

AUTOREFERAT

przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych

(wersja w języku polskim)

Załącznik 2a

dr Izabela Dobrzyńska

Osiągnięcie naukowe zgłoszone do postępowania składającego się na cykl
9 publikacji naukowych wydanych po uzyskaniu stopnia doktora

Temat cyklu prac:

**Modyfikacje parametrów błony komórkowej w odpowiedzi
na działanie czynników fizykochemicznych i biologicznych**

Białystok 2019

1. Dane personalne:

Imię i nazwisko: Izabela Dobrzyńska

Adres służbowy: Zakład Elektrochemii, Instytut Chemii,
Wydział Biologiczno-Chemiczny
Uniwersytet w Białymstoku
ul. Ciołkowskiego 1K
15-245 Białystok
tel. 85 738 80 66
e-mail: izadob@uwb.edu.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

magister chemii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Warszawski Filia w Białymstoku, 1994;

doktor nauk biologicznych, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Uniwersytet w Białymstoku, 2004; Tytuł rozprawy doktorskiej „Powierzchniowa gęstość ładunku komórek zdrowych i zmienionych pod wpływem czynników toksycznych oraz transformacji nowotworowej”, promotor - prof. dr hab. Zbigniew Artur Figaszewski

Recenzenci:

prof. dr hab. Ryszard Farbiszewski (Uniwersytet Medyczny w Białymstoku)

prof. dr hab. Sławomir Strumiło (Uniwersytet w Białymstoku)

3. Informacje o zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.10.1994-30.09.1995	Asystent Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny (wówczas Uniwersytet Warszawski, Filia w Białymstoku, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy), Instytut Chemii
01.10.1995-30.09.2011	asystent mianowany Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Instytut Chemii
od 01.10.2011	adiunkt Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno-Chemiczny, Instytut Chemii

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (nr 65, poz. 595 ze zm.)

A) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Modyfikacje parametrów błony komórkowej w odpowiedzi na działanie czynników fizykochemicznych i biologicznych

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

Uzyskane osiągnięcie stanowi cykl 9 publikacji [H01-H09], opublikowanych w latach 2013 – 2019 o łącznych:

- Impact factor **IF: 19,471** (wg Web of Science)
- Punkty wg **MNiSW: 210**

Lp	Publikacja	IF w roku wydania ^a	IF pięcioletni ^a	Punkty MNiSW
H01	Dobrzyńska I., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Changes in electric properties of human breast cancer cells. 2013, J. Membrane Biol. 246, 161-166.	2.174	2.119	20
<p><i>Mój wkład: udział w opracowaniu koncepcji pracy, wykonanie oznaczeń i opracowanie wyników, interpretacja obliczeń teoretycznych, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 70 %</p>				
H02	Dobrzyńska I., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effects of novel dinuclear cisplatinum (II) complexes on the electric properties of human breast cancer cells. 2014, J. Membrane Biol. 247, 167-173.	2.457	2.407	20
<p><i>Mój wkład: udział w opracowaniu koncepcji pracy, wykonanie oznaczeń i opracowanie wyników, interpretacja obliczeń teoretycznych, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 75 %</p>				
H03	Dobrzyńska I., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effects of novel dinuclear cisplatinum (II) complexes on the electrical properties of human Molt-4 leukemia cells. 2015, Cell Biochem. Biophys. 71, 1517-1523.	1.627	1.789	20
<p><i>Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wykonanie oznaczeń i opracowanie wyników, interpretacja obliczeń teoretycznych, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 80 %</p>				

H04	Dobrzyńska I. , Szachowicz-Petelska B., Darewicz B., Figaszewski Z.A., Characterization of human bladder cell membrane during cancer transformation. 2015, J. Membrane Biol. 248, 301-307.	1.991	2.174	20
<i>Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wykonanie części oznaczeń i opracowanie wyników, przeprowadzenie obliczeń teoretycznych i ich opracowanie, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 75 %				
H05	Dobrzyńska I. , Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effects of UVB radiation on the physicochemical properties of fibroblasts and keratinocytes. 2016, J. Membrane Biol. 249, 319-325.	1.696	1.877	20
<i>Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wykonanie części oznaczeń i opracowanie wyników, przeprowadzenie obliczeń teoretycznych i ich opracowanie, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 80 %				
H06	Dobrzyńska I. , Kotyńska J., Szachowicz-Petelska B., Figaszewski Z.A., Determination of association constants of monovalent ions to sphingomyelin and phosphatidylinositol liposomal membranes by microelectrophoresis. 2017, Soft Materials 15, 113-120.	1.132	1.111	25
<i>Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wykonanie większości oznaczeń i opracowanie wyników, wyprowadzenie równań, wykonanie obliczeń, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 80%				
H07	Dobrzyńska I. , Gęgotek A., Gajko E., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effects of rutin on the physicochemical properties of skin fibroblasts membrane disruption following UV radiation. 2018, Chem. Biol. Interact. 282, 29-35.	3.296	3.308	30
<i>Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wykonanie większości oznaczeń i opracowanie wyników, przeprowadzenie obliczeń teoretycznych i ich interpretacja, udział w dyskusji i przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy: 75%				
H08	Dobrzyńska I. , Szachowicz-Petelska B., Weresa J., Figaszewski Z.A., Skrzydlewska E., Changes in physicochemical properties of kidney cells membrane as a consequence of hypertension and treatment of hypertensive rats with FAAH inhibitor. 2019, Chem. Biol. Interact. 299, 52-58.	3.296	3.308	30
<i>Mój wkład: opracowanie koncepcji pracy, wykonanie większości oznaczeń i opracowanie wyników, przeprowadzenie obliczeń teoretycznych i ich interpretacja, opracowanie dyskusji, udział w przygotowaniu manuskryptu, autor korespondencyjny.</i> Udział procentowy 75%				
H09	Dobrzyńska I. , Association equilibria of divalent ions on the surface of liposomes formed from phosphatidylcholine. 2019, Eur. Phys. J. E 42:3.	1.802	1.799	25
<i>Mój wkład: przygotowanie publikacji od koncepcji, poprzez badania, aż do zredagowania</i>				

<i>i opublikowania manuskryptu. Udział procentowy: 100 %</i>			
Suma	19.471	19.892	210
Średni IF na jedną pracę	2.16	2.21	

^a Wskaźnik IF według Thompson Reuter Journal Citation Report w roku opublikowania lub za 2017 rok (dla prac z 2018 i 2019 roku).

^b Punktacja MNISW określona według roku wydania publikacji.

C) Omówienie osiągnięcia naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Błona komórkowa jest półprzepuszczalną strukturą, która oddziela wnętrze komórki od środowiska zewnętrznego. Podstawą struktury błony komórkowej jest dwuwarstwa fosfolipidowa. Ponadto w skład błony wchodzi inne związki, do których należą inne lipidy, białka, węglowodany, które pełniąc szereg różnych funkcji, w tym funkcje transportowe, receptorowe czy sygnałowe zapewniają komórce integralność jak również możliwość kontaktu z otoczeniem¹.

O właściwościach błony komórkowej decyduje m.in. jej skład, asymetria, grubość oraz płynność, jak również napięcie międzyfazowe oraz szereg parametrów elektrycznych charakteryzujących błonę. Do podstawowych parametrów elektrycznych opisujących błonę komórkową należą: potencjał elektrokinetyczny, potencjał transmembranowy, powierzchniowa gęstość ładunku elektrycznego². Wartości tych parametrów ulegają modyfikacjom pod wpływem różnych czynników endo- i egzogennych, w tym reaktywnych form tlenu (RFT) generowanych w czasie metabolizmu komórkowego jak i pod wpływem czynników fizycznych, np. promieniowanie UV, jak również chemicznych, takich jak związki toksyczne oraz substancje o charakterze antyoksydacyjnym^{3,4,5}. Pomimo prowadzonych na szeroką skalę badań dotyczących właściwości błon komórkowych i ich odpowiedzi na zmiany patofizjologiczne w komórce jak i czynniki egzogenne nadal wiele aspektów metabolicznych pozostaje niejasnych.

Ponieważ zmieniona kompozycja składników błony komórkowej może wpływać na właściwości elektryczne błony i równowagi między składnikami błony komórkowej a jej otoczeniem dlatego w celu analizy i wyjaśnienia procesów zachodzących w błonie, jako

¹ Collawn J.F., Bebök Z., Structure and Functions of Biomembranes. Current Topics in Membranes. 2008, 61, 1-21.

² Khalid M.A.A., Membrane Electrochemistry: Electrochemical Processes in Bilayer Lipid Membrane. W Electrochemistry, red. Mohammed Khalid, InTech, 2013, 71-92. DOI: 10.5772/55507

³ Zhang Y., Yang M., Portney N.G., Cui D., Budak G., Ozbay E., Ozkan M., Ozkan C.S., Zeta potential: a surface electrical characteristic to probe the interaction of nanoparticles with normal and cancer human breast epithelial cells. Biomed Microdevices 2008, 10, 321–328.

⁴ Łuczaj W., Gęgotek A., Skrzydlewska E., Antioxidants and HNE in redox homeostasis. Free Radic. Biol. Med. 2017, 111, 87-101.

⁵ Gaikwad S.S., Avari J.G., Effect on morphology, osmotic fragility and electro kinetic potential of erythrocytes in hypertension. Curr. Hypertens. Rev. 2017, 13, 132-137.

rozszerzenie badań biomedycznych, postanowiłam wykorzystać metody elektrochemiczne. Jednak złożoność błon naturalnych uniemożliwia jednoznaczną interpretację i wyjaśnienie konkretnych oddziaływań pomiędzy składnikami błony a składnikami otoczenia. Z tego powodu potrzebne są badania z wykorzystaniem układów uproszczonych takich jak modele sztucznie konstruowanych układów o określonym składzie lipidowym.

W związku z powyższym badania moje dotyczyły oceny modyfikacji we właściwościach fizykochemicznych, w tym elektrycznych, naturalnych błon komórkowych pod wpływem:

- zmian patofizjologicznych w żywym organizmie takich jak,
 - transformacja nowotworowa oraz działania terapeutyczne potencjalnych związków przeciwnowotworowych,
 - nadciśnienie tętnicze oraz wpływ związków o potencjalnym działaniu leczniczym,
- promieniowania UVA i UVB oraz skuteczności protekcyjnego działania związków naturalnych o właściwościach antyoksydacyjnych na błony komórek skóry w hodowli *in vitro*.

W celu dokładniejszego wyjaśnienia zjawisk zachodzących na granicy fazy błona komórkowa/środowisko zastosowałam liposomy, w których dwuwarstwa lipidowa odpowiada błonie komórkowej, natomiast roztwór zewnętrzny liposomu pełni rolę środowiska. Badania parametrów fizykochemicznych błony liposomalnej w zależności od składu środowiska przy dobrze sprecyzowanym składzie błony i środowiska mogą być dokładne i jednoznacznie interpretowane. Wiele z wygenerowanych obserwacji można zastosować do wyjaśnienia zmian dotyczących równowag adsorpcyjnych pomiędzy błonami naturalnymi a środowiskiem.

Wiadomo, że zmiany patofizjologiczne w organizmach żywych, takie jak np. transformacja nowotworowa lub rozwój nadciśnienia mogą być zapoczątkowane modyfikacjami chemicznymi komponentów przemian metabolicznych jak i związków stanowiących podstawę budowy błon biologicznych, takich jak błona komórkowa i mitochondrialna⁶. Wykazano m.in., że komórki zmienione nowotworowo charakteryzują się zmienionym składem błon biologicznych, co w konsekwencji może prowadzić do utraty zdolności komórek do zmiany ich kształtu, przepuszczalności, jak też interakcji międzykomórkowych^{7,8,9}. Wynikiem tego są zaburzenia w wewnątrzkomórkowym stężeniu

⁶ Seeger P.G., Wolz S., Successful Biological Control of Cancer: By Combat Against the Causes. Gesamtherstellung: Neuwieder Verlagsgesellschaft mbH, 1990.

⁷ Podo F., Sardanelli F., Iorio E., Canese R., Carpinelli G., Fausto A., Canevari S., Abnormal Choline Phospholipid Metabolism in Breast and Ovary Cancer: Molecular Bases for Noninvasive Imaging Approaches. Current Medical Imaging Reviews, 2007, 3, 123-137.

⁸ Friedl P., Wolf K., Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. Nature Reviews. Cancer 2003, 2,362-374.

jonów potasu i sodu oraz wody w porównaniu do komórek niezmiennych nowotworowo lub komórek organizmu charakteryzującego się nadciśnieniem tętniczym^{6,10}. Zmiana zawartości jonów w komórce, szczególnie wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów sodu i wzrost ujemnego ładunku w glikokaliksie stanowią główne czynniki powodujące, że komórki nowotworowe mają niższy potencjał błonowy, niż komórki niezmiennone nowotworowo^{11,12}. Oceniając właściwości elektryczne błony komórek pęcherza moczowego człowieka wykazałam, że pod wpływem transformacji nowotworowej dochodzi do wzrostu zawartości fosfolipidów oraz obniżenia ilości białek integralnych błony komórkowej i jej ładunku elektrycznego [H04]. Badania te prowadziłam w kooperacji z zespołem Kliniki Urologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku [kierownik prof. dr hab. B. Darewicz]. Wprowadzając wyniki pomiarów zależności ładunku elektrycznego błony komórkowej w funkcji pH do równań teoretycznych, które wyprowadziłam, opisujących zależność ładunku od składu roztworu wyznaczyłam parametry takie jak całkowite stężenie grup naładowanych ujemnie (C_{TA}) jak i dodatnio (C_{TB}) oraz ich stałe asocjacji z jonami H^+ (K_{AH}) i OH^- (K_{BOH}). Analizując taki model zjawiska zaobserwowałam, że pod wpływem transformacji nowotworowej dochodzi do wzrostu stężenia C_{TA} , C_{TB} , K_{BOH} oraz obniżenia wartości K_{AH} co może sugerować zachodzenie procesu degradacji lub modyfikacji cząsteczek białek czemu towarzyszy pojawienie się nowych grup naładowanych ujemnie i dodatnio, czego konsekwencją może być odsłonięcie grup funkcyjnych fosfolipidów. Obniżenie wartości K_{AH} wskazuje, że podczas transformacji nowotworowej pojawia się więcej grup naładowanych ujemnie o charakterze bardziej kwasowym i/lub zmniejsza się liczba grup naładowanych dodatnio, co może prowadzić między innymi do zmian przepuszczalności błon, jak też interakcji międzykomórkowych.

Ponieważ wiadomo, że rozwojowi nowotworów towarzyszy wzrost generacji reaktywnych form tlenu (RFT) oraz zaburzenia w funkcjonowaniu systemów utleniająco-redukujących komórek, prowadzi to do stresu oksydacyjnego, czego konsekwencją są oksydacyjne modyfikacje składników błon komórkowych zwłaszcza wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFAs) jak też białek, co wpływa na obniżenie ładunku elektrycznego i potencjału błony komórkowej¹³. Ważną rolę w leczeniu chorób nowotworowych odgrywa chemioterapia. Jednym z podstawowych i ciągle skutecznych leków przeciwnowotworowych jest cisplatyna, która charakteryzuje się jednak wysoką

⁹ Gou W., Giancotti F.G., Integrin signalling during tumour progression. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2004, 5, 816–826.

¹⁰ Abdul M., Hoosein N., Expression and activity of potassium ion channels in human prostate cancer. *Cancer Lett.* 2002, 186(1), 99-105.

¹¹ Cure JC. Cancer an electrical phenomenon. *Resonant* 1991; 1(1).

¹² Yang M., Brackenbury W.J., Membrane potential and cancer progression. *Front Physiol.* 2013, 4, 185.

¹³ Reis A., Spickett C.M., Chemistry of phospholipid oxidation. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Biomembr.* 2012 1818, 2374–2387.

cytotoksycznością. W związku z tym poszukuje się związków pochodnych cisplatyny o podobnym działaniu przeciwnowotworowym, ale nie wywołujących tak wiele skutków ubocznych^{14,15}. Dlatego, w kooperacji z zespołem prof. E. Skrzydlewskiej z Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku postanowiłam sprawdzić efektywność dwurdzeniowych berenilowych pochodnych platyny (II), co zrealizowałam w ramach projektu KBN „Udział stresu oksydacyjnego w działaniu biologicznym berenilowych pochodnych platyny”, którego byłam głównym wykonawcą. Przeprowadzone badania jednoznacznie wykazały, że zarówno transformacja nowotworowa jak i potencjalne związki przeciwnowotworowe nasilają generowanie RFT i w konsekwencji nasilają peroksydację lipidów [H01, H02, H03]. Stwierdziłam, że berenilowe pochodne platyny (II) bardziej efektywnie niż cisplatyna modyfikują strukturę i właściwości elektryczne błony komórek raka piersi linii, zarówno hormono-zależnych jak i hormono-niezależnych (MCF-7 i MDA-MB231) [H02] oraz komórek białaczki ludzkiej linii MOLT-4 [H03], powodując obniżenie wartości parametrów C_{TA} i K_{BOH} oraz podwyższenie wartości C_{TB} i K_{AH} błony w komórkach nowotworowych poddanych działaniu berenilowych pochodnych cisplatyny w porównaniu z komórkami nowotworowymi [H02-H03]. Wskazuje to, iż zaproponowane przeze mnie parametry pozwalają na szybką i jednoznaczną ocenę kondycji błon komórkowych jako odpowiedzi komórki na zastosowane związki.

Również w przypadku nadciśnienia tętniczego obserwuje się zarówno u ludzi jak i zwierząt eksperymentalnych zwiększone wytwarzanie RFT i obniżenie zdolności antyoksydacyjnych, co powoduje, że powstający stres oksydacyjny, odgrywa ważną rolę w rozwoju nadciśnienia tętniczego oraz niewydolności nerek^{16,17,18}. RFT wpływa również bezpośrednio na reakcje zapalne, odpowiedzialne za dalszy wzrost ciśnienia tętniczego¹⁹. Wykazałam, że podczas nadciśnienia zarówno pierwotnego jak i wtórnego dochodzi do zmian powierzchniowej gęstości ładunku, potencjału zeta błony komórek nerek szczurów wskazujących na modyfikację jej struktury, przy czym większe zmiany zaobserwowano w przypadku szczurów z nadciśnieniem wtórnym [H08]. Stwierdziłam również wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów, co korespondowało ze spadkiem poziomu

¹⁴ Farrell N. Metal complexes as drugs and chemotherapeutic agents. *Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier Ltd., London 2003, 9: 809–840.

¹⁵ Johnson N.P., Butour J.L., Villani G. Metal antitumor compounds: the mechanism of action of platinum complexes. *Prog. Clin. Biochem. Med.* 1989, 10, 1–24.

¹⁶ Biernacki M., Ambrożewicz E., Gęgotek A., Toczek M., Bielawska K., Skrzydlewska E., Redox system and phospholipid metabolism in the kidney of hypertensive rats after FAAH inhibitor URB597 administration. *Redox Biol.* 2018, 15, 41–50.

¹⁷ González J., Valls N., Brito R., Rodrigo R. Essential hypertension and oxidative stress: New insights. *World J. Cardiol.* 6 (2014) 353-66.

¹⁸ Vaziri N.D., Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. *Iran. J. Kidney Dis.* 2008 2, 1–10.

¹⁹ Harrison D.G., Vinh A., Lob H., Madhur M.S., Role of the adaptive immune system in hypertension. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010, 10, 203-207.

wszystkich fosfolipidów oraz zwiększeniem ilości kwasu sjałowego jak też integralnych białek w błonach komórek nerki **[H08]**. Towarzyszy temu wzrost wartości C_{TA} i K_{BOH} oraz obniżenia wartości K_{AH} błony komórek nerki w porównaniu do grupy kontrolnej. Badania te prowadziłam w kooperacji z zespołem Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej oraz Fizjologii i Patofizjologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku [kierownicy: prof. dr hab. E. Skrzydlewska i prof. dr hab. B. Malinowska].

RFT generowane podczas nadciśnienia zmieniają enzymatyczny metabolizm fosfolipidów, który prowadzi między innymi do nasilonego wytwarzania endokannabinoidów biorących udział w regulacji RFT i poziomów czynników zapalnych^{20,21}. Główne endokannabinoidy i ich receptory występują w komórkach nerek człowieka i zwierząt eksperymentalnych^{22,23}. Uważa się, że podwyższanie poziomu endokannabinoidów sprzyja obniżaniu ciśnienia krwi, a poziom endokannabinoidów, szczególnie anandamidu, regulowany jest głównie przez hydrolazę amidów kwasów tłuszczowych (FAAH), która jest odpowiedzialna za degradację tego endokannabinoidu²⁴. Dlatego też uważa się, że inhibitory FAAH mogą być potencjalnymi lekami przeciwnadciśnieniowymi. Stwierdziłam, że podanie URB597 szczurom z nadciśnieniem pierwotnym częściowo zapobiega zmianom we właściwościach elektrycznych błony komórkowej powodowanym przez nadciśnienie, co ujawnia się w wartościach parametrów charakteryzujących błonę (C_{TA} , K_{AH} i K_{BOH}), a jak też zawartości kwasu sjałowego i białek. Nie obserwuje się jednak obniżenia poziomu stresu oksydacyjnego, co może wpływać na metaboliczne funkcje nerek. URB597 podawany szczurom z nadciśnieniem wtórnym nie przeciwdziała, a raczej nasila zmiany powodowane przez nadciśnienie w nerce **[H08]**.

Podsumowując wyniki eksperymentów prowadzonych z wykorzystaniem komórek z organizmów zwierzęcych [człowieka i szczura] oraz oceny nowych związków – berenilowych pochodnych cisplatyny o potencjalnych właściwościach przeciwnowotworowych na komórkach zmienionych nowotworowo potwierdziły, że zastosowany przeze mnie model badawczy okazał się uniwersalnym i szybkim sposobem na skringową ocenę stanu naturalnych błon biologicznych. Pozwoliło to zaproponować, że

²⁰ Luo W.M., Kong J., Gong Y., Liu X.Q., Yang R.X., Zhao Y.X., Tongxinluo protects against hypertensive kidney injury in spontaneously-hypertensive rats by inhibiting oxidative stress and activating forkhead Box O1 signaling. *PLoS One* 2015, 10, e0145130.

²¹ Fonseca B.M., Cost M.A., Almada M., Correia-da-Silva G., Teixeira N.A., Endogenous cannabinoids revisited: a biochemistry perspective. *Prostag. Oth. Lipid M.* 2013, 103, 13–30.

²² Barutta F., Piscitelli F., Pinach S., Bruno G., Gambino R., Rastaldi M.P., Salvidio G., Di Marzo V., Cavallo Perin P., Gruden G., Protective role of cannabinoid receptor type 2 in a mouse model of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2011, 60, 2386–2396.

²³ Larrinaga G., Varona A., Pérez I., Sanz B., Ugalde A., Cándenas M.L., Pinto F.M., Gil J., López J.I., Expression of cannabinoid receptors in human kidney. *Histol. Histopathol.* 2010, 25, 1133–1138.

²⁴ Siegmund S.V., Seki E., Osawa Y., Uchinami H., Cravatt B.F., Schwabe R.F., Fatty acid amide hydrolase determines anandamide induced cell death in the liver. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 10431–10438.

tego typu badania mogą pomóc stworzyć efektywny panel diagnostyczny pozwalający na ocenę stopnia zaawansowania choroby jak i efektywności farmakoterapii.

Niezależnie od wykorzystania mojego modelu badawczego do oceny zmian właściwości błon biologicznych w zmienionych chorobowo organizmach żywych jak i efektywności potencjalnej farmakoterapii w celu dokładniejszej oceny postanowiłam sprawdzić wpływ egzogennych czynników fizycznych i chemicznych na zmiany w strukturze i właściwościach fizykochemicznych błon komórek skóry w warunkach *in vitro*.

W ciągu ostatnich lat, ze względu na wzrastającą liczbę chorób skóry, w tym nowotworów, wzrasta liczba badań nad wpływem promieniowania UVA i UVB stanowiącego część promieniowania słonecznego. Chroniczne narażenie skóry człowieka na promieniowanie UV docierające do ziemi (UVA, UVB) indukuje szereg zmian biologicznych, które są bezpośrednio lub pośrednio zaangażowane w rozwój raka i fotostarzenie skóry^{25,26}. Zarówno promieniowanie UVA jak i UVB nasilają stres oksydacyjny w komórkach skóry, co sprzyja modyfikacji składników komórek, w tym błon komórkowych²⁷. Zmiany w składzie błon znacząco wpływają na ich właściwości elektryczne, a także na równowagi między elementami błony komórkowej a jej otoczeniem. W związku z tym przy współpracy z Zakładem Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku [kierownik: prof. E. Skrzydlewska] określiłam wpływ promieniowania UVA i UVB na właściwości fizykochemiczne w tym elektryczne błony komórkowej podstawowych komórek naskórka jakimi są keratynocyty oraz skóry właściwej – fibroblastów **[H05, H07]**. Wykazałam, że pod wpływem promieniowania UVA jak i UVB dochodzi do wzrostu poziomu produktów peroksydacji lipidów, zawartości kwasu sjałowego oraz ładunku ujemnego błony fibroblastów jak i keratynocytów, co skutkuje wzrostem stężenia C_{TA} , C_{TB} , K_{BOH} oraz obniżenia wartości K_{AH} . Uzyskane wyniki wskazywały, że zmiany te są spowodowane wzrostem poziomu kwasu sjałowego, który jest nośnikiem ładunku ujemnego i ekspozycją fosfatydyloseryny na zewnętrzną powierzchnię błony. Powoduje to pojawienie się dodatkowych grup naładowanych ujemnie i pociąga za sobą zmiany w C_{TA} . Obecność grup funkcyjnych pochodzących od kwasu sjałowego i fosfatydyloseryny może spowodować obniżenie wartości stałej asocjacji grup naładowanych ujemnie błony, ponieważ te grupy mają mniejsze wartości K_{AH} ²⁸ niż błona komórkowa.

²⁵ Mahler H.I., Kulik J.A., Gerrard M., Gibbons F.X. Effects of photoaging information and UV photo on sun protection intentions and behaviours: a cross-regional comparison. *Psychol. Health*. 2013, 28,1009–1031.

²⁶ Tao S., Justiniano R., Zhang D.D., Wondrak G.T. The Nrf2-inducers tanshinone I and dihydrotanshinone protect human skin cells and reconstructed human skin against solar simulated UV. *Redox. Biol.* 2013, 1, 532–541.

²⁷ Gęgotek A., Bielawska K., Biernacki M., Dobrzyńska I., Skrzydlewska E., Time-dependent effect of rutin on skin fibroblasts membrane disruption following UV radiation. *Redox Biol.* 2017, 12, 733-744.

²⁸ Dobrzyńska I., Kotyńska J., Figaszewski Z.A., Changes in electrical charge of phosphatidylcholine and phosphatidylserine liposomal membranes caused by adsorption of monovalent ions. *Chem. Anal. (Warsaw)* 2007, 52, 931-943

W celu ochrony komórek skóry przed szkodliwym działaniem promieniowania UV, poszukuje się związków fotoprotekcyjnych zwłaszcza naturalnych. Do związków takich należą flawonoidy, wśród których znajduje się rutyna (glikozyd kwercetyny)^{29,30}. Nasze badania wykazały, że zastosowanie rutyny zmniejsza stres oksydacyjny co skutkuje obniżeniem peroksydacji lipidów, zawartości kwasu sjałowego i w konsekwencji ujemnego ładunku elektrycznego błony fibroblastów poddanych działaniu UV w porównaniu z komórkami poddanymi tylko działaniu promieniowaniem UV [H07]. W wyniku zmian właściwości fizykochemicznych, w tym elektrycznych, dochodzi do zmiany w parametrach charakteryzujących błonę (C_{TA} , C_{TB} , K_{AH} i K_{BOH}). Uzyskane wyniki wskazują na silne powiązanie parametrów charakteryzujących błony fibroblastów i indukowanego przez UV stresu oksydacyjnego w fibroblastach, co może być wykorzystane przy ocenie efektywności związków chroniących skórę przed szkodliwym działaniem promieniowania UV.

Z powyższej analizy wynika, że zastosowany przeze mnie model badawczy do oceny błon komórkowych jest efektywny i daje wiarygodne wyniki. Przedstawione wyniki prezentują nowe podejście do badań oceniających oddziaływanie substancji znajdujących się w środowisku na składniki błon. Opisywanie tych zjawisk ilościowo za pomocą odpowiednich równań i bilansów stężeń umożliwia analizę wpływu warunków i składu środowiska na właściwości błon komórkowych. Daje to możliwość dokładniejszego poznania zjawisk koniecznych do lepszego zrozumienia mechanizmów funkcjonowania komórek zmienionych chorobowo. Posiadanie ilościowego opisu równowag z udziałem błon biologicznych stworzyło możliwości oceny skuteczności różnych związków o działaniu terapeutycznym. Dlatego też można stwierdzić, że zaproponowany przeze mnie model badawczy może stanowić szybki, efektywny i tani element diagnostyki medycznej jak również może być wykorzystywany do oceny farmakoterapii, zwłaszcza terapii spersonalizowanej, wymagającej stałej oceny stanu pacjenta.

Ze względu na złożoną budowę błon biologicznych wiedza na temat zmian w strukturze i właściwościach błon pod wpływem różnych czynników jest nadal niepełna. W celu określenia równowag adsorpcyjnych pomiędzy grupami funkcyjnymi składników błony a jonami znajdującymi się w środowisku, obok eksperymentów z wykorzystaniem błon naturalnych, prowadzę również badania na sztucznych dwuwarstwach lipidowych (liposomach). Badania przeprowadziłam na liposomach jednoskładnikowych uformowanych z fosfatydylocholiną (PC), sfingomieliną (SM) i fosfatydyloinozytolem (PI), jak i z dwuskładnikowych składających się z mieszaniny lipidów o różnym stosunku molowym

²⁹ Chaiprasongsuk A., Onkoksoong T., Pluemsamran T., Limsaengurai S., Panich U. Photoprotection by dietary phenolics against melanogenesis induced by UVA through Nrf2-dependent antioxidant responses. *Redox Biol.* 2016, 8, 79–90.

³⁰ Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3396–3402.

(sfingomielina-fosfatydyloinozytol) **[H06, H09]**. Wybór tych lipidów podyktowany był faktem, iż PC jest głównym fosfolipidem błon organizmów eukariotycznych i stanowi około 40-60% całkowitej zawartości fosfolipidów³¹. Natomiast PI i SM jak też ich pochodne odgrywają ważną rolę w sygnalizacji komórkowej. Oprócz tego liposomy składające się z fosfatydyloinozytolu zostały wykorzystane jako nośniki leków i białek^{32,33}. W komórkach ssaków, sfingomielina jako jeden z głównych sfingolipidów, odgrywa również ważną rolę w patogenezie niektórych chorób. W pracach zaproponowałam modele matematyczne opisujące równowagi adsorpcyjne pomiędzy jonami jednowartościowymi znajdującymi się w roztworze a grupami funkcyjnymi SM i PI **[H06]**, jak też jonami dwuwartościowymi znajdującymi się w roztworze a grupami funkcyjnymi PC **[H09]**. Wszegobecność jednowartościowych i dwuwartościowych jonów w układach biologicznych wymaga przeprowadzenia analizy opisującej wpływ, jaki te jony mogą wywierać na funkcjonowanie komórek, a w konsekwencji organizmu żywego. Na podstawie zaproponowanych równań matematycznych i danych eksperymentalnych zależności powierzchniowej gęstości ładunku od pH wyznaczyłam stałe asocjacji grup funkcyjnych fosfolipidów SM z jonami H⁺, OH⁻, Na⁺ i Cl⁻, PI z jonami H⁺ i Na⁺ **[H06]** oraz PC z jonami H⁺, OH⁻, Me²⁺ (Ca²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺) i Cl⁻ **[H09]**. Stwierdziłam zgodność pomiędzy teoretycznymi i eksperymentalnymi wartościami powierzchniowej gęstości ładunku dla liposomów uformowanych tylko z czystych lipidów. Natomiast w przypadku liposomów uformowanych z mieszaniny dwóch lipidów (SM-PI) zgodność krzywej teoretycznej z punktami doświadczalnymi jest obserwowana tylko przy niskich wartościach pH. Może to świadczyć o tworzeniu się kompleksu pomiędzy grupami aminowymi SM a grupami fosforanowymi PI oraz równowagi między grupami fosforanowymi w kompleksie pochodzącym od SM a jonami roztworu. Stwierdziłam również, że proces asocjacji jedno- i dwuwartościowych jonów elektrolitu do błony jest jednak na tyle znaczący, że konieczne jest jego uwzględnienie przy rozpatrywaniu i interpretacji zjawisk jakie zachodzą na powierzchni błony. Zmniejsza on bowiem efektywne stężenie powierzchniowe grup funkcyjnych do reakcji i wszelkich oddziaływań ze środowiskiem.

W związku z powyższym w dalszej pracy naukowej chciałabym rozwinąć zaproponowany model uwzględniający złożony skład błony sztucznej zawierającej podstawowe fosfolipidy i równowagi pomiędzy nimi oraz dokonać teoretycznego opisanie i doświadczalnej weryfikacji równowag pomiędzy taką błoną a składnikami roztworu zawierającego związku o potencjalnym działaniu terapeutycznym. Badania te zamierzam

³¹ Kent C., Regulatory enzymes of phosphatidylcholine biosynthesis: a personal perspective. *Biochim. Biophys. Acta* 2005, 1733, 53-66.

³² Peng A., Straubinger R.M., Balu-Iyer S.V., Phosphatidylinositol containing lipidic particles reduces immunogenicity and catabolism of factor VIII in hemophilia a mice. *AAPS Journal* 2010, 12, 473-481

³³ Klopfenstein D.R., Tomishige M., Stuurman N., Vale R.D., Role of phosphatidylinositol(4,5) bisphosphate organization in membrane transport by the Unc104 Kinesin Motor. *Cell* 2002, 109, 347-358.

rozszerzyć na wpływ pola elektrycznego na właściwości błon. Wywołane polem elektrycznym takie zjawiska jak elektrostrykcja czy elektroporacja mogą mieć znaczący wpływ na działanie różnych czynników, w tym potencjalnych związków leczniczych.

Ponadto w ramach współrealizacji projektu NCN „Kannabidiol jako potencjalny czynnik terapeutyczny w łuszczycy oraz jego rola w stabilizacji fizjologicznego poziomu mediatorów lipidowych” (2016/23/B/NZ7/02350 - kierownik prof. dr hab. E. Skrzydlewska) podjęłam działania dotyczące wpływu roślinnego kannabinoidu – kannabidiolu, związku o działaniu przeciwzapalnym, na liposomy oraz komórki skóry w hodowli jak i zmienione chorobowo. Badania te prowadzę we współpracy z zespołem UMB jak i zespołem naukowym z Zagrzebia [prof. N. Zarkovica], który specjalizuje się w ocenie peroksydacji lipidów błonowych.

Włączyłam się również do zaplanowanych na wiele lat badań, prowadzonych przez zespoły UMB, z którymi współpracuję od lat, dotyczących wpływu chorób przenoszonych przez kleszcze m.in. na metabolizm fosfolipidów. Będę uczestniczyć w ocenie zmian w strukturze i funkcjach fizykochemicznych błon komórek krwi i skóry pacjentów z monoinfekcjami i koinfekcjami. Mam nadzieję, że tematyka ta stanie się podstawą rozwoju naukowego moich młodych współpracowników, natomiast z punktu widzenia naukowego pozwoli na stworzenie panelu biomarkerów chorób przenoszonych przez kleszcze. Realizacja projektu umożliwi również ustalenie czy długotrwałe leczenie wieloma różnymi antybiotykami jest bezpieczne dla pacjentów oraz czy osoby bezobjawowe narażone na wielokrotne pokłucia przez kleszcze wykazują różnice w profilu lipidomicznym w porównaniu z pacjentami symptomatycznymi. Wyniki uzyskane w trakcie realizacji projektu mogą zmienić radykalnie spojrzenie na diagnostykę i farmakoterapię chorób przenoszonych przez kleszcze.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

A. Dane bibliometryczne

Łączny mój dorobek obejmuje 39 prac naukowych, o sumarycznym **IF 53,622** natomiast łączna punktacja **MNiSW** wynosi **593**, **indeks Hirscha** wg Web of Science 11, **sumaryczna liczba cytowań** Web of Science 399. Ponadto jestem współautorem doniesień zjazdowych w tym 28 krajowych i 18 zagranicznych, których streszczenia zostały opublikowane w czasopiśmie lub materiałach zjazdowych.

Łączny dorobek naukowy wynosi:

- Impact factor IF: 53,622
- Punkty wg MNiSW: 593
- Indeks Hirscha wg Web of Science: **11** – z dnia 15.02.2019
- Liczba cytowań wg Web of Science: 399 (332 bez autocytoowań) – z dnia 15.02.2019.

Natomiast dorobek naukowy nie wchodzący w skład osiągnięcia naukowego obejmuje 30 publikacji naukowych o łącznych parametrach:

- Impact factor IF: 34,151
- Punkty wg MNiSW: 383.

B. Tematyka prac badawczych nie wchodzących w skład osiągnięcia wymienionego w punkcie 4

I. Prace przed uzyskaniem stopnia doktora

Od początku mojej pracy, działalność naukowa związana była z Zakładem Elektrochemii na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. W tym czasie w Zakładzie rozwijano tematyki naukowe oparte o nowoczesne techniki i metodologie badawcze wynikające z wykorzystania zjawisk i właściwości fizykochemicznych takie jak elektroforeza, napięcie powierzchniowe, impedancja elektrochemiczna czy tworzenie mono- i poliwarstw do oceny odpowiedzi błon biologicznych na czynniki zewnętrzne.

Moje zainteresowania naukowe skupiły się wokół zmian właściwości elektrycznych błon komórkowych zachodzących pod wpływem różnych czynników. W początkowych latach pracy sprawdzałam efektywność ochronnego działania substancji o działaniu antyoksydacyjnym (N-acetylocysteina i pochodna witaminy E - preparat U83836E) oraz etanolu w badaniach na szczurach poddawanych działaniu różnych dawek metanolu (1,5; 3,0 i 6,0 g/kg m.c.) [I.1-I.6]. W tym celu wyznaczyłam powierzchniową gęstość ładunku erytrocytów i komórek wątroby szczurów. Pomiarzy przeprowadziłam na wcześniej skonstruowanej przy moim współudziale aparaturze do mikroelektroforezy. Wykazałam, że pod wpływem metanolu dochodzi do wzrostu ładunku ujemnego na powierzchni błony erytrocytów jak i komórek wątroby. Stwierdziłam, że w przypadku erytrocytów zmiany spowodowane są początkowo interakcjami alkoholu, a następnie dochodzi do nasilonej interakcji jego metabolitów z błonami [I.1]. Natomiast w przypadku komórek wątroby zmiany w ładunku błony wynikają ze zmian jej struktury pod wpływem metabolitów metanolu [I.4]. Wykazano, że podanie szczurom antyoksydantu (N-acetylocysteiny lub pochodnej witaminy E - preparat U83836E) znacznie zmniejsza lub nawet zapobiega wzrostowi ujemnego ładunku elektrycznego błony komórek erytrocytów i wątroby szczurów spowodowanemu zatruciem metanolem [I.2, I.5, I.6]. Natomiast podanie etanolu w zatruciu metanolem nie powoduje obniżenia powierzchniowej gęstości ładunku erytrocytów jak i komórek wątroby szczurów w porównaniu do grupy metanolowej [I.3, I.4]. Związane jest to z podobieństwem utleniania metanolu i etanolu. W czasie metabolizmu metanolu jak również etanolu dochodzi do generacji RFT. W związku z tym podanie etanolu nie zmniejsza skutków zatrucia

metanolem. Ponadto sam etanol także może oddziaływać zarówno na układ przeciwutleniający jak i na białka oraz lipidy³⁴.

Kolejne badania dotyczyły oceny ochronnego działania antyoksydantów zawartych w ekstraktach zielonej i czarnej herbaty w chronicznym zatruciu etanolem. Eksperyment był prowadzony na szczurach 2-, 12- i 24-miesięcznych. Wykazałam, że podczas przewlekłego spożywania etanolu jak też wraz z wiekiem zarówno w erytrocytach jak i komórkach wątroby szczurów następuje obniżenie powierzchniowej gęstości ładunku, co zostało opisane w mojej pracy doktorskiej. Stwierdziłam, że podanie ekstraktu z zielonej lub czarnej herbaty zwierzętom zatrutowanym etanolem zapobiega zmianom we właściwościach elektrycznych błony. Związane jest to z występowaniem związków polifenolowych o działaniu antyoksydacyjnym w obu herbatach.

W tym okresie zaobserwowałam również, że pod wpływem transformacji nowotworowej dochodzi do obniżenia powierzchniowej gęstości ładunku błony komórek nowotworowych jelita grubego człowieka niezależnie od przerzutowania nowotworowego [I.7].

Wyniki otrzymane w powyższych badaniach stały się podstawą mojej rozprawy doktorskiej pt. „Powierzchniowa gęstość ładunku komórek zdrowych i zmienionych pod wpływem czynników toksycznych oraz transformacji nowotworowej”.

II. Prace po uzyskaniu stopnia doktora

Konsekwencją obserwacji poczynionych w czasie przygotowywania rozprawy doktorskiej było powiązanie zmian właściwości fizykochemicznych (C_{TA} , C_{TB} , K_{AH} , K_{BOH}) i biochemicznych z właściwościami elektrycznymi (ładunkiem elektrycznym, potencjałem zeta) błony komórkowej, które postanowiłam sprawdzić w praktyce eksperymentalnej. W swoich badaniach wykazałam że przewlekłe spożywanie etanolu powoduje zmiany we właściwościach fizykochemicznych jak i biochemicznych erytrocytów [II.2, II.3, II.5, II.6] i komórek wątroby szczurów [II.1, II.7, II.9, II.10]. Dochodzi do zaburzeń w układzie antyoksydacyjnym oraz strukturze i właściwościach błony komórkowej oraz w aktywności enzymów markerowych uszkodzenia wątroby [II.1]. Stwierdziłam również, że wraz z wiekiem dochodzi do nasilenia powyższych zmian [II.1, II.5]. W przypadku zatrucia etanolem zmiany te są prawdopodobnie spowodowane oddziaływaniem alkoholu i jego metabolitów ze składnikami błony. Natomiast za zmiany obserwowane podczas starzenia się organizmu odpowiedzialne są głównie reaktywne formy tlenu.

³⁴ Lands W.E.M., Cellular signals in alcohol-induced liver injury. A review. Alcoholism Clin. Exp. Res. 1995, 19, 928-938.

Podobnie jak w innych zaburzeniach metabolicznych związanych ze stresem oksydacyjnym również konsekwencje działania etanolu próbuje się niwelować stosując naturalne mieszaniny będące nośnikami związków antyoksydacyjnych zawartych w takich roślinach jak herbata (zielona, czarna), trawa żubrówka (*Hierochloe odorata*), czarna porzeczka, jak również antyoksydanty takie jak L-karnityna. Wszystkie te naturalne substancje poprzez obniżenie aktywności enzymów generujących reaktywne formy tlenu jak również podwyższenie poziomu/aktywności endogennych związków antyoksydacyjnych zwiększają potencjał antyoksydacyjny, dzięki czemu obniżają poziom stresu oksydacyjnego [II.1-II.3, II.5-II.7, II.9, II.10, II.12, II.14, II.16]. Wykazałam, że podanie szczurom w różnym wieku zielonej [II.1-II.3, II.5-II.7, II.9, II.10] lub czarnej [II.2, II.10] herbaty wraz z etanolem zapobiega zmianom w układzie antyoksydacyjnym, właściwościach fizykochemicznych erytrocytów i komórek wątroby oraz zmniejsza ilość produktów peroksydacji lipidów. Stwierdziłam, że większe działanie antyoksydacyjne wykazuje zielona herbata niż czarna, która zawiera w większej ilości katechiny a także flawony, flawonole, depsyne, wolne kwasy polifenolowe oraz chalkony. Badania te prowadziłam jako współwykonawca projektu KBN „Wpływ zielonej herbaty na zdolności antyoksydacyjne organizmu w zatruciu etanolem”, którego kierownikiem była prof. E. Skrzydlewska. Stwierdziłam również, że podawanie wyciągów z trawy żubrówka [II.16], czarnej porzeczki [II.14] oraz L-karnityny [II.12] chroni błony komórek wątroby szczurów w zatruciu etanolem. Wykazałam istotne obniżenie ilości fosfolipidów, wzrost ilości białek integralnych oraz powierzchniowej gęstości ładunku błon komórek wątroby w grupie zwierząt otrzymujących antyoksydanty wraz z etanolem w porównaniu do grupy etanolowej. Zmiany w składzie błony powodują obniżenie wartości C_{TA} , C_{TB} i K_{BOH} oraz wzrost wartości K_{AH} błony komórek wątroby w porównaniu do grupy etanolowej, co korespondowało ze zmianami parametrów biochemicznych.

W kolejnych swoich badaniach dzięki współpracy z Zakładem Patomorfologii i Kliniką Urologii UMB mogłam prowadzić badania nad zmianą właściwości fizykochemicznych i elektrycznych komórek nowotworowych jelita grubego [II.4, II.13] i nerki człowieka [II.15, II.17] o różnym stopniu zaawansowania. Wykazałam, że pod wpływem transformacji nowotworowej dochodzi do zmian w ilości fosfolipidów i białek, co wpływa na zmianę właściwości elektrycznych błony komórek zmienionych nowotworowo jak też jej parametrów fizykochemicznych. Badania te prowadziłam w kooperacji z prof. dr hab. S. Sulkowskim z Zakładu Patomorfologii Ogólnej oraz zespołem Kliniki Urologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku [kierownik prof. dr hab. B. Darewicz]. Zmianom w składzie błony towarzyszyło pojawienie się nowych i/lub zmniejszenie dotychczasowych grup kwasowych i zasadowych. Przy czym wzrost C_{TA} i obniżenie wartości K_{AH} świadczyło, że podczas transformacji

nowotworowej pojawia się więcej grup naładowanych ujemnie o charakterze bardziej kwasowym.

W tym okresie uczestniczyłam również w badaniach dotyczących ochronnego działania rutyny na komórki fibroblastów i liposomów uformowanych z asolektyny podczas promieniowania UVA i UVB. Wyniki badań wykazały, że promieniowanie UV zaburza równowagę redoks oraz strukturę i właściwości błony komórkowej, a podanie rutyny podczas promieniowania w istotny sposób zapobiega powyższym zmianom [II.19]. Wykazano, że promieniowanie UVA i UVB w inny sposób wpływa na interakcję rutyny z błoną fibroblastów. Stwierdzono, że promieniowanie UVA zapoczątkowuje wzrost aktywności transbłonowego transportera rutyny i w wyniku tego przenikanie rutyny przez błonę, podczas gdy promieniowanie UVB wzmacnia wytwarzanie RFT i powoduje silniejszą peroksydację fosfolipidów, wyższą destabilizację i przepuszczalność błony, co ułatwia jej oddziaływanie z fosfolipidami. Badania te prowadziłam w kooperacji z zespołem prof. E. Skrzydlewskiej z Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

Tematyka kolejnych prac obejmowała szerszą ocenę właściwości elektrycznych sztucznych membran lipidowych - liposomów. Ze względu na wszechobecność w układach biologicznych jonów jednowartościowych oraz ich wpływ na funkcjonowanie organizmu zaproponowałam ilościowy opis równowag jonów jednowartościowych (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , H^+ , OH^- , Cl^-) z grupami funkcyjnymi składników liposomów. Badania przeprowadziłam na liposomach uformowanych z fosfatydylocholiny [II.8, II.18], ze względu na jej dominującą zawartość w błonach biologicznych, fosfatydyloseryny [II.8] oraz mieszaniny dwóch lipidów o różnym składzie molowym (fosfatydylocholina-fosfatydyloseryna [II.8], fosfatydylocholina-dodecyloamina [II.11]). Na podstawie danych doświadczalnych powierzchniowej gęstości ładunku w funkcji pH i zaproponowanych równań matematycznych opisujących założone modele wyznaczyłam stałe asocjacji jonów jednowartościowych z grupami funkcyjnymi fosfatydylocholiny, fosfatydyloseryny i dodecyloaminy. Badania wykazały odmienny wpływ jonów litu na właściwości elektryczne błony w porównaniu do innych jonów litowców. Zgodność wyników doświadczalnych z teoretycznymi stanowi podstawę do przyjęcia założonego modelu i może posłużyć do dalszych badań.

Na podstawie przeprowadzonych badań mogę stwierdzić, że moje wyniki stanowią idealne uzupełnienie oceny biochemicznej patofizjologii komórek, co znacznie rozszerza możliwości dyskusji procesów zachodzących pod wpływem czynników chemicznych i fizycznych oraz owocuje wspólnymi publikacjami z grupami zajmującymi się badaniami biomedycznymi.

Publikacje:**Przed uzyskanie stopnia doktora:**

- I.1. Skrzydlewska E., **Dobrzyńska I.**, Figaszewski Z., Oxidative processes and changes of surface charge density of erythrocytes in rat during methanol intoxication. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 1997, 2 (4), 345-353, **MNiSW 4**
- I.2. **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z., Influence of trolox derivative and N-acetylcysteine on surface charge density of erythrocytes in methanol intoxicated rats. *Environ. Toxicol. Phar.* 1999, 8, 15-21, **IF= 0.707; MNiSW=8**
- I.3. **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z., Effect of ethanol on the changes in rat erythrocytes membrane charge density after methanol intoxication. *Acta Pol. Toxicol.* 1999, 7(2), 137-146, **MNiSW=4**
- I.4. Skrzydlewska E., **Dobrzyńska I.**, Kasacka I., Figaszewski Z., Influence of ethanol on the changes in rat liver cells membrane after methanol intoxication. *Pol. J. Environ. Stud.* 1999, 8(2), 248-251. **MNiSW=4**
- I.5. **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Kasacka I., Figaszewski Z., Protective effect of N-acetylcysteine on the membrane liver cells during methanol intoxication" *J. Pharm. Pharmacol.* 2000, 52, 547-552, **IF=1.229; MNiSW=9**
- I.6. Skrzydlewska E., **Dobrzyńska I.**, Kasacka I., Figaszewski Z., Effect of vitamin E derivative (U-83836E) on membranes of rat liver cells after methanol intoxication. *Pol. J. Environ. Stud.* 2001, 10(2), 95-100. **MNiSW=6**
- I.7. Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Figaszewski Z., Sulkowski S., Changes in physico-chemical properties of human large intestine tumour cells membrane" *Mol. Cell. Biochem.* 2002, 238, 41-47, **IF=1.548; MNiSW=10**

Prace po uzyskaniu stopnia doktora:

- II.1. **Dobrzyńska I.**, Śniecińska A., Skrzydlewska E., Figaszewski Z., Green tea modulation of the biochemical and electric properties of rat liver cells that were affected by ethanol and aging. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2004, 9, 709-721. **IF =0.495; MNiSW=7**
- II.2. **Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Changes in electric charge and phospholipid composition in erythrocyte membrane of ethanol – poisoned rats after administration of teas. *Acta Pol. Pharm. Drug Res.* 2004, 61(6), 483-487, **MNiSW=5**
- II.3. Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Influence of green tea on surface charge density and phospholipid composition of erythrocytes membrane in ethanol intoxicated rats. *Cell Biol. Toxicol.* 2005, 21, 61-70, **IF=1.548; MNiSW=15**
- II.4. **Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Sulkowski S., Figaszewski Z.A., Changes in electric charge and phospholipid composition in human colorectal cancer cells", *Mol. Cell. Biochem.* 2005, 276, 113-119, **IF=1.681; MNiSW=15**
- II.5. **Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Ostrowska J., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Protective effect of green tea on erythrocyte membrane of different age rats intoxicated with ethanol. *Chem. Biol. Interact.* 2005, 156, 41-53, **IF=1.968; MNiSW=24**
- II.6. **Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Protective effect of green tea on electric properties of rat erythrocyte membrane during ethanol intoxication. *J. Environ. Biol.* 2006, 27, 161-166, **IF=0.197; MNiSW=10**
- II.7. **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Parameters characterizing acid-base equilibria between cell membrane and solution and their application to monitoring the effect of various factors on the membrane. *Bioelectrochemistry* 2006, 69, 142-147 **IF= 1.88; MNiSW=24**

- II.8. Dobrzyńska I.**, Kotyńska J., Figaszewski Z.A., Changes in electrical charge of phosphatidylcholine and phosphatidylserine liposomal membranes caused by adsorption of monovalent ions. *Chem. Anal. (Warsaw)* 2007, 52, 931-943. **IF=0.622; MNiSW=10**
- II.9. Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effect of green tea on physico-chemical properties of liver cell membranes of rats intoxicated with ethanol. *Pol. J. Environ. Stud.* 2008, 17(3), 327-333, **IF=0.963; MNiSW=13**
- II.10.** Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Changes in phospholipid composition studied by HPLC and properties of liver cell membrane of ethanol-poisoned rats. *Toxicol. Mech. Method.* 2008, 18, 525-530, **IF=0.426; MNiSW=13**
- II.11.** Kotyńska J., **Dobrzyńska I.**, Figaszewski Z.A., Effect of monovalent ion adsorption on the electric charge of phosphatidylcholine – decylamine liposomal membranes. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2008, 40, 637-641, **IF=2.48; MNiSW=20**
- II.12. Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effect of L-carnitine on liver cell membranes in ethanol intoxication. *Chem. Biol. Interact.* 2010, 188, 44-51, **IF=2.832; MNiSW=32**
- II.13.** Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Sulkowski S., Figaszewski Z.A., Characterization of the cell membrane during cancer transformation. *J. Environ. Biol.* 2010, 31, 845-850, **MNiSW=20**
- II.14.** Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Protective effect of blackcurrant on liver cell membrane of rats intoxicated with ethanol. *J. Membrane Biol.* 2012, 245, 191-200, **IF=2.478; MNiSW=20**
- II.15.** Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Skrodzka M., Darewicz B., Figaszewski Z.A., Kudelski J., Phospholipid composition and electric charge in healthy and cancerous parts of human kidneys. *J. Membrane Biol.* 2013, 246, 421-425. **IF=2.174; MNiSW=20**
- II.16. Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Effect of sweet grass (*Hierochloe odorata*) on the physico-chemical properties of liver cell membranes from rats intoxicated with ethanol. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2013, 35, 247-253, **IF=1.862; MNiSW=20**
- II.17.** Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Figaszewski Z.A., Kudelski J., Changes in the physico-chemical properties of human kidney cell membranes during the cancer transformation. *Advances in Biological Chemistry* 2014, 4, 223-231.
- II.18.** Kotyńska J., **Dobrzyńska I.**, Figaszewski Z.A., Association of alkali metal cations with phosphatidylcholine liposomal membranes surface. *Eur. Biophys. J.* 2017, 14, 149-155. **IF=1.935; MNiSW=20**
- II.19.** Gęgotek A., Bielawska K., Biernacki M., **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Time-dependent effect of rutin on skin fibroblasts membrane disruption following UV radiation. *Redox Biol.* 2017, 12, 733-744. **IF=7.126; MNiSW=40**

Monografie:

Prace po uzyskaniu stopnia doktora:

- 1) Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Wpływ czarnej herbaty na właściwości fizykochemiczne błony komórek wątroby szczurów w różnym wieku w zatruciu etanolem, w *Błony biologiczne*, red. J. Gabrielskiej i P. Misiaka. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, 2008, 157-160. **MNiSW=3**
- 2)** Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Skrzydlewska E., Figaszewski Z.A., Zmiany zawartości składników błony erytrocytów i jej ładunku elektrycznego pod wpływem etanolu, acetaldehydu i octanu, w *Błony biologiczne*, red. J. Gabrielskiej i P. Misiaka. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, 2008, 299-302. **MNiSW=3**
- 3)** Figaszewski Z.A., Petelska A.D., Naumowicz M., **Dobrzyńska I.**, Szachowicz-Petelska B., Równowagi w dwuwarstwach i monowarstwach fosfolipidowych oraz pomiędzy tymi

warstwami a roztworem, w Błony biologiczne, red. J. Gabrielskiej i P. Misiaka. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław, 2008, 31-36. **MNiSW=3**

- 4) Szachowicz-Petelska B., **Dobrzyńska I.**, Sulkowski S., Figaszewski Z.A., Characterization of the cell membrane during cancer transformation, w Colorectal Cancer Biology – From Genes to Tumour, red. Rajunour Ettarh, InTech, Rijeka, 2012, 241-256. **MNiSW=5**

**Zestawienie liczby prac w okresie przed i po doktoracie
z ich punktacją MNiSW oraz IF**

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	Punkty MNiSW	IF
Przed uzyskaniem stopnia doktora			
Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	4	33	3.484
Publikacje w czasopismach recenzowanych innych niż znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	3	8	-
Rozdziały w monografiach	-	-	-
Łącznie publikacje	7	41	3.484
Komunikaty naukowe	16	-	-
Po uzyskaniu stopnia doktora			
Publikacje w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	26	533	50.138
Publikacje w czasopismach recenzowanych innych niż znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	2	5	-
Rozdziały w monografiach	4	14	-
Łącznie publikacje	32	552	50.138
Komunikaty naukowe	30	-	-

**Zestawienie czasopism z listy Filadelfijskiej,
w których zostały opublikowane prace naukowe**

Czasopismo z listy Journal Citation Reports (JCR)	Rok wydania publikacji	Liczba publikacji	IF w roku wydania publikacji
Bioelectrochemistry	2006	1	1.880
Cell Biochemistry and Biophysics	2015	1	1.627
Cell Biology and Toxicology	2005	1	1.548
Cellular and Molecular Biology Letters	2004	1	0.495
Chemia Analityczna (Warsaw)	2007	1	0.622
Chemico-Biological Interactions	2005	1	1.968
	2010	1	2.832
	2018	1	3.296
	2019	1	3.296
Environmental Toxicology and Pharmacology	1999	1	0.707
	2013	1	1.862
European Biophysics Journal	2017	1	1.935
European Physical Journal E	2019	1	1.802
Journal Bioenergetics and Biomembranes	2008	1	2.48
Journal of Environmental Biology	2006	1	0.197
	2010	1	0
Journal of Membrane Biology	2012	1	2.478
	2013	2	2.174
	2014	1	2.457
	2015	1	1.991
	2016	1	1.696
Journal of Pharmacy and Pharmacology	2000	1	1.229
Molecular and Cellular Biochemistry	2002	1	1.548
	2005	1	1.681
Polish Journal of Environmental Studies	2001	1	0
	2008	1	0.963
Redox Biology	2017	1	7.126
Soft Materials	2017	1	1.132
Toxicology Mechanisms and Methods	2008	1	0.426
Suma		30	53.622

Wskaźnik IF według Thompson Reuter Journal Citation Report w roku opublikowania lub za 2017 rok (dla prac z 2018 i 2019 roku).

Izabela Dobrzyńska