalszych badań nad alternatywnymi formami śmierci komórkowej oraz możliwością wykorzystania antrachinonów w terapiach skojarzonych, co zostało ocenione w kolejnej prezentowanej w cyklu pracy.

P3. Wojciech Trybus, Ewa Trybus, Teodora Król. Emodin Sensitizes Cervical Cancer Cells to Vinblastine by Inducing Apoptosis and Mitotic Death. Int J Mol Sci. 2022 Aug; 23(15): 8510. doi: 10.3390/ijms23158510.

Inspiracją do dalszych badań nad antrachinonami i napisania niniejszego manuskryptu było duże zainteresowanie w ostatnich latach doniesieniami dotyczącymi łączenia nowych związków pochodzenia roślinnego z różnymi cytostatykami stosowanymi w terapii nowotworowej w celu zwiększenia skuteczności ich działania.

W badaniach zastosowałem emodynę, ponieważ jak wykazałem we wcześniejszych badaniach (poz. P11, P16), posiada ona wysoką cytotoksyczność w stosunku do komórek nowotworowych, a jak podaje literatura to emodyna jest jednym z antrachinonów uwrażliwiających komórki

nowotworowe na chemioterapeutyki takie jak paclitaksel (Li i wsp., 2009), gemcytabina (Liu i wsp., 2012), czy sorafenib (Kim i wsp., 2018). Emodyna jest antrachinonem, który ma ogromny potencjał, aby stać się obiecującą opcją terapeutyczną w przypadku leczenia zakażeń bakteryjnych, wirusowych, zaburzeń endokrynologicznych, czy leczenia nowotworów złośliwych (Zheng i wsp., 2021).

Celem pracy było więc określenie, czy emodyna może modulować skuteczność klasycznego leku antymitotycznego poprzez jednoczesne oddziaływanie na różne mechanizmy śmierci komórkowej. Badania te stanowiły rozwinięcie wcześniejszych obserwacji dotyczących indukcji apoptozy przez antrachinony i miały na celu ocenę, czy związki te mogą wzmacniać efekt terapeutyczny poprzez indukcję dodatkowych form śmierci komórkowej, w szczególności katastrofy mitotycznej.

Zmiany morfologiczne charakterystyczne dla katastrofy mitotycznej analizowano przy użyciu mikroskopii fluorescencyjnej, konfokalnej i elektronowej. Metodą cytometryczną ocenilem poziom apoptozy, aktywności kaspaz 3/7, reaktywnych form tlenu, depolaryzacji błony mitochondrialnej, poziom fosforylacji białka Bcl-2, cyklu komórkowego oraz uszkodzenia DNA.

Badania wykazały, że zastosowanie antrachinonu w skojarzeniu z lekiem antymitotycznym prowadzi do istotnego nasilenia efektu cytotoksycznego w porównaniu z monoterapią. Analizy cytometryczne potwierdziły wzrost odsetka komórek apoptotycznych, czemu towarzyszyła zwiększona aktywność kaspaz 3/7 oraz obniżenie poziomu fosforylacji białka Bcl-2. Jednocześnie zaobserwowano aktywację kinazy ATM, wskazującą na nasiloną odpowiedź na uszkodzenia DNA. Badania mikroskopowe ujawniły obecność licznych nieprawidłowości mitotycznych, w tym komórek wielojądrzastych i mikrojąder, co jednoznacznie wskazuje na indukcję katastrofy mitotycznej.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że antrachinon nie tylko indukuje apoptozę, lecz także wzmacnia działanie leku antymitotycznego poprzez aktywację dodatkowych mechanizmów prowadzących do eliminacji komórek nowotworowych. Współwystępowanie apoptozy oraz katastrofy mitotycznej wskazuje na wielokierunkowy charakter odpowiedzi komórkowej, a także zwiększa skuteczność eliminacji komórek opornych na pojedynczy mechanizm działania.

W kontekście całego cyklu badań praca ta wprowadziła istotny element koncepcyjny, polegający na wykorzystaniu antrachinonów jako potencjalnych modulatorów terapii skojarzonej. Wykazanie synergistycznego działania z lekiem antymitotycznym stanowiło podstawę do dalszych badań nad łączeniem antrachinonów z innymi związkami o odmiennych mechanizmach działania oraz do analizy ich wpływu na alternatywne formy śmierci komórkowej.

P4. Wojciech Trybus, Teodora Król, Ewa Trybus. Rhein induces changes in the lysosomal compartment of HeLa cells. J Cell Biochem. 2022 Sep;123(9):1506-1524.
doi: 10.1002/jcb.30311.

Celem pracy była szczegółowa analiza wpływu antrachinonu na układ lizosomalny komórek raka szyjki macicy oraz ocena, czy zaburzenie integralności lizosomów może stanowić alternatywny mechanizm indukcji śmierci komórkowej. Badania te stanowiły rozwinięcie wcześniejszych obserwacji dotyczących mitochondrialnego szlaku apoptozy i miały na celu ustalenie, czy działanie antrachinonów obejmuje również inne przedziały komórkowe kluczowe dla przeżycia komórek nowotworowych.

Komórki nowotworowe charakteryzują się zmianami w lizosomach, które mogą być wykorzystane w celu zwiększenia wrażliwości tych komórek na czynniki promujące lizosomalną śmierć komórki (Serrano-Puebla i Boya, 2018).

W prezentowanym manuskrypcie skupiłem uwagę na reinie stosowanej od ponad 1000 lat w medycynie chińskiej (Zhou i wsp., 2015). Związek jest aktywnym metabolitem diacereiny (lek stosowany w chorobie zwyrodnieniowej stawów) (Pavelka i wsp., 2016), posiadającym właściwości przeciwwirusowe (silny inhibitor SARS-CoV-2) (de Oliveira, 2020), przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, neuroprotekcyjne i przeciwutleniające (Fu i wsp., 2024). W kontekście moich badań wybór reiny wynikał z faktu, że posiada ona właściwości lipofilne dzięki którym ma możliwość kumulacji w lizosomach.

Dodatkowym celem badań było określenie łącznego działania reiny z chlorochiną-późnym inhibitorem autofagii, co wpisuje się w strategię przełamывania chemiooporności komórek nowotworowych poprzez łączenie związków lizosomotropowych z ukierunkowanymi modulatorami autofagii.

Zmiany w układzie lizosomalnym komórek linii HeLa identyfikowano poprzez pomiar aktywności białka LC3-II metodą cytometryczną, a ocenę przepuszczalności błony lizosomalnej (LMP), tj. zdolność reiny do uszkodzenia błon lizosomalnych znakując fluorescencyjnie lizosomy oranżem akrydyny oraz poprzez ocenę aktywności katepsyny D i L we frakcjach lizosomalnych i pozalizosomalnych. Enzymy te przenikając przez błonę lizosomalną do cytozolu aktywują szlaki konsekwentnie prowadzące do lizosomalnej śmierci komórkowej (Bi i wsp., 2025). Obserwowane zmiany w układzie lizosomalnym poparto analizą ultrastrukturalną, uznawaną za „złoty standard” w obrazowaniu procesów autofagowych, umożliwiającą ocenę integralności autofagosomów, liczby i objętości pęcherzyków autofagicznych oraz interakcji autofagosom–lizosom (Chang i wsp., 2024). **Wykazano, że reina indukuje nasilone procesy degradacyjne, potwierdzone wzrostem liczby lizosomów pierwotnych, autofagosomów oraz autofagolizosomów.**

Jednocześnie stwierdzono, że reina w sposób zależny od stężenia wpływa na przepuszczalność błony lizosomalnej, co przejawiało się wygaszeniem fluorescencji oranżu akrydyny. Zmiany te korelowały ze zmniejszeniem liczby lizosomów, co potwierdzono w analizie obrazów uzyskanych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej oraz rekonstrukcji trójwymiarowej (3D). Dodatkowo zmniejszony wychwyt czerwieni obojętnej (test NR) oraz zwiększona aktywność katepsyny D i L we frakcji pozalizosomalnej potwierdziły występowanie przecieku lizosomalnego. Zjawisko to było powiązane z generowaniem reaktywnych form tlenu (ROS), wskazując na istotną rolę stresu oksydacyjnego w destabilizacji przedziału lizosomalnego.

W celu określenia funkcjonalnego znaczenia indukowanej przez reinę autofagii przeprowadzono eksperymenty z wykorzystaniem chlorochiny-inhibitora późnych etapów autofagii, blokującego fuzję autofagosomów z lizosomami oraz degradację ich zawartości. Wstępna inkubacja komórek z chlorochiną zahamowała procesy degradacyjne i prowadziła do kumulacji autofagosomów w cytoplazmie. Zjawisku temu towarzyszyło nasilenie stresu komórkowego oraz istotny wzrost cytotoksyczności w komórkach linii HeLa, co manifestowało się zwiększoną aktywnością kaspazy 3/7, nasilonym uszkodzeniem DNA oraz wzrostem poziomu fosforylacji Bcl-2.

Uzyskane wyniki pozwoliły wykazać, że antrachinony oddziałują nie tylko na mitochondria, lecz również na układ lizosomalny, prowadząc do destabilizacji tego przedziału komórkowego i aktywacji alternatywnej formy śmierci komórkowej. **Praca ta istotnie rozszerzyła koncepcję mechanizmu działania antrachinonów, wskazując lizosomy jako potencjalny cel terapeutyczny w komórkach nowotworowych.** W kontekście całego cyklu badań publikacja ta stanowiła kluczowy etap przejścia od analizy klasycznej apoptozy do identyfikacji wielokierunkowego mechanizmu działania antrachinonów. obejmującego różne organelle.

P5. Wojciech Trybus, Ewa Trybus, Teodora Król. Lysosomes as a Target of Anticancer Therapy, *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 22;24(3):2176. doi: 10.3390/ijms24032176.

Celem pracy było usystematyzowanie aktualnej wiedzy dotyczącej roli autofagii i lizosomalnej śmierci komórkowej w nowotworach oraz ocena potencjalnych możliwości terapeutycznego wykorzystania modulacji tych procesów. Artykuł stanowił teoretyczne zaplecze dla badań eksperymentalnych prowadzonych w ramach cyklu i miał na celu osadzenie uzyskanych wyników w szerszym kontekście biologii nowotworów, a główną inspiracją do jego napisania były wyniki uzyskane w trakcie badań prowadzonych na omawianej reinie oraz wcześniej badanej emodynie (poz. P11 i P16), których mechanizm działania opiera się na modulacji układu lizosomalnego oraz indukcji lizosomalnej śmierci komórkowej.

W pracy dokonano szczegółowej analizy molekularnych mechanizmów regulujących autofagię, ze szczególnym uwzględnieniem szlaków sygnałowych kontrolujących inicjację i przebieg tego procesu, w tym zależności od szlaku PI3K/AKT/mTOR. Omówiono również mechanizmy destabilizacji błony lizosomalnej oraz rolę lizosomów jako centralnych regulatorów przeżycia i śmierci komórki nowotworowej. Przedstawiono aktualne dane dotyczące dwoistej roli autofagii w nowotworach-zarówno jako mechanizmu cytoprotekcyjnego, jak i prowadzącego do śmierci komórki.

Szczególną uwagę poświęcono interakcjom pomiędzy autofagią, apoptozą oraz innymi formami śmierci komórkowej, podkreślając ich znaczenie w kontekście oporności na chemioterapię. **W pracy omówiono również potencjalne strategie terapeutyczne oparte na modulacji autofagii i destabilizacji lizosomów, wskazując na możliwość wykorzystania związków naturalnych jako regulatorów tych procesów.**

W kontekście całego cyklu badań publikacja ta pełniła funkcję integrującą i koncepcyjną. Umożliwiła interpretację wyników eksperymentalnych w świetle aktualnej wiedzy oraz uzasadniła dalsze badania nad alternatywnymi formami śmierci komórkowej indukowanymi przez antrachinony. Artykuł ten potwierdził spójność prowadzonych badań oraz wskazał ich miejsce w aktualnym nurcie badań nad terapiami ukierunkowanymi na modulację procesów degradacyjnych w komórkach nowotworowych.

P6. Wojciech Trybus, Ewa Trybus, Mateusz Obarzanowski, Teodora Król. Quinalizarin induces autophagy, apoptosis and mitotic catastrophe in cervical and prostate cancer cells. *Sci Rep.* 2025; 15: 5252. doi: 10.1038/s41598-025-89847-8.

Celem pracy była ocena, czy chinolizaryna wykazuje wielokierunkowe działanie przeciwnowotworowe w komórkach nowotworowych o różnym pochodzeniu tkankowym oraz czy mechanizm jej działania obejmuje równoczesną aktywację kilku programów śmierci komórkowej, w tym autofagii. Badania te stanowiły istotny etap w rozwoju koncepcji wielokierunkowego mechanizmu działania antrachinonów oraz miały na celu określenie, czy efekt ten jest zachowany również w innych typach nowotworów. Stąd badania poszerzyłem o komórki linii DU145, ponieważ są bardzo często stosowane w badaniach nad przerzutami, opornością na leki, czy w ocenie skuteczności chemioterapeutyków. Antrachinon, na którym skupiłem swoją uwagę, może stanowić podstawę do opracowania nowych leków o podwójnym działaniu w leczeniu kandydozy związanej z rakiem ze względu na właściwości przeciwgrzybicze oraz niską toksyczność (Janeczko i wsp., 2024).

Eksperymenty przeprowadzono na liniach komórkowych raka szyjki macicy oraz raka prostaty. Żywotność komórek oceniano metodą kolorymetryczną (test MTT). Indukcję apoptozy

oraz zmiany w cyklu komórkowym analizowano przy użyciu cytometrii przepływowej. Oceniano również poziom reaktywnych form tlenu oraz potencjał błony mitochondrialnej, co pozwoliło określić udział stresu oksydacyjnego i mitochondrialnego szlaku śmierci komórkowej.

Kluczowym elementem pracy była analiza autofagii, którą mierzono poziomem aktywności LC3, co umożliwiło ilościową ocenę komórek wykazujących zwiększoną aktywność autofagiczną. W celu weryfikacji, czy obserwowany wzrost LC3 odzwierciedla aktywację procesu autofagii, czy też blokadę degradacji autofagosomów, zastosowano chlorochinę jako inhibitor fuzji autofagosomów z lizosomami. Analiza porównawcza wykazała, że w obecności chlorochiny dochodziło do dalszej kumulacji LC3, co potwierdzało zwiększony przepływ autofagii (autophagic flux), a nie jedynie zahamowanie degradacji struktur autofagicznych.

Dodatkowo przeprowadzono analizę ultrastrukturalną przy użyciu transmisyjnej mikroskopii elektronowej, która pozwoliła na bezpośrednią identyfikację autofagosomów oraz autofagolizosomów.

Równolegle analizowano zmiany morfologiczne charakterystyczne dla katastrofy mitotycznej, a także parametry związane z apoptozą i stresem oksydacyjnym. Istotna była także obserwacja działania antyproliferacyjnego chinalizaryny wykazana w teście klonogennym (zmniejszona ilość tworzonych kolonii) oraz w teście „gojenia się rany” powstałej przez zadrapanie (zmniejszona migracja komórek). Dodatkowo obserwowano blokowanie komórek w fazie G0/G1 (analiza cytometryczna).

Wyniki wykazały, że antrachinon indukuje apoptozę, aktywuje autofagię oraz prowadzi do zaburzeń mitotycznych, co wskazuje na współlistnienie kilku mechanizmów eliminacji komórek nowotworowych.

W kontekście całego cyklu badań praca ta miała istotne znaczenie koncepcyjne, ponieważ w sposób kompleksowy i metodologicznie zweryfikowany wykazano aktywację autofagii z potwierdzonym przepływem procesu, a nie jedynie akumulacją markerów. Wyniki te wzmocniły koncepcję, że antrachinony wywołują złożoną odpowiedź komórkową obejmującą współdziałanie apoptozy, autofagii oraz katastrofy mitotycznej, co może zwiększać skuteczność eliminacji komórek nowotworowych i ograniczać rozwój oporności terapeutycznej.

P7. Wojciech Trybus, Ewa Trybus, Teodora Król. Alizarin induces a multidirectional mechanism of anti-cancer action in cervical cancer and prostate cancer cells.

Sci Rep. 2026; 16: 12843. doi: 10.1038/s41598-026-43011-y.

Celem pracy była analiza wielokierunkowego działania antrachinonu w komórkach raka szyjki macicy oraz raka prostaty, z uwzględnieniem zarówno klasycznych modeli hodowli dwuwymiarowej (2D), jak i trójwymiarowych modeli sferoidów nowotworowych

(3D), które lepiej odzwierciedlają warunki panujące w guzach litych *in vivo*. Badania stanowiły podsumowanie i rozwinięcie wcześniejszych obserwacji dotyczących indukcji apoptozy, autofagii oraz katastrofy mitotycznej, a ich celem było określenie, czy działanie antrachinonów obejmuje również modulację kluczowych szlaków przeżycia komórek nowotworowych oraz czy mogą one wzmacniać skuteczność terapii skojarzonej.

Eksperymenty kontynuowałem na liniach komórkowych raka szyjki macicy oraz raka prostaty. Żywotność komórek oceniano metodą kolorymetryczną i fluorescencyjną. Zmiany w cyklu komórkowym, rodzaj indukowanej śmierci komórkowej, ekspresję i aktywację kluczowych białek regulatorowych oceniano metodą cytometryczną, koncentrując się na elementach szlaków PI3K/AKT oraz MAPK/ERK, a także na białkach związanych z regulacją apoptozy i autofagii. Zdolność migracji komórek analizowano testem typu gojenia się rany natomiast potencjał proliferacyjny oceniano w teście klonogennym. **W celu zwiększenia wartości translacyjnej badań opracowano model trójwymiarowych sferoidów nowotworowych, w których oceniono wpływ badanego związku na wzrost, integralność i przeżycie komórek w strukturach 3D.**

Wyniki wykazały, że antrachinon istotnie obniża żywotność obu linii komórek nowotworowych. Analizy cytometryczne potwierdziły indukcję apoptozy oraz zaburzenia cyklu komórkowego prowadzące do zahamowania proliferacji. Jednocześnie zaobserwowano wzrost poziomu reaktywnych form tlenu oraz depolaryzację błony mitochondrialnej, co wskazuje na aktywację apoptozy przez mitochondrialny szlak śmierci komórkowej. Co istotne, alizaryna wykazała względną selektywność działania, charakteryzując się znacznie niższą cytotoksycznością wobec nietransformowanych komórek linii VH-10.

Istotnym elementem pracy było wykazanie, że antrachinon moduluje aktywność kluczowych szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za przeżycie i proliferację komórek nowotworowych. Zaobserwowano obniżenie poziomu ufosforylowanych form białek należących do szlaków PI3K/AKT oraz MAPK/ERK, co korelowało ze wzrostem odsetka komórek apoptotycznych oraz zahamowaniem proliferacji. **Wyniki te sugerują, że działanie antrachinonu nie ogranicza się do bezpośredniego uszkodzenia struktur komórkowych, obejmuje także modulację szlaków sygnalizacyjnych regulujących przeżycie komórki nowotworowej.**

Szczególnie istotnym aspektem pracy była pogłębiona analiza wpływu badanego związku na aktywację szlaków PI3K/AKT i MAPK/ERK w kontekście terapii skojarzonej. Szlaki te odgrywają fundamentalną rolę w patogenezie raka prostaty i raka szyjki macicy, promując proliferację, progresję cyklu komórkowego, migrację, potencjał przerzutowy oraz rozwój lekooporności. Wyciszenie sygnalizacji PI3K/AKT prowadzi do zahamowania wzrostu guza

i zwiększenia wrażliwości komórek na czynniki proapoptotyczne, co czyni ten szlak jednym z kluczowych celów współczesnych strategii terapeutycznych.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że antrachinon istotnie obniża poziom pAkt i pERK, prowadząc do zwiększenia populacji komórek podwójnie ujemnych (pAkt⁻/pERK⁻), czemu towarzyszył wzrost odsetka komórek apoptotycznych. Natomiast wykorzystany w badaniach wenetoklaks (4 μM), selektywny inhibitor Bcl-2, wywierał umiarkowany wpływ na poziom fosforylacji tych kinaz, jednak w terapii skojarzonej obserwowano wyraźne zahamowanie aktywności obu szlaków, przejawiające się ponad 80% wzrostem liczby komórek podwójnie ujemnych. Zjawisku temu towarzyszył wzrost fosforylacji białka Bcl-2 oraz istotne nasilenie apoptozy. Wykazano tym samym, że antrachinon wzmacnia działanie wenetoklaksu, a analiza interakcji obu związków potwierdziła efekt synergistyczny. Ocena wenetoklaksu w komórkach DU145 była poparta doniesieniami wskazującymi na możliwość zastosowania inhibitorów Bcl-2 w terapii raka prostaty (Campbell i Leung, 2021).

W celu zwiększenia znaczenia translacyjnego badań zastosowano trójwymiarowy model sferoidów nowotworowych przygotowanych techniką hanging drop. Sferoidy o średnicy powyżej 500 μm naśladują warunki panujące w guzach litych, w tym obecność centralnego obszaru niedotlenienia oraz gradient proliferacji, co nadaje im profil oporności na leki przeciwnowotworowe zbliżony do obserwowanego *in vivo* (Nunes i wsp., 2019; Iwai i wsp., 2016). Model 3D umożliwia zatem bardziej realistyczną ocenę skuteczności badanych związków. Analogicznie do hodowli 2D, sferoidy inkubowano z alizaryną, a poziom apoptozy oceniano metodą cytometrii przepływowej oraz przy użyciu podwójnego barwienia fluorescencyjnego FDA/PI. Po 48 godzinach inkubacji obserwowano zahamowanie wzrostu sferoidów, utratę ich integralności oraz zwiększoną liczbę komórek martwych. W analizie cytometrycznej potwierdzono wysoki odsetek komórek apoptotycznych, nieco niższy niż w modelu 2D, co jest zgodne z większą opornością struktur przestrzennych.

Model 3D wykorzystano również do oceny terapii skojarzonej alizaryny z wenetoklaksem. Po 48 godzinach inkubacji sferoidów utworzonych z komórek HeLa i DU145 z oboma związkami zaobserwowano wyraźne nasilenie cytotoksyczności, obejmujące rozpad struktury sferoidów, utratę ich zwartości i integralności oraz istotny wzrost liczby komórek apoptotycznych (ponad 60% w obu liniach komórkowych). Wyniki te potwierdzają, że efekt synergistyczny obserwowany w modelu 2D utrzymuje się również w warunkach przestrzennej organizacji komórek, bardziej zbliżonych do środowiska guza litego.

Praca ta stanowi zwięźczenie cyklu badań, **potwierdzając wielokierunkowy mechanizm działania alizaryny i innych prezentowanych antrachinonów obejmujący indukcję różnych rodzajów śmierci komórkowej, modulację szlaków sygnałowych (PI3K/AKT i MAPK/ERK)**

oraz wskazuje na celowość stosowania terapii skojarzonej. Wykazana aktywność cytotoksyczna alizaryny w modelu trójwymiarowym wskazuje na zasadność dalszych badań na modelach *in vivo*.

Podsumowanie

Przedstawiony cykl publikacji stanowi spójne osiągnięcie naukowe ukierunkowane na kompleksowe poznanie mechanizmów przeciwnowotworowego działania wybranych antrachinonów w komórkach raka szyjki macicy oraz raka prostaty w modelach *in vitro*.

Koncepcja badań, wybór modeli eksperymentalnych, zaprojektowanie zakresu analiz mechanistycznych oraz interpretacja uzyskanych wyników stanowiły element mojego autorskiego programu badawczego, rozwijanego konsekwentnie w kolejnych publikacjach.

Przeprowadzone badania wykazały, że antrachinony (emodyna, reina, chryzofanol, fiscjon, chinalizaryna oraz alizaryna) tworzą grupę związków o wyraźnym, wielokierunkowym potencjale przeciwnowotworowym, którego mechanizm działania obejmuje zarówno klasyczne, jak i alternatywne szlaki regulujące przeżycie komórki nowotworowej.

Analiza apoptozy, jako podstawowego mechanizmu eliminacji komórek nowotworowych, stanowiła fundament realizowanego programu badawczego i była prowadzona we wszystkich pracach wchodzących w skład cyklu. W ramach przeprowadzonych badań wykazano, że analizowane antrachinony indukują apoptozę przede wszystkim poprzez aktywację mitochondrialnego szlaku śmierci komórkowej. Mechanizm ten obejmował generację stresu oksydacyjnego, depolaryzację błony mitochondrialnej, modulację aktywności białek z rodziny Bcl-2 oraz aktywację kaspaz wykonawczych. Równocześnie udokumentowałem indukcję odpowiedzi na uszkodzenia DNA, przejawiającą się aktywacją kinazy ATM oraz fosforylacją H2A.X, co wskazuje na udział stresu genotoksycznego i zaburzeń homeostazy redoks w mechanizmie cytotoksyczności antrachinonów.

Istotnym elementem badań była ocena regulacji białka antyapoptotycznego Bcl-2 jako kluczowego regulatora wrażliwości komórek nowotworowych na śmierć mitochondrialną. Wykazałem, że antrachinony modulują poziom Bcl-2, wpływając na równowagę pomiędzy sygnałami pro- i antyapoptotycznymi. Rozwinięciem tego kierunku badań była analiza interakcji alizaryny z wenetoklaksem-selektywnym inhibitorem Bcl-2, która potwierdziła synergistyczne działanie obu związków. **Uzyskane wyniki wskazują, że antrachinony mogą zwiększać skuteczność terapii ukierunkowanej na blokowanie białek antyapoptotycznych oraz uczestniczyć w przełamywaniu oporności komórek nowotworowych na leczenie.**

Kolejnym, nowatorskim elementem mojego osiągnięcia było wykazanie, że antrachinony aktywują również alternatywne formy śmierci komórkowej, w tym autofagię oraz katastrofę

mitotyczną, a w przypadku reiny lizosomalną śmierć komórkową związaną z permeabilizacją błony lizosomalnej. Identyfikacja destabilizacji przedziału lizosomalnego jako istotnego komponentu mechanizmu działania antrachinonów stanowi rozwinięcie dotychczasowych badań koncentrujących się głównie na apoptozie. Uzyskane wyniki wskazują, że badane związki oddziałują na kluczowe organelle komórkowe, tj. mitochondria i lizosomy, prowadząc do głębokiego zaburzenia homeostazy komórkowej.

W prowadzonych przeze mnie badaniach wykazano ponadto istotny efekt antyproliferacyjny antrachinonów, obejmujący zahamowanie progresji cyklu komórkowego, redukcję migracji oraz obniżenie potencjału klonogenności komórek nowotworowych. Aktywność ta została potwierdzona zarówno w modelach hodowli dwuwymiarowej, jak i w trójwymiarowych modelach sferoidów nowotworowych, co zwiększa biologiczną wiarygodność uzyskanych wyników oraz ich potencjał translacyjny.

Szczególnie istotnym aspektem mojego osiągnięcia było wykazanie synergistycznego działania wybranych antrachinonów z lekami przeciwnowotworowymi. Udokumentowałem, że emodyna nasila efekt winblastyny, natomiast alizaryna wzmacnia działanie wenetoklaksu. Ponadto wykazałem, że farmakologiczne zahamowanie autofagii z wykorzystaniem chlorochiny-inhibitora późnych etapów autofagii nasila cytotoksyczność wybranych antrachinonów wobec komórek nowotworowych. Wyniki te wskazują, że autofagia w odpowiedzi na działanie antrachinonów może pełnić funkcję adaptacyjną, a jej blokowanie zwiększa skuteczność eliminacji komórek nowotworowych. Dane te potwierdzają zasadność dalszych badań nad terapiami skojarzonymi opartymi na naturalnych pochodnych antrachinonów oraz nad strategią modulowania mechanizmów przeżycia komórki w celu przełamania oporności terapeutycznej. **Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że antrachinony stanowią wielokierunkowe modulatory losu komórki nowotworowej, oddziałujące równocześnie na mechanizmy mitochondrialne, lizosomalne oraz procesy regulujące proliferację i odpowiedź komórki na leczenie.**

Z perspektywy rozwoju dyscypliny przedstawione badania wykraczają poza klasyczne ujęcie antrachinonów jako induktorów apoptozy i wpisują się w aktualne koncepcje wielomechanizmowej regulacji przeżycia komórki nowotworowej. Wykazanie ich zdolności do równoczesnej modulacji funkcji mitochondriów, destabilizacji przedziału lizosomalnego, regulacji procesów autofagowych oraz wpływu na kontrolę cyklu komórkowego rozszerza dotychczasowe rozumienie potencjału terapeutycznego tej grupy związków. Identyfikacja lizosomów jako istotnego celu działania antrachinonów oraz potwierdzenie synergizmu z inhibitorem Bcl-2 stanowią ważne rozwinięcie koncepcji terapii ukierunkowanych na organelle komórkowe i mechanizmy oporności nowotworów.

Całość uzyskanych przeze mnie wyników tworzy spójny i konsekwentnie rozwijany program badawczy ukierunkowany na identyfikację organello-zależnych mechanizmów regulujących przeżycie komórek nowotworowych. Program ten wnosi istotny wkład w rozwój biologii nowotworów, wskazując na możliwość terapeutycznego wykorzystania wielokierunkowej modulacji losu komórki jako strategii zwiększania skuteczności leczenia. Uzyskane dane stanowią racjonalną podstawę do dalszych badań przedklinicznych, w tym do projektowania nowych pochodnych antrachinonów o zwiększonej selektywności i skuteczności działania oraz do rozwijania strategii terapii skojarzonych ukierunkowanych na przełamywanie oporności nowotworów.

Literatura:

1. Amaravadi RK, Yu D, Lum JJ, et al. Autophagy inhibition enhances therapy-induced apoptosis in a Myc-induced model of lymphoma. *J Clin Invest.* 2007;117(2):326-336.
2. Battogtokh G, Cho YY, Lee JY, Lee HS, Kang HC. Mitochondrial-targeting anticancer agent conjugates and nanocarrier systems for cancer treatment. *Front Pharmacol.* 2018a;9:922.
3. Battogtokh G, Choi YS, Kang DS, et al. Mitochondria targeting drug conjugates for cytotoxic, anti-oxidizing and sensing purposes: current strategies and future perspectives. *Acta Pharm Sin B.* 2018b;8(6):862-880.
4. Bi J, Sun Y, Guo M, Sun X, Sun J, Jiang R, Wang N, Huang G. Lysosomes: guardians and healers within cells-multifaceted perspective and outlook from injury repair to disease treatment. *Cancer Cell Int.* 2025;25:136.
5. Burmeister CA, et al. Cervical cancer therapies: current challenges and future perspectives. *Tumour Virus Res.* 2022;13:200238.
6. Campbell KJ, Leung HY. Evasion of cell death: a contributory factor in prostate cancer development and treatment resistance. *Cancer Lett.* 2021;520:213-221.
7. Canta A, Pozzi E, Carozzi VA. Mitochondrial dysfunction in chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). *Toxics.* 2015;3(2):198-223.
8. Chang YF, Li JJ, Liu T, Wei CQ, Ma LW, Nikolenko VN, Chang WL. Morphological and biochemical characteristics associated with autophagy in gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol.* 2024;30(11):1524-1532.
9. Chavez-Dominguez R, Perez-Medina M, Lopez-Gonzalez JS, Galicia-Velasco M, Aguilar-Cazares D. The double-edge sword of autophagy in cancer: from tumor suppression to pro-tumor activity.
10. Cirrincione CM, Pellegrini AD, Dominy JR, Benjamin MR, Utkina-Sosunova I, Lotti F, Jergova S, Sagen J, Rieger S. Paclitaxel-induced peripheral neuropathy is caused by epidermal ROS and mitochondrial damage through conserved MMP-13 activation. *Sci Rep.* 2020;10:3970.

11. Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2006;10(1):51-64.
12. de Oliveira PG, Termini L, Durigon EL, et al. Diacerein: a potential multi-target therapeutic drug for COVID-19. *Med Hypotheses*. 2020;144:109920.
13. Dhiman S, Kumar G, Kumar A, Devi S, Kumar S, M. Anthraquinones as bioactive agents: recent trends and developments in phytotherapy. *Bentham Briefs Biomed Pharmacother*. 2025;3:81-111.
14. Duran HE, Beydemir S. Naphthoquinones and anthraquinones: exploring their impact on acetylcholinesterase enzyme activity. *Biotechnol Appl Biochem*. 2024;71(5):1079-1093.
15. Fu Y, Le Yang, Lei Liu, Ling Kong, Hui Sun, Ye Sun, Fengting Yin, Guangli Yan, Xijun Wang. Rhein: an updated review concerning its biological activity, pharmacokinetics, structure optimization, and future pharmaceutical applications. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(12):1665.
16. Gorini S, De Angelis A, Berrino L, Malara N, Rosano G, Ferraro E. Chemotherapeutic drugs and mitochondrial dysfunction: focus on doxorubicin, trastuzumab, and sunitinib. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:7582730.
17. Gómez-Virgilio L, et al. Autophagy: a key regulator of homeostasis and disease: an overview of molecular mechanisms and modulators. *Cells*. 2022;11(15):2262.
18. Iwai R, Nemoto Y, Nakayama Y. Preparation and characterization of directed, one-day-self-assembled millimeter-size spheroids of adipose-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A*. 2016;104:305-312.
19. Jaccard A, Ho PC. The hidden side of PD-L1. *Nat Cell Biol*. 2020;22(9):1031-1032.
20. Janeczko M, Kochanowicz E, Górka K, Skrzypek T. Quinalizarin as a potential antifungal drug for the treatment of *Candida albicans* fungal infection in cancer patients. *Microbiol Spectr*. 2024;12(3):e0365223.
21. Kim SJ, Kim HS, Seo YR. Understanding of ROS-inducing strategy in anticancer therapy. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:5381692.
22. Kim YS, Lee YM, Oh TI, Shin DH, Kim GH, Kan SY, Kang H, Kim JH, Kim BM, Yim WJ, et al. Emodin sensitizes hepatocellular carcinoma cells to the anti-cancer effect of sorafenib through suppression of cholesterol metabolism. *Int J Mol Sci*. 2018;19:3127.
23. Li J, Liu P, Mao H, Wanga A, Zhang X. Emodin sensitizes paclitaxel-resistant human ovarian cancer cells to paclitaxel-induced apoptosis in vitro. *Oncol Rep*. 2009;21:1605-1610.
24. Liu D, Bu H, Li H, Chen H, Guo HC, Wang ZH, Tong HF, Ni ZL, Liu HB, Lin SZ. Emodin reverses gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells via the mitochondrial apoptosis pathway in vitro. *Int J Oncol*. 2012;40:1049-1057.
25. Liu Y, Meng Y, Zhang J, Gu L, Shen S, Zhu Y, Wang J. Pharmacology progresses and applications of chloroquine in cancer therapy. *Int J Nanomedicine*. 2024;19:6777-6809.

26. McGee MM. Targeting the mitotic catastrophe signaling pathway in cancer. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:146282.
27. Merino JJ, Durán AG, Chinchilla N, Macías FA. Biological activities of hydroxyanthracene derivatives (HADs) from Aloe species and their potential uses. *Phytochem Rev.* 2025;24:2387-2415.
28. Nunes AS, Barros AS, Costa EC, Moreira AF, Correia IJ. 3D tumor spheroids as in vitro models to mimic in vivo human solid tumors resistance to therapeutic drugs. *Biotechnol Bioeng.* 2019;116:206-226.
29. Pan XP, Jiya BR, Wang F, Lan Z. Phycion increases the sensitivity of hepatocellular carcinoma to sorafenib through miRNA-370/PIM1 axis-regulated glycolysis. *World J Gastrointest Oncol.* 2023;15(8):1400-1411.
30. Pandey PP, Kumar MS. Role of nanotechnology in anthraquinones mediated disease management. *Bentham Briefs Biomed Pharmacother.* 2025;3:209-230.
31. Pavelka K, Bruyère O, Cooper C, Kanis JA, et al. Diacerein: benefits, risks and place in the management of osteoarthritis. *Drugs Aging.* 2016;33(2):75-85.
32. Prateeksha, Yusuf MA, Singh BN, Sudheer S, Kharwar RN, Siddiqui S, Abdel-Azeem AM, Fraceto F, Dashora K, Gupta VK. Chrysophanol: a natural anthraquinone with multifaceted biotherapeutic potential. *Biomolecules.* 2019;9(2):68.
33. Sazonova EV, Petrichuk SV, Kopeina GS, Zhivotovsky B. A link between mitotic defects and mitotic catastrophe: detection and cell fate. *Biol Direct.* 2021;16:25.
34. Serrano-Puebla A, Boya P. Lysosomal membrane permeabilization as a cell death mechanism in cancer cells. *Biochem Soc Trans.* 2018;46(2):207-215.
35. Sharma P, Kaur A. An overview of chemistry and biosynthesis of anthraquinones. *Bentham Briefs Biomed Pharmacother.* 2025;3:60-80.
36. Sutherland TE, Dyer DP, Allen JE. The extracellular matrix and the immune system: a mutually dependent relationship. *Science.* 2023;379(6633):eabp8964.
37. Vitale I, Galluzzi L, Castedo M, Kroemer G. Mitotic catastrophe: a mechanism for avoiding genomic instability. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011;12:385-392.
38. Yang ZJ, Chee CE, Huang S, Sinicrope FA. The role of autophagy in cancer: therapeutic implications. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(9):1533-1541.
39. Zheng Q, Li S, Li X, Liu R. Advances in the study of emodin: an update on pharmacological properties and mechanistic basis. *Chin Med.* 2021;16:102.
40. Zhou YX, Xia W, Yue W, Peng C, Rahman K, Zhang H. Rhein: a review of pharmacological activities. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:578107.

5. Informacja o istotnej aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej.

W trakcie pracy w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej UJK Kielce (obecny Zakład Biologii Medycznej) odbyłem trzy staże naukowe. Umożliwiły mi one zapoznanie się z nowymi technikami badawczymi, które wykorzystałem do realizacji różnych projektów oraz publikacji.

Przed uzyskaniem stopnia doktora

Staż naukowy odbyty w Katedrze Biologii Komórki Instytutu Ochrony Środowiska Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II w 2010 roku pod kierunkiem dr hab. Haliny Zaporowskiej, prof. KUL, umożliwił mi zdobycie praktycznych umiejętności w zakresie hodowli *in vitro* komórek prawidłowych (fibroblasty linii 3T3) oraz metod analizy cytotoksyczności związków.

Zdobyte kompetencje stanowiły podstawę do wdrożenia technik hodowli komórkowej w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej, co umożliwiło rozwój badań nad aktywnością przeciwnowotworową analizowanych związków. Obecnie techniki hodowli komórkowych stanowią jedną z kluczowych metod stosowanych w moich badaniach.

Po uzyskaniu stopnia doktora

W 2019 roku odbyłem staż naukowy w Zakładzie Immunohematologii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie pod kierunkiem dr hab. n. med. Jadwigi Fabijańskiej-Mitek. W trakcie stażu zdobyłem doświadczenie w analizie mikropęcherzyków erytrocytarnych w osoczu oraz w badaniu oporności osmotycznej erytrocytów i ich białek z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i techniki Western blot. Staż zaowocował nawiązaniem współpracy naukowej, w szczególności z dr hab. n. med. Anną Stachurską-Skrodzką, prof. CMKP, co przełożyło się na wspólne publikacje oraz udział w konferencjach krajowych i międzynarodowych.

Obecnie współpraca ta jest kontynuowana w ramach projektu finansowanego w konkursie OPUS 29 Narodowego Centrum Nauki, w którym pełnię rolę wykonawcy zadania w projekcie (członka zespołu badawczego). Moim zadaniem w projekcie jest ocena ultrastruktury mikropęcherzyków uwalnianych przez erytrocyty o różnym czasie przechowywania.

W 2024 roku odbyłem staż naukowy w Pracowni Hematologii Eksperymentalnej Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie pod kierunkiem prof. dr hab. Elżbiety Kołaczekowskiej.

W trakcie stażu zapoznałem się z technikami hodowli komórkowej 3D oraz pogłębiłem wiedzę w zakresie metod molekularnych, w tym techniki Western blot.

Nawiązana współpraca, w szczególności z dr hab. Małgorzatą Opydo, zaowocowała wspólnymi publikacjami naukowymi oraz udziałem w konferencjach krajowych i o zasięgu międzynarodowych.

W ramach prowadzonych badań dotyczących wpływu obatoklaksu na komórki prawidłowe i nowotworowe *in vitro* przygotowałem materiał do transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz analizowałem zmiany ultrastrukturalne zachodzące w badanych komórkach.

Odbyte staże naukowe przyczyniły się do nawiązania długofalowej współpracy z wymienionymi jednostkami, której efektem są wspólne publikacje oraz udział w konferencjach, omówione szczegółowo w punkcie 7.2.

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

6.1. Działalność dydaktyczna.

Moja działalność dydaktyczna obejmuje prowadzenie zajęć ze studentami studiów pierwszego i drugiego stopnia na kierunkach: biologia i biotechnologia (2005-2026), na kierunku lekarskim (2015-2026) oraz kierunku kosmetologia (od 2026 r.). Prowadziłem również zajęcia na kierunku Systemy diagnostyczne w medycynie (2025 r.).

Zakres realizowanych przedmiotów obejmuje:

- Kierunek biologia: Biologia komórki, Podstawy technik mikroskopowych, Nowoczesne techniki mikroskopowe, Toksykologia doświadczalna i kliniczna
- Kierunek biotechnologia: Biologia komórki, Techniki mikroskopowe
- Kierunek lekarski: Podstawy biologii komórki, Histologia i ultrastruktura komórki
- Kierunek Kosmetologia: Patofizjologia, Cytofizjologia
- Kierunek Systemy diagnostyczne w medycynie: Mikroskopia w medycynie

W ramach zajęć fakultatywnych na kierunku Lekarskim prowadziłem przedmioty: Nowoczesne techniki mikroskopowe w medycynie oraz Podstawy technik hodowli komórek.

Prowadziłem również zajęcia na III^o studiów doktoranckich na kierunku Biologia, gdzie byłem odpowiedzialny za przedmiot Współczesne metody w biologii komórki (2018 r.). Od 2022 roku do chwili obecnej realizuję przedmiot Nowoczesne metody badawcze w Szkole Doktorskiej (Dyscyplina-Nauki o zdrowiu, sekcja nauk medycznych i nauk o zdrowiu).

We wszystkich z prowadzonych przedmiotów jestem współautorem i autorem kart przedmiotów. W 2022 roku realizowałem zajęcia dodatkowe nieobjęte programem studiów dla studentów przyjętych na pierwszy rok studiów (kierunek Biotechnologia).

Od 2021 do chwili obecnej pełnię obowiązki kierunkowego opiekuna studenckich praktyk zawodowych na kierunku Biologia I⁰ i II⁰. Jako opiekun praktyk jestem także odpowiedzialny za koordynowanie praktyk zawodowych dydaktycznych studentów w szkole podstawowej i ponadpodstawowej (kierunek Biologia-ścieżka dydaktyczna) oraz kontakt z nauczycielami i dyrektorami szkół w których odbywają się praktyki.

W 2024 roku (do chwili obecnej) zostałem powołany do Kierunkowego Zespołu ds. Jakości Kształcenia na Wydziale Nauk Ścisłych i Przyrodniczych.

Jestem promotorem 16 prac dyplomowych, w tym licencjackich, jak i magisterskich na kierunku Biologia (11 prac) i Biotechnologia (5 prac). Prace dotyczyły głównie zagadnień z biologii komórki, śmierci komórkowej, terapii przeciwnowotworowej oraz analizy wpływu roślinnych związków o potencjale antynowotworowych na komórki nowotworowe w hodowli *in vitro* przy zastosowaniu różnorodnych technik mikroskopowych i biochemicznych. Współpraca ze studentami, którzy realizowali prace pod moją opieką oraz doktorantami, realizującymi prace doktorskie w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej pod kierunkiem dr hab. n.med. Teodory Król, prof. UJK, przyczyniła się do przygotowania publikacji pod moim autorstwem, które ukazały się w *Acta Biologica Cracoviensia Series Zoologia* (2017) oraz *Anticancer Research* (2014) (poz. P11, P26). Współpraca studencka zaowocowała również opublikowaniem trzech rozdziałów w monografii pt. „Zdrowie w ujęciu środowiskowym, społecznym i edukacyjnym” w 2019 roku (poz. P35, P36, P37), powstaniem doniesień konferencyjnych oraz posterowych na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym, m.in. *Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism* oraz *Mechanizmy służące utrzymaniu życia i regulacji fizjologicznych w Krakowie*.

W celu podnoszenia kompetencji zawodowych w 2021 ukończyłem szkolenie w dziedzinie Bezpieczeństwa i Higieny Pracy Nauczycieli Akademickich organizowane przez Centrum Kształcenia Kadr CK Edukacja, Kielce (06.12.2021), a w 2022 roku szkolenie „Dostępność przestrzeni akademickiej dla osób z niepełnosprawnościami”- szkolenie dla kadry dydaktycznej w ramach projektu „Uniwersytet otwarty na potrzeby osób z niepełnosprawnościami” (9.12.2022).

W roku akademickim 2022/2023 oraz 2024/2025 zostałem powołany na opiekuna I i II roku II⁰ na kierunku Biologia do końca trwania studiów.

6.2. Działalność organizacyjna.

W latach 2010–2012 zostałem oddelegowany (0,35 etatu) do realizacji projektu „Rozbudowa infrastruktury dydaktycznej UJK w Kielcach – II etap budowy Campusu Uczelnianego”. Stanowisko: specjalista ds. zakupu aparatury. Do moich zadań należało przygotowywanie

specyfikacji i opisów przedmiotu zamówienia dotyczących aparatury dydaktyczno-naukowej dla Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego UJK w Kielcach, współpraca z Działem Zamówień Publicznych w zakresie przygotowania dokumentacji przetargowej oraz prowadzenie ewidencji zakupionej aparatury. Byłem także współodpowiedzialny za przygotowanie opisu przedmiotu zamówienia zakupu aparatury niezbędnej do realizacji zajęć dydaktycznych realizowanych przez członków Zakładu Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej na kierunku Biologia, Biotechnologia, Kosmetologia, Ochrona Środowiska, Lekarskim.

W latach 2009-2012 zaangażowany byłem w projekt "Rozwój bazy badawczej specjalistycznych laboratoriów uczelni publicznych regionu świętokrzyskiego" realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, Priorytet 2. Infrastruktura sfery B+R, działanie 2.2. Wsparcie tworzenia wspólnej infrastruktury badawczej jednostek naukowych. W ramach powstałego w Instytucie Biologii Laboratorium Biologii Medycznej byłem współodpowiedzialny za przygotowanie specyfikacji aparatury naukowo-badawczej oraz za właściwe dostosowanie i wyposażenie laboratorium w nowoczesną aparaturę naukowo-badawczą.

W latach 2012-2016 oraz 2016-2020 zostałem powołany na członka Rady Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego UJK Kielce, gdzie wchodziłem w skład Komisji Skrutacyjnej.

W roku 2009 byłem członkiem Komitetu Organizacyjnego konferencji International Symposium „Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism” w Krakowie.

W 2016 roku zostałem powołany do Zespołu ds. Dobrostanu Zwierząt na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym (obecnie Wydział Nauk Ścisłych i Przyrodniczych). Funkcję pełniłem do 2023 roku.

W 2024 roku zostałem powołany na kadencję 2024-2028 na członka Rady Naukowej Instytutu Biologii, gdzie pełniłem funkcję członka Komisji Skrutacyjnej. Od października 2025 pełnię funkcję Wiceprzewodniczącego w/w komisji.

W latach 2024-2026 byłem zaangażowany w 33, 34 i 35 Ogólnopolską Konferencję Studenckich Kół Naukowych „Człowiek i jego środowisko”, gdzie w komitecie organizacyjnym pełniłem funkcję sekretarza (18-19.04.2024) i współprzewodniczącego (10-11 kwietnia 2025; 16-17 kwietnia 2026). Byłem także członkiem komisji konkursowej oceniającej wystąpienia studentów w sekcji plenarnej i posterowej (sekcja-nauki ścisłe i przyrodnicze, nauki medyczne i nauki o zdrowiu, nauki rolnicze, nauki inżyniersko-techniczne).

6.3. Działalność popularyzująca naukę.

Przed uzyskaniem stopnia doktora

W okresie poprzedzającym uzyskanie stopnia doktora angażowałem się w działania popularyzujące nauki biologiczne, obejmujące prowadzenie warsztatów dla uczniów szkół podstawowych i ponadpodstawowych z zakresu budowy komórki oraz analizy morfologicznej i ultrastrukturalnej.

Po uzyskaniu stopnia doktora

W latach 2016-2026 aktywnie uczestniczyłem w organizowanej cyklicznie przez Instytut Biologii, UJK Kielce „Nocy Biologów” prowadząc warsztaty z technik mikroskopowych, z głównym uwzględnieniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej.

W latach 2018-2019 byłem zaangażowany w realizację projektu „Uniwersytet Młodych - innowacyjne moduły zajęć wspierające uczniów uzdolnionych w zakresie nauk przyrodniczych i ścisłych” (PO.03.01.00-00-C070/16) realizowanego w ramach Osi Priorytetowej III. Szkolnictwo wyższe dla gospodarki i rozwoju, Działanie 3.1 Kompetencje w szkolnictwie wyższym Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014-2020.

W projekcie pełniłem funkcję wykładowcy, opracowałem autorski program zajęć z zakresu naukowych projektów badawczych (moduł Biologia) oraz przygotowałem materiały dydaktyczne dotyczące mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej.

W latach 2024-2026 zostałem powołany do zespołu projektowego w ramach projektu „Dziś uczeń-jutro student”, realizowanego przez Politechnikę Świętokrzyską (lider projektu) oraz Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach (partner). W projekcie pełnię funkcję trenera odpowiedzialnego za przygotowanie programu warsztatów i ich realizację.

W trakcie realizacji swojego projektu badawczego prezentowałem wyniki badań podczas seminariów naukowych:

Przed uzyskaniem stopnia doktora:

„Porównawcza ocena oddziaływań wybranych antrachinonów na strukturę komórek prawidłowych i nowotworowych *in vitro* i *in vivo*”-seminarium naukowe, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, 28 listopada 2012 r.

Po uzyskaniem stopnia doktora:

„Antrachinony-związki o wielokierunkowej aktywności biologicznej”-seminarium naukowe Instytutu Biologii, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, 9 stycznia 2019 r.

7. Pozostałe informacje dotyczące kariery zawodowej.

7.1. Pozostałe osiągnięcia naukowe niewchodzące w skład cyklu habilitacyjnego.

Podczas realizacji badań przeznaczonych do obrony pracy doktorskiej zostało mi przyznane przez Rektora UJK stypendium w ramach programu stypendialnego jako uczestnikowi

projektu pt. „Wiedza i Gospodarka-rozwoj kompetencji naukowych i biznesowych dla wzrostu konkurencyjności gospodarki regionalnej” współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Priorytet VIII Regionalne Kadry Gospodarki, Działanie 8.2 Transfer Wiedzy, Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw. Okres pobierania stypendium 02.11.2011-31.10.2012.

W trakcie swojej pracy odbyłem także szkolenia oraz uczestniczyłem w seminariach naukowych w celu podniesienia kwalifikacji zawodowych i doskonalenia warsztatu badawczego.

Przed uzyskaniem stopnia doktora

1. Szkolenie z zakresu podstaw diagnostyki laboratoryjnej w Ośrodku Diagnostyki Medycznej Laboratorium Sp. z o.o. w Kielcach. 10.03.2005.
2. Szkolenie immunohistochemiczne (polimerowe systemy detekcyjne ImmPRESS™) organizowane przez firmę Biokom. 30.05.2008.
3. W 2009 roku uczestniczyłem w certyfikowanym seminarium „System finansowania badań naukowych oraz procesu wdrażania technologii” w ramach projektu UJK Nauka dla Biznesu Uniwersytet inkubatorem komercjalizacji badań naukowych.
4. Certyfikowane seminarium „Hodowle komórek ssaczych” organizowane przez firmę Merck Millipore. 09.06.2011.
5. Certyfikowane szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie procedur i doświadczeń oraz za ich przeprowadzenie, wykonujących procedury oraz uśmiercających zwierzęta wykorzystywane w procedurach organizowane przez Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych. 30.11-04.12.2015.

Po uzyskaniu stopnia doktora

1. Szkolenie z zakresu alergologii „Wykonywanie testów alergologicznych Polychek” organizowane przez firmę EMMA. 25.11.2016.
2. Szkolenie „Zastosowanie nowatorskich metod cytometrycznych w wieloparametrycznej analizie komórek” organizowane przez firmę Merck Sp. z o.o. 12.04.2021.
3. Szkolenie „Strategie analizy pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EVs) z wykorzystaniem cytometrii przepływowej” organizowane przez firmę Merck Sp. z o.o. 14.05.2021.
4. Certyfikowane szkolenie "Cytometria przepływowa-kompedium dla przedstawicieli nauk biologicznych", Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel, 2,9,16.12.2023.
5. Certyfikowane szkolenie "Hodowle zwierzęcych komórek 3D-aspekty praktyczne", Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel, 01.12.2023.

6. Certyfikowane szkolenie "Trudności w diagnostyce autoprzeciwciał-różnicowanie i znaczenie kliniczne", Euroimmun Polska Sp. z o.o., 30.04.2024.
7. Certyfikowane szkolenie "Diagnostyka ANA zgodna ze standardami. Ocena przeciwciał przeciwdądrowych w teorii i praktyce". Euroimmun Polska Sp., 09.04.2024.
8. Certyfikowane szkolenie „Diagnostyka alergii: praktyczny przewodnik” organizowane przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi oraz firmę Euroimmun Polska Sp. z o.o. (Patronat honorowy: prof. dr hab. n. med. Piotr Kuna, Kierownik Kliniki Chorób Wewnętrznych, Astmy i Alergii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi). 08.07.2024.
9. Certyfikowane szkolenie „Immunohistochemia (IHC) i Immunofluorescencja (IF): metody utrwalania, cięcia tkanek i wyznakowywania antygenów. Kompendium wiedzy o przeciwciałach”, Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel, 22.10.2024.
10. Certyfikat uczestnictwa w III edycji warsztatów naukowych pt. „Molekularna diagnostyka alergii w praktyce” HVD Holding AG, 10.05.2025.
11. Certyfikowane szkolenie „Szkolenie z wykorzystania oprogramowania do analizy statystycznej”. StatSoft Polska Sp. z o.o., 13.08-03.09.2025.
12. Certyfikowane szkolenie „Systemy dostarczania leków-projektowanie i zastosowanie rozwiązań z wykorzystaniem nanotechnologii”, Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju Tygiel, 19 i 26.11.2025.

7.2. Rozwój kierunków badawczych i współpraca naukowa.

W czasie swojej pracy w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej (obecnie Zakład Biologii Medycznej) byłem zaangażowany we współpracę z różnymi ośrodkami naukowo-dydaktycznymi, które wpłynęły na poszerzenie mojego doświadczenia w prowadzeniu badań naukowych. Główną techniką stosowaną przy realizacji wspólnych doświadczeń była transmisyjna mikroskopia elektronowa, którą wykorzystywałem do analizy ultrastruktury badanych komórek poddanych działaniu różnych ksenobiotyków.

Zainteresowanie transmisyjną mikroskopią elektronową wiąże się z jej kluczowym znaczeniem w prowadzonych przeze mnie badaniach z zakresu biologii komórki. Kompetencje w zakresie obsługi mikroskopu elektronowego, przygotowania materiału biologicznego do analiz ultrastrukturalnych oraz interpretacji uzyskanych obrazów rozwijałem w trakcie wieloletniej pracy w Zakładzie Biologii Komórki i Mikroskopii Elektronowej, współpracując z dr hab. n. med. Teodorą Król, prof. UJK (Kierownik Zakładu).

Osiągnięcia przed uzyskaniem stopnia doktora

W 2013 roku byłem zaangażowany w projekt prowadzony pod kierownictwem dr hab. n. med. Teodory Król, prof. UJK z Urzędem Miasta Kielce pt.: "Prowadzenie na terenie miasta

Kielce obserwacji i pomiarów stężenia aeroalergenów (pyłki roślin i spory grzybów) w atmosferze" w ramach programu Zdrowe Kielce. Termin realizacji projektu: 02.04.-10.10.2013.

W 2014 roku nawiązałem współpracę z Zakładem Toksykologii i Farmakologii Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie, którego główny profil badawczy dotyczy toksykologii bojowych środków trujących (BST) i farmakologii swoistych oraz nieswoistych odtrutek w ostrych zatruciach BST. W ramach wspólnych badań powstała praca (poz. P15), która ukazała się w *Environmental Toxicology and Pharmacology* dotycząca oceny ochronnego działania melatoniny na komórki wątroby myszy poddanych działaniu bojowego środka trującego-somanu. Badania w/w Zakładu finansowane były ze środków Ministerstwa Obrony Narodowej.

Osiągnięcia po uzyskaniu stopnia doktora

W 2017 roku nawiązałem także współpracę z Panią Prof. Krystyną Urbańską, kierownikiem Zakładu Biofizyki, Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. W czasie podjętej współpracy brałem udział w doświadczeniu dotyczącym oceny toksycznego działania kalcytriolu (aktywnej formy witaminy D3) w komórkach wątroby i nerek chomika syryjskiego (*Mesocricetus auratus*). Badania finansowane były m.in. ze środków NCN. Praca ukazała się w *Acta Biochimica Polonica* (poz. P18).

W ramach wieloletniej współpracy z dr hab. Haliną Zaporowską, prof. KUL oraz pracownikami Katedry Biologii Komórki Instytutu Ochrony Środowiska Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II w Lublinie brałem udział w latach 2008-2010 w doświadczeniach *in vivo* dotyczących analizy zmian zachodzących w tkankach zwierząt poddanych długotrwałemu działaniu mikro- i makroelementów, w tym metawanadu sodu oraz siarczanu magnezu, co przełożyło się na publikacje (poz. P25, P27) oraz 18 doniesień konferencyjnych.

Wykonywałem także dla Katedry Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie analizę ultrastruktury tkanek krwiotwórczych u Karpia zwyczajnych (*Cyprinus carpio* L.) narażonych na działanie herbicydów takich jak pendimetalia, czy MCPA (herbicyd fenoksy kwasowy). W ramach podjętej współpracy powstały dwie publikacje (poz. P28, P29). Prace były dofinansowane ze środków NCN.

W ramach współpracy z prof. dr hab. inż. Małgorzatą Dżugan z Katedry Chemii i Toksykologii Żywności Wydziału Biologii i Rolnictwa Uniwersytetu Rzeszowskiego byłem zaangażowany w wykonanie analiz mikroskopowych zmian zachodzących w pierwotnych narządach docelowych rozwijających się zarodków kurcząt (*Gallus domesticus*) obciążonych

kadmem czego efektem była publikacja w Journal of Trace Elements in Medicine and Biology (poz. P17).

Wieloletnia współpraca z docent Lidią Mazur oraz dr hab. Małgorzatą Opydo z Zakładu Hematologii Eksperymentalnej (obecnie Pracownia Hematologii Eksperymentalnej) Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie przyczyniła się do realizacji prac opublikowanych w m.in. w Anticancer Research (poz. P12) oraz powstania doniesień konferencyjnych o zasięgu krajowym i międzynarodowym. Celem badań była ocena aktywności cytotoksycznej nowych leków przeciwbiałaczkowych o zmodyfikowanej strukturze fenytoiny. W ramach współpracy współodpowiedzialny byłem za dokonanie analizy wpływu bromoalkilowanych pochodnych fenytoiny na ultrastrukturę komórek leukemicznych.

Równolegle do badań nad antrachinonami uczestniczę we współpracy badawczej realizowanej z Poradnią Alergologiczną Wojskowej Specjalistycznej Przychodni Lekarskiej SP ZOZ w Kielcach. Badania te, prowadzone we współpracy z dr n. med. Tadeuszem Obarzanowskim oraz dr Ewą Trybus, dotyczą sezonowej oceny zmian morfologicznych w komórkach nabłonka nosa pacjentów poddawanych leczeniu glikokortykosteroidami i lekami przeciwhistaminowymi. W ramach tej współpracy pełnię funkcję współwykonawcy, uczestnicząc w przygotowaniu materiału do oceny histologicznej. Efektem badań są trzy publikacje oryginalne (poz. P8, P10, P21) oraz doniesienia konferencyjne.

W ramach współpracy z dr Ewą Trybus (Zakład Biologii Medycznej, UJK w Kielcach) obecnie realizuję również badania wpisujące się w aktualny nurt drug repurposing, które obejmują ocenę przeciwnowotworowego działania leków przeciwhistaminowych (poz. P20, P22).

Innym zagadnieniem, którym zajmowałem się w ramach trwającej do chwili obecnej współpracy z Zakładem Immunohematologii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie (z dr hab. n. med. Anną Stachurską- Skrodzką, prof. CMKP), było wykonanie analiz fagocytozy ludzkich erytrocytów przy użyciu mikroskopii konfokalnej i modelowania trójwymiarowego. Nadmieniam, że uzyskane wspólne wyniki badań prezentowane były na międzynarodowych konferencjach: BIT's 8th Annual World Congress of Molecular and Cell Biology (2018) Fukuoka, Japonia, 29th Regional Congress of the ISBT Bazylea, The 36th International Congress of the ISBT, Barcelona oraz konferencji ogólnopolskiej II Poznańskie Dni Cytometrii i Immunopatologii. Wyniki zostały także opublikowane w czasopismach, m.in. w Cell Biology International (poz. P9), Vox Sanguinis (poz. P19) oraz Anticancer Research (poz. P14, P16).

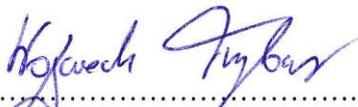
7.3. Plany badawcze i perspektywy dalszego rozwoju naukowego.

Moje plany naukowe obejmują kontynuowanie badań nad oceną cytotoksycznego działania antrachinonów (również w połączeniu z innymi chemioterapeutykami) oraz poznanie ich mechanizmów w komórkach nowotworowych *in vitro* z głównym uwzględnieniem układu lizosomalnego i lizosomalnej śmierci komórkowej. Obecnie rozpocząłem także badania dotyczące wpływu antrachinonów na hodowle komórkowe w modelu 3D, które w większym stopniu odzwierciedlają warunki panujące w organizmie w porównaniu do tradycyjnych hodowli 2D. Nadmieniam, że o finansowanie moich badań będę ubiegał się także ze środków NCN. Obecnie kontynuuje rozpoczęte współprace i prowadzę wspólne doświadczenia, które staną się podstawą do powstania wspólnych publikacji i doniesień konferencyjnych.

Podsumowanie

Dotychczasowy dorobek naukowy obejmuje autorstwo i współautorstwo 37 publikacji naukowych oraz ponad 100 doniesień konferencyjnych prezentowanych na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Przedstawiony cykl publikacji stanowi spójny program badawczy poświęcony analizie mechanizmów przeciwnowotworowego działania antrachinonów w modelach komórkowych.

Badania były realizowane w oparciu o środki finansowe pozyskane w trybie konkursowym, w tym w ramach projektu MINIATURA Narodowego Centrum Nauki, w którym pełniłem funkcję kierownika, a także ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (funkcja kierownika i wykonawcy).


.....
(podpis wnioskodawcy)