AUTOFEFERAT

Przedstawiający opis kariery zawodowej oraz istotnej aktywności naukowej

Dr Sylwia Terpiłowska

Katedra Medycyny Zabiegowej z Pracownią Genetyki Medycznej

Instytut Nauk Medycznych, Collegium Medicum,

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Dokument zanonimizowany za pomocą UG DLP Anonimizator, 2026-10-23 14:24:59

1. Imię i nazwisko

Sylwia Terpiłowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe– z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2000 dyplom ukończenia studiów wyższych, kierunek biologia, specjalność mikrobiologia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, tytuł pracy magisterskiej: „*Spontaniczne i indukowane in vitro wytwarzanie cytokin w komórkach podścieliska szpiku kostnego osób chorych na ostrą białaczkę szpikową i szpiczaka mnogiego*". Praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Martyny Kandefer-Szerszeń

2007 dyplom ukończenia studiów podyplomowych „*Zarządzanie projektami społecznymi*" (finansowanymi z EFS) na Wydziale Nauk Społecznych Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II

2008 stopień naukowy doktora nauk weterynaryjnych z zakresu immunologii uzyskany na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „*Wpływ chromu i żelaza na metabolizm fibroblastów i komórkowe mechanizmy obronne u myszy*" pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja K. Siwickiego na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Na wniosek recenzentów wyróżniona przez Radę Wydziału

2010 dyplom ukończenia studiów podyplomowych „*Podyplomowe Studia w Zakresie Audytu Wewnętrznego w Sektorze Finansów Publicznych*" na Wydziale Prawa, Prawa Kanonicznego i Administracji Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II

2011 dyplom ukończenia studiów podyplomowych „*Kształcenie kadry akademickiej do roli wykładowców przedmiotu Ochrona własności*

intelektualnej", Wydział Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej

2012 dyplom ukończenia studiów podyplomowych „*Diagnostyka molekularna*" na Wydziale Agrobioinżynierii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.

2021 – obecnie, adiunkt w Katedrze Medycyny Zabiegowej z Pracownią Genetyki Medycznej, Instytut Nauk Medycznych, Collegium Medicum, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

Od 2000 roku do 2021 na Katolickim Uniwersytecie Lubelskim Jana Pawła II na następujących stanowiskach:

2000 – 2005 asystent naukowo-dydaktyczny w Katedrze Biologii Komórki, Instytutu Ochrony Środowiska, Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego, Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II

2005 – 2010 samodzielny referent w Biurze Współpracy z Zagranicą KUL

2010–2021 adiunkt w Pracowni Biologii Środowiska, Kierownik Pracowni Biologii Środowiska Instytutu Inżynierii Środowiska, Wydziału Zamiejscowego KUL w Stalowej Woli

Marzec-wrzesień 2021 – adiunkt w Instytucie Zdrowia

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.).

Tytuł osiągnięcia naukowego

Toksyczność i mechanizmy działania wybranych pierwiastków przejściowych ze szczególnym uwzględnieniem oddziaływania chromu(III) z innymi pierwiastkami - badania *in vitro*.

Wykaz opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład osiągniecia naukowego

Na cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących osiągniecie naukowe składa się 6 prac. We wszystkich jestem pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania jednotematycznego cyklu prac wynosi 19,892 (Impact Factor wg daty publikacji), zaś sumaryczna liczba punktów wynosi 545. Pełne dane bibliograficzne znajdują się w załączniku *Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny*

4.1 Terpiłowska S.*, Siwicki A. K., 2017, Chromium(III) and iron(III) inhibits replication of DNA and RNA viruses, Biometals, 30(4): 565–574.

IF_{2017} 2,478, Q3, MNiSW 30

4.2 Terpilowska S.*, Siwicki A.K., 2018, Interactions between chromium(III) and iron(III), molybdenum(III) or nickel(II): cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity studies. Chemosphere, 201, 780-789.

IF_{2018} 5,108, Q1, MNiSW 35

4.3 Terpilowska S.*, Siwicki A.K., 2019, Cell cycle and transmembrane mitochondrial potential analysis after chromium(III), iron(III), molybdenum(III) or nickel(II) and their mixture treatment. Toxicology Research, 8(2), 188-195

IF_{2019} 2,283, Q3, MNiSW 40

4.4 Terpilowska S.*, Siwicki A.K., 2019, Pro- and antioxidant activity of chromium(III), iron(III), molybdenum(III) or nickel(II) and their mixtures, Chemico-Biological Interactions, 298, 43-51.

IF_{2019} 3,723, Q1, MNiSW 100

4.5 Terpiłowska S.*, Pięta E., Roman M., Paluszkiewicz C., Kwiatek W.M., 2023, Spectroscopic imaging to assess biochemical alterations in liver carcinoma cells exposed to transition metals, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 303, 1232

IF_{2023} 4,4, Q1, MEN 140

4.6 Terpiłowska S.*, Rafińska K., Gołębiowski A., Kowalkowski T., Buszewski B., 2023, The influence of selected transition elements on cell metabolism, Ecological Chemistry and Engineering S, 30(4):471-488

IF_{2023} 1,9, Q4, MEN 200

*** -** autor korespondencyjny

Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników

Wstęp

Mikroelementy to pierwiastki, które w organizmach ludzi i zwierząt występują w stężeniu poniżej 1 µg/g mokrej tkanki. Należą do nich m.in. żelazo, chrom, nikiel, kobalt oraz molibden. Pomimo niskiego ich stężenia w komórkach, są one niezbędne do prawidłowego funkcjonowania komórki poprzez regulacje wielu szlaków metabolicznych. Do organizmów zwierząt i ludzi dostają się drogą oddechową, poprzez skórę oraz w największym stopniu poprzez przewód pokarmowy. Przyjmowane są wraz z dietą, ale też w formie preparatów witaminowo-mineralnych, suplementów diety czy napoi energetycznych, których spożycie ostatnio znacznie wzrosło. W ostatnich latach coraz więcej pierwiastków przedostaje się do organizmów ludzi i zwierząt wraz ze stosowanymi na szeroką skalę biomateriałami. Są to

materiały używane do konstruowania sztucznych organów, przyrządów rehabilitacyjnych lub implantów zastępujących całe organy lub ich części. Biomateriały to substancje opracowane w celu zastosowania jako samodzielne lub części składowe systemu używanego do kontaktu ze składnikami żywych organizmów ludzi i zwierząt podczas leczenia lub diagnostyki (Bauer i wsp., 2013; Patel i wsp., 2012). Należy zaznaczyć, że te materiały zawierają wiele pierwiastków, których pełne przemiany na poziomie komórek nie zostały w pełni poznane. Ma to istotne znaczenie, gdyż pierwiastki pozostające w organizmie człowieka mogą wykazywać efekty toksyczne na poziomie narządów, tkanek, czy też komórek. Ponadto zupełnie niepoznane są możliwości wzajemnego oddziaływania pomiędzy pierwiastkami na poziomie komórkowym.

Chrom jest pierwiastkiem powszechnie występującym w przyrodzie. Występuje na wielu stopniach utlenienia, tj. -2, 0, +2, +3, +4, +5 oraz +6. Najbardziej rozpowszechnione są związki chromu(III) oraz (VI). Wykazano, że związki chromu(VI) są toksyczne, natomiast uważa się, że związki chromu(III) są nietoksyczne (Rudolf i Červinka, 2003). Związki chromu(VI) są 1000 razy bardziej toksyczne niż związki chromu(III) (Hininger i wsp., 2007). Związki chromu(VI) do komórek dostają się wykorzystując kanały błonowe dla jonów siarczanowych (Figgitt i wsp., 2010). Wewnątrz komórki jony Cr^{6+} redukowane są poprzez formy przejściowe: Cr^{5+}, Cr^{4+} do jonów Cr^{3+} (Valko i wsp., 2006). Proces ten zależny jest od pH, tj. zachodzi szybciej w środowisku kwaśnym, natomiast wolniej przy pH obojętnym (Langard i Costa, 2015). Te formy przejściowe i produkty pośrednie reakcji redukcji, tj. wolne rodniki tlenowe mogą oddziaływać na organelle komórkowe. Natomiast jony Cr(III) dostają do komórki na drodze transportu biernego, endocytozy lub fagocytozy (Eastmond i wsp., 2008). Dodatkowo może być transportowany do komórek wraz z transferyną i aktywować receptor insulinowy. Około 80% chromu znajdującego się we krwi jest związane z transferyną. W warunkach fizjologicznych białko to wiąże jony pierwiastków, umożliwiając im transport do komórek. Transferyna preferencyjnie wiąże jony żelaza (Fe^{3+}). Transferyna transportowana jest do komórek na drodze endocytozy. Wykazano, że również Cr^{3+} może wiązać się do transferryny zastępując jony Fe^{3+}. W odpowiedzi na

wzrost stężenia insuliny w osoczu, receptor transferyny (Tf-R) w komórkach wrażliwych na insulinę migruje z pęcherzyków do błony plazmatycznej. Transferyna, która zawiera dwa związane jony metali (jeden jon Cr^{3+} i jeden inny kation metalu (M)), wiąże się z receptorem i jest internalizowana na drodze endocytozy. pH powstałego pęcherzyka jest obniżane przez ATP pompy protonowe, co powoduje uwolnienie jonów Cr^{3+} z transferyny. Chrom(III) uwolniony z wielu cząsteczek transferyny jest sekwestrowany przez apochromodulinę, co powoduje jej przekształcenie do chromoduliny. Ta z kolei jest niezbędna do aktywacji receptora insulinowego (Vincent i Edwards, 2019). Po przedostaniu się komórek związki chromu(III) negatywnie oddziałują na mitochondria, jądro komórkowe, mikrofilamenty oraz lizosomy. Wykazano, że jony Cr^{3+} mogą wiązać się bezpośrednio z DNA tworząc addukty Cr-DNA i połączenia krzyżowe pomiędzy niciami DNA (O'Brien i wsp., 2003). Ponadto wykazano, że Cr(III) może obniżać wierność polimerazy DNA (Galaris i Evangelou, 2002). Wiele badań wskazuje na udział chromu(III) w regulacji aktywności receptora insulinowego, w prawidłowym metabolizmie białek, tłuszczów oraz węglowodanów (Baghi i wsp., 2002).

Żelazo, to pierwiastek niezbędny do prawidłowego przebiegu wielu procesów komórkowych (Srai i wsp., 2002). Obecne jest w centrach aktywnych enzymów należących go grupy oksydaz, katalaz, peroksydaz, cytochromów, akonitazy, reduktazy rybonukleotydowej oraz syntetazy tlenku azotu. Są to enzymy zaangażowane w kluczowe szlaki metaboliczne, tj. syntezę DNA i RNA, transport elektronów podczas oddychania wewnątrzkomórkowego i proliferację komórek (Lieu i wsp., 2001). Jego aktywność w układach biologicznych związana jest z możliwością zmiany stopnia utlenienia. Szczególnie istotne jest jego zaangażowanie, w reakcję Habera-Weiss'a.

$$Fe^{3+} + O_2^{-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$$
$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{-} + Fe^{3+}$$
$$O_2^{-} + H_2O_2 \rightarrow OH^{-} + OH^{\cdot} + O_2$$

Jednak jak wykazano, Fe^{2+} oraz Fe^{3+}mogą też być toksyczne. Głównie dlatego, iż jest zaangażowane w powstawanie wolnych rodników tlenowych

(Hirsh i wsp., 2002a; Hirsh i wsp., 2002b). Mogą one powodować utlenianie zasad DNA, powstawanie wiązań krzyżowych w DNA lub pomiędzy DNA a białkami (Valko i wsp., 2006). Ponadto obserwowano obniżanie zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w błonach, hamowanie aktywności enzymów komórkowych, obniżanie stężenia ATP, hamowanie aktywności kompleksów I-III łańcucha oddechowego oraz dehydrogenazy bursztynianowej (Hirsh i wsp., 2002a; Hirsh i wsp., 2002b)

Nikiel występuje na wielu stopniach utlenienia, tj. -1, +1, +2, +4 oraz +4. Jednak najczęściej spotykany jest na +2 stopniu utlenienia. Nikiel po przedostaniu się do komórki może wywoływać efekty toksyczne, prowadząc do apoptozy. Wywoływać też może aberracje chromosomowe, uszkodzenia chromosomów i transformacje morfologiczne komórek. Opisany dotychczas mechanizm mutagennego działania niklu opiera się na modyfikacjach histonów. Obserwowano wzrost ilości histonu H3K4me3, a spadek H3K9me3 (Klein i M. Costa, 2015; Arita i wsp., 2012).

Molibden jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego metabolizmu komórek. Najczęściej występuje na następujących stopniach utlenienia: +2, +3, +4 and +6 (Tallkvist i Oskarsson, 2015). Występuje w centrach aktywnych wielu enzymów: oksydoreduktazy ksantynowej, oksydazy aldehydowej, mitochondrialnej reduktazy amidoksymowej, reduktazy azotynowej, oksydazy ksantynowej, dehydrogenazy ksantynowej, oksydazy siarczynowej (Mendel, 2013)

Cel

W związku z coraz większą podażą pierwiastków i ich zaangażowaniem w metabolizm komórkowy oraz możliwością wywoływania śmierci komórek (apoptozy), co może prowadzić do indukcji wielu chorób w tym nowotworowych, w niniejszych badaniach podjęto próbę określenia ich metabolizmu. Celem badań było określenie wpływu chromu, żelaza, niklu oraz molibdenu na metabolizm komórek prawidłowych i nowotworowych oraz określenie rodzaju oddziaływań pomiędzy chromem a żelazem, chromem a niklem oraz chromem a molibdenem. Cele ogólne były zrealizowane poprzez cele szczegółowe:

a) Określenie dawek IC_{50} chlorku chromu, chlorku żelaza, chlorku niklu oraz trójtlenku molibdenu przy użyciu testów cytotoksyczności.
b) Określenie genotoksyczności i jej mechanizmów chlorku chromu, chlorku żelaza, chlorku niklu oraz trójtlenku molibdenu przy użyciu testów kometowego i mikrojądrowego.
c) Określenie mechanizmów mutagenności chlorku chromu, chlorku żelaza, chlorku niklu oraz trójtlenku molibdenu przy użyciu testu AMES'a.
d) Określenie mechanizmów indukcji apoptozy przez chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu oraz trójtlenku molibdenu przy użyciu testów określających powstawanie wolnych rodników tlenowych i produktów ich działania w komórce oraz aktywności układu antyoksydacyjnego.
e) Określenie innych mechanizmów apoptozy indukowanej przez chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu oraz trójtlenku molibdenu przy użyciu technik spektroskopowych: Raman i FTIR oraz ICP-MS.
f) Określenie aktywności przeciwwirusowej chlorku chromu i chlorku żelaza.
g) Zidentyfikowanie rodzaju oddziaływania pomiędzy chlorkiem chromu, a chlorkiem żelaza lub chlorkiem niklu lub trójtlenkiem molibdenu.

Materiały i metody

1. Badania cyto- i genotoksyczności, mutagenności, stresu oksydacyjnego, analizy faz cyklu komórkowego oraz błonowego potencjału mitochondrialnego

Badania prowadzono na dwóch linach komórkowych: mysich fibroblastach embrionalnych BALB/3T3 clone A31 cells (American Type Culture Collection CCL-163) oraz komórkach nowotworu wątroby HepG2 cells (American Type Culture Collection HB-8065). Komórki inkubowano z chlorkiem chromu, chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu oraz trójtlenkiem molibdenu w zakresie stężeń 100-1400 μM. W celu określenia typu oddziaływań, komórki inkubowano z mieszaninami pierwiastków: chlorek chromu w stężeniu 200 μM z chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu lub trójtlenkiem molibdenu o stężeniu

1000 μM. W drugim przypadku stosowano mieszaninę chlorek chromu w stężeniu 1000 μM z chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu lub trójtlenkiem molibdenu o stężeniu 200 μM. Po 24 godzinach inkubacji wykonywano następujące testy:

a) Cytotoksyczność- test redukcji MTT, test uwalniania dehydrogenazy mleczanowej, test pochłaniania czerwieni obojętnej (NRU),
b) Genotoksyczność: test kometowy, test mikrojądrowy,
c) Analiza faz cyklu komórkowego,
d) Analiza błonowego potencjału mitochondrialnego,
e) Stężenie rodników tlenowych, stężenie dialdehydu malonowego (MDA)
f) Pomiar aktywności enzymów układu antyoksydacyjnego: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx).

Wykonywano również dla podanych stężeń pojedynczych pierwiastków i ich mieszanin test AMES'a, przy użyciu szczepów *Salmonella* Typhimurium TA98 oraz TA100.

2. Badania mechanizmów apoptozy przy użyciu spektroskopii Ramana oraz FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) oraz testów ELISA.

Badania prowadzono na linii komórkowej nowotworu wątroby HepG2 cells (American Type Culture Collection HB-8065). Komórki inkubowano z chlorkiem chromu, chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu oraz trójtlenkiem molibdenu oraz chlorkiem kobaltu w zakresie stężeń 100-2000 μM. Po 24 godzinach inkubacji określano stężenie kaspaz: 3, 6, 8, 9 i 12.

Dodatkowo komórki hodowano na szkiełkach wykonanych z CaF_2. Następnie komórki inkubowano z chlorkiem chromu, chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu oraz trójtlenkiem molibdenu o stężeniach 1000 i 2000 μM każdy. Po 24 godzinach inkubacji komórki utrwalano i analizowano z użyciem spektroskopii Ramana i FT-IR.

3. Badanie poziomu chromu, żelaza, niklu, molibdenu, wapnia, magnezu, sodu i potasu przy użyciu metody ICP-MS. Obserwacje morfologii komórek przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Badania prowadzono na trzech linach komórkowych: L_{929} (mysie fibroblasty), Caco-2 (komórki epitelium) i HepG2 (komórkach nowotworu wątroby).

Komórki inkubowano z chlorkiem chromu, chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu oraz trójtlenkiem molibdenu o stężeniach 200 i 1000 μM. W celu określenia typu odziaływań komórki inkubowano z mieszaninami pierwiastków: chlorek chromu w stężeniu 200 μM z chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu lub trójtlenkiem molibdenu o stężeniu 1000 μM. W drugim przypadku stosowano mieszaninę chlorek chromu w stężeniu 1000 μM z chlorkiem żelaza, chlorkiem niklu lub trójtlenkiem molibdenu o stężeniu 200 μM. Po 24 godzinach inkubacji komórki mineralizowano i poddawano analizie ICP-MS. Natomiast komórki obserwowane pod mikroskopem SEM utrwalano i analizowano pod mikroskopem.

4. Badania aktywności przeciwwirusowej

Badania przeprowadzono na dwóch liniach komórkowych: HEp-2, na której namnażano wirus opryszczki Herpes Simplex Virus HSV-1 oraz linii BT (turbinate cells), na której namnażano wirus Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV). W pierwszym etapie określono cytotoksyczność użytych stężeń chlorku chromu oraz chlorku żelaza w zakresie stężeń: 100, 200, 400, 600, 800, 1000 i 1200 μM na obu liniach komórkowych, przy użyciu testu redukcji MTT. W kolejnym etapie komórki obu linii inkubowano przez 24 godziny z chlorkiem chromu lub chlorkiem żelaza w stężeniach 100, 200, 400, 600, 800, 1000 i 1200 μM lub równocześnie w następujących mieszaninach: 1) chlorek chromu w stężeniu 200 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 1000 μM, 2) chlorek chromu w stężeniu 1000 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 200 μM,3) chlorek chromu w stężeniu 400 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 800 μM oraz 4) chlorek chromu w stężeniu 800 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 400 μM. Do każdej próby dodawano wirusa HSV-1 lub BVDV. W przypadku wirusa HSV-1 hodowlę prowadzono 2 dni, natomiast w przypadku wirusa BVDV przez 5 dni. Po tym czasie izolowano DNA lub RNA odpowiednio. Następnie prowadzono identyfikację wirusów metodą Real Time PCR w przypadku wirusa HSV lub qRT PCR w przypadku wirysa BVDV.

Omówienie wyników i dyskusja

Pierwszym problemem w badaniach *in vitro* jest dobór odpowiedniej dawki użytej do badań. W przypadku badań *in vivo*, dla wielu mikroelementów nie określono RDA (ang. Recommended Daily Allowance) lub AI (ang. Adequate Intake) lub są one różne. Dla przykładu dostępna literatura podaje kilka wartości określających zapotrzebowanie organizmu na chrom(III). Jest to między innymi:

- ESADDI (ang. Estimated Safe and Adequate Daily Dietary Intakes for Chromium) - niezbędna dzienna dawka chromu, która dla różnych grup wiekowych wynosi w zależności od wieku od 10 do 200 μg.
- RDA (ang. Recommended Daily Allowance) - zalecane dzienne zapotrzebowanie, które wynosi, jak podają różni autorzy 30-100 μg lub 50-200 μg/dzień.
- ODA (ang. Optimal Daily Allowance)- optymalne dzienne zapotrzebowanie, które wynosi 0,200 mg.
- RfD (ang. Reference Dose)- dawka referencyjna, która wynosi 1-1,5 mg/kg m.c./dzień [23, 75].
- AI (ang. Adequate Intake) - wystarczające spożycie, które w zależności od wielu waha się od 2,0-11 μg/dzień.
- RDI (ang. Reference Dietary Intake): 120 μg/dzień (Berner, 2004, Vincent, 2001).

Natomiast dla żelaza wyznaczono:

- RDI (ang. Recommended Dietary Intakes), które wynosi, w zależności od wieku 7-27 mg (Swanson, 2003).
- RDA (ang. Recommended Daily Allowance) - zalecane dzienne zapotrzebowanie, które wynosi:

19-51 lat: 10 mg mężczyźni, 15 mg kobiety, powyżej 51 roku życia 10 mg.

Jednak dawki te oprócz tego, że różnią się między sobą to dodatkowo wyznaczane były w badaniach *in vivo*. Jednak efektywne wchłanianie w jelicie cienkim jest niskie. Np. wchłanianie wynosi ok. 0,4 % dla chlorku chromu, a dla związków organicznych: pikolinianu i nikotynianu, ok 5%. Natomiast wchłanianie żelaza wchłaniane jest na poziomie ok. 2-15%. Lepiej wchłaniane

są sole Fe^{2+} niż Fe^{3+}. Jak widać wchłanianie zależy też od związków danego pierwiastka jaki został użyty. Ponadto poziom wchłaniania zależy od składu diety, zawartości lipidów, białek czy innych substancji wchodzących w interakcje, które mogą wzmacniać lub osłabiać jego wchłanianie. Wskazane powyżej dawki odnoszą się do wchłaniania w jelicie, natomiast do poszczególnych komórek organizmu docierają pierwiastki w innych stężeniach. Dobranie odpowiednich dawek do opisywanych badań *in vitro* odbyło się na podstawie danych literaturowych oraz wcześniejszych badań. Dodatkowo słuszność zastosowania dawek potwierdzono w pracy 4.6. Przy użyciu techniki ICP-MS oznaczono poziom chromu, żelaza, niklu i molibdenu po inkubacji komórek z badanymi związkami. Poziom pobierania pierwiastków wyniósł dla chromu od 0,0016 do 0,003 promila, dla żelaza od 0,002 do 0,01 promila dla niklu od 0,0009 do 0,005 promila, a molibdenu od 0,0008 do 0,003. Tak niski poziom pobierania pierwiastków jest związany z biernymi formami transportu badanych pierwiastków do komórek oraz tworzeniem przez nie w płynie hodowlanym związków kompleksowych, które są bardzo słabo transportowane do komórki. Wykazano, że chrom(III) w obecności surowicy oddziałuje z albuminą, transferyną i przeciwciałami tworząc kompleksy, które nie mogą być transportowane przez błonę komórkową (Tkaczyk i wsp, 2010).

Wykorzystanie szerokiego wachlarza testów do badania metabolizmu komórek miało na celu określenie wpływu poszczególnych pierwiastków, jak i ich mieszanin na funkcje komórek prawidłowych i nowotworowych.

Linie komórkowe stanowią doskonałe narzędzie do badań skriningowych toksyczności różnych substancji aktywnych biologicznie. Są wykorzystywane w pierwszym etapie oceny aktywności biologicznej różnych związków oraz określenia ich potencjalnej toksyczności. Pozwalają na ograniczenie użycia do badań zwierząt laboratoryjnych w pierwszych etapach badań nad nowymi substancjami. Zgodnie z zasadą 3R (Reduction, Replacement, Refinement) linie komórkowe są stosowane do oceny toksyczności substancji, ale wiele z metod posiada walidację przeprowadzoną w European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animals Testing - EURL ECVAM, przez co zastępują testy na zwierzętach. Jedną z często

używanych linii komórkowych jest linia mysich fibroblastów płodowych. Stosowana jest ona w zwalidowanej metodzie oznaczania ostrej toksyczności oraz fototosyczności z użyciem czerwieni obojętnej. Ponadto linię BALB/3T3 zaproponowano jako model komórkowy do badania zmian morfologicznych i biochemicznych po zadziałaniu pierwiastków (Mazzotti i wsp., 2002). Inną linią często używaną w badaniach toksyczności jest linia HepG2. Jest to linia nowotworu wątrobo-komórkowego (Fang i Beland, 2009; Schoonen i wsp., 2005). Linia ta jest rekomendowana w protokole OECD do wykonania testu mikrojądrowego.

Wszystkie testy użyte w niniejszych badaniach wykonywane były zgodnie zaleceniami EURL ECVAM, protokołami OECD (Guideline 432, Guideline 489, Guideline 471, Guideline 487), czy Polskimi Normami (ISO 10993-5 *Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*).

Do badań cytotoksyczności użyto następujących testów: redukcji MTT- określającego metabolizm mitochondriów, uwalniania dehydrogenazy mleczanowej- określającego integralność błony komórkowej oraz pochłaniania czerwieni obojętnej- określającej aktywność lizosomów. Użycie różnych testów pozwala określić wrażliwość organelli komórkowych na badane substancje (Chiba i wsp., 1998).

Do określenia genotoksyczości użyto testu kometowego oraz tworzenia mikrojąder. Test kometowy służy do wykrywania uszkodzeń w DNA, tj. jednoniciowych i dwuniciowych pęknięć w DNA, modyfikacji chemicznych (miejsca purynowe, niestabilne addukty) i enzymatycznych (uszkodzenia oksydacyjne) (Czubaszek i wsp., 2014) Uszkodzone fragmenty DNA pod wpływem pola elektrycznego migrują i tworzą strukturę przypominającą kometę, którą obserwuje się pod mikroskopem (Pu i wsp., 2015). Test mikrojadrowy wykorzystywany jest do wykrywania pęknięć chromosomów i uszkodzeń wrzeciona kariokinetycznego. Mikrojądra tworzą się z acentrycznych chromatyd, fragmentów chromosomów lub z całych chromosomów, które w czasie anafazy nie przemieszczają się do biegunów komórki, a po zakończeniu telofazy nie są włączane do jąder potomnych (Fenech, 2008).

W teście AMES'a określana jest zdolność do wywoływania mutacji powrotnej w genie odpowiedzialnym za syntezę histydyny. Czynniki mutagenne wywołujące tą mutację powodują przywrócenie zdolności syntezy tego aminokwasu w szczepach *Salmonella* Typhimurium. Użycie różnych szczepów tych drobnoustrojów pozwala na określenia różnych typów mutacji. W opisywanych badaniach użyto szczepów TA98, który identyfikuje mutację typu przesunięcie ramki odczytu, natomiast szczep TA100 mutacje typu zamiany pary zasad (Kozłowska i wsp., 2012).

Cykl komórkowy składa się z następujących faz: G0, G1, S, G2 oraz M. Przejście pomiędzy kolejnymi fazami zależy od aktywności cyklin i związanych z nimi kinaz zależnych od cyklin. Utworzenia kompleksu kinaza-cyklina zależna od kinazy i następująca reakcja fosforylacji uaktywniają powstały kompleks. Kompleksy te są niezbędne do przechodzenia przez komórkę kolejnych punktów kontrolnych. Ochronę taką zapewniają punkty kontrolne G1 oraz G2 podczas cyklu komórkowego Ich pokonanie przez komórkę umożliwia wejście w mitozę tylko komórek, których DNA jest wolny od mutacji lub innych uszkodzeń (Le i Richardson, 2002).

Analiza potencjału mitochondrialnego pozwala identyfikować substancje biologiczne o potencjale proapoptotycznym. Jednym z parametrów charakteryzowanych w komórkach apoptotycznych jest uwalnianie cytochromu C z mitochondrium, zaburzenie transportu elektronów w łańcuchu oddechowym oraz utrata mitochondrialnego potencjału błonowego. Spowodowana jest ona działaniem wolnych rodników tlenowych.

Wiele substancji aktywnych biologicznie indukuje w komórce stres oksydacyjny, w wyniku, którego syntetyzowane są wolne rodniki tlenowe (ang. Reactive Oxygen Species, ROS). Jest to zjawisko fizjologiczne w komórce. Kiedy jednak stężenie ROS jest wysokie, a enzymy układu antyoksydacyjnego przestają sobie radzić z jego skutkami dochodzić może do uszkodzeń poszczególnych struktur komórkowych. Wolne rodniki tlenowe, to grupa zawierająca wiele różnych związków. W badania opisywanych poniżej zastosowano test wykrywający rodniki: hydroksylowy, anionorodnik ponadtlenkowy oraz inne rodniki występujące w komórce przy użyciu pochodnej fluoresceiny- dwuoctanu 2',7'–dichlorofluoresceiny (DCFDA).

Drugi z użytych testów służył do wykrywania końcowego produktu procesu peroksydacji lipidów- dialdehydu malonowego. Proces ten składa się z trzech etapów: inicjacji, propagacji i terminacji. W pierwszym etapie pod wpływem ksenobiotyku lub rodników: hydroksylowego (-·OH), nadtlenkowego (-LOO·), alkoksylowego (-LO·) lub alkilowego (-L·) atom wodoru zostaje oderwany od cząsteczki wielonienasyconego kwasu tłuszczowego. W tym etapie powstaje z cząsteczki kwasu tłuszczowego rodnik alkilowy. W kolejnej fazie rodniki te reagują z tlenem tworząc wolne rodniki nadtlenkowe (-LOO·), które odrywają atomy wodoru od kolejnych cząsteczek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. W wyniku tego procesu powstaje nadtlenek kwasu tłuszczowego i kolejny rodnik alkilowy. Reakcja ta powtarza się wielokrotnie, w wyniku czego wzrasta stężenie nadtlenków kwasów tłuszczowych. Terminacja procesu peroksydacji rozpoczyna się w przypadku reakcji pomiędzy wolnymi rodnikami, która prowadzi do powstania produktu, który nie jest już wolnym rodnikiem. Produktami peroksydacji lipidów są dimery fosfolipidów, okso- i hydroksykwasy. Dalsze przemiany tych związków prowadzą do powstania m.in. dialdehydu malonowego, który jest wskaźnikiem procesu peroksydacji lipidów (Grosicka-Maciąg, 2011).

Komórki posiadają mechanizmy chroniące je przed negatywnym wpływem wolnych rodników tlenowych na struktury komórki. Należą do nich enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) oraz peroksydaza glutationowa (GPx). Dysmutaza ponadtlenkowa to enzym katalizujący reakcję rozkładu anionorodnika ponadtlenkowego do nadltlenku wodoru i tlenu. Tak powstały nadtlenek wodoru może być rozkładany przez katalazę lub peroksydazę glutationową do wody. Peroksydaza glutationowa ponadto redukuje nadtlenki lipidów powstałe np. w procesie peroksydacji lipidów (Czajka, 2006). Tak, więc SOD, CAT ora GPx razem stanowią barierę ochronną przed działaniem wolnych rodników tlenowych oraz produktów utleniania lipidów.

Opisane powyżej testy stanowią klasyczne podejście do badania funkcji biologicznych komórki po zadziałaniu różnych substancji. Coraz częściej pojawiają się doniesienia o zastosowaniu nowoczesnych technik badawczych, tj. spektroskopii Ramana i FTIR do określania mechanizmów działania

różnych substancji. Jest to nowe narzędzie umożliwiające badanie metabolizmu komórki. W dostępnej literaturze znaleźć można prace dotyczące identyfikacji rożnych typów komórek i tkanek nowotworowych przy użyciu metod spektroskopowych. Ponadto metod tych używano do badania wpływu nanostruktur metalicznych na metabolizm komórek, używano do wyznaczania dawek IC_{50}, czy też oznaczania interakcji wybranych pierwiastków ze strukturami komórek w różnych schorzeniach. Jednak brak danych na temat określania wpływu metali na identyfikację mechanizmów apoptozy (Rauwel, 2020, Lv, 2022, Berntsson, 2023, Huang, 2023). W niniejszych badaniach metod spektroskopowych użyto do identyfikacji mechanizmów apoptozy.

W celu identyfikacji stężenia używanych pierwiastków w komórce zastosowano technikę ICP-MS. Posłużyła ona też do określenia stężeń wapnia, magnezu, sodu i potasu wewnątrz komórki po zadziałania badanych związków. Technika ta jest coraz szerzej stosowana w biologii komórki do określania zmian stężenia jonów i ich wpływu na metabolizm komórek.

Kolejnym istotnym aspektem poruszanym w badaniach była możliwość hamowania, przez ekspozycję na mikroelementy, replikacji wirusów DNA i RNA. Do badań wybrano wirusa HSV-1, który jest przyczyną wielu schorzeń u człowieka i jednocześnie jest dobrym modelem badawczym wirusów DNA. Natomiast wirus BVDV jest przyczyną zakażeń układu pokarmowego bydła i infekcje tym wirusem wpływają na spadek opłacalności hodowli, ale też wpływają na wzrost częstości poronień i niską masę urodzeniową zwierząt. Stanowił on modelowy wirus RNA.

Chrom to pierwiastek rozpowszechniony w przyrodzie. Ponadto, bardzo popularne stały się suplementy diety zawierające chrom(III). Przeprowadzone badania wykazały, że chlorek chromu w stężeniach 100 i 200 μM stymulował proliferację komórek linii BALB/3T3 w teście redukcji MTT. W pozostałych dawkach (400-1400 μM) obserwowano istotny statystycznie zależny od dawki spadek żywotności komórek linii BALB/3T3 oraz HepG2 zauważalny w teście redukcji MTT, pochłaniania czerwieni obojętnej oraz uwalniania dehydrogenazy mleczanowej. W testach redukcji MTT i NRU znacznie wrażliwsza okazała się linia HepG2- spadki żywotności komórek były wyższe

niż w przypadku linii BALB/3T3. Ponadto na podstawie wyznaczonych wartości IC_{50} można wywnioskować, że najbardziej wrażliwa na działanie chromu(III) jest błona komórkowa, kolejno mitochondria i lizosomy i to w obu liniach komórkowych (praca nr 4.2). Obserwacje poczynione w teście redukcji MTT potwierdziły badania przeprowadzone metodą cytometrii przepływowej dotyczące błonowego potencjału mitochondrialnego. Inkubacja obu linii komórkowych z chlorkiem chromu w zakresie stężeń 100-1400 μM powodowała istotny statystycznie zależny od dawki spadek potencjału mitochondrialnego obserwowany w obu liniach komórkowych (praca nr 4.3). Wyniki te sugerują, iż główny mechanizm toksycznego działania chromu(III) opiera się na generacji wolnych rodników tlenowych.

Negatywny wpływ chlorku chromu obserwowano również w testach genotoksyczności i mutagenności. W teście kometowym wykazano istotny statystycznie, zależny od dawki wzrost liczby komet po inkubacji z chlorkiem chromu. Sugeruje to destrukcyjny wpływ chromu(III) na DNA. W dostępnej literaturze opisywano, iż chrom może wiązać się bezpośrednio do DNA tworząc addukty z DNA i połączenia krzyżowe pomiędzy niciami DNA (O'Brien i wsp., 2003). Główny mechanizm opiera się na reakcji jonów Cr^{3+} z ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi lub bezpośrednio z guaniną (Snow i Xu, 1991). Pozytywny wyniku testu kometowego prezentowany w pracy nr 4.2 świadczy też, o tym, że chlorek chromu wywołuje przerwy w dwuniciowym i jednoniciowym DNA oraz powstawanie miejsc AP- nieposiadających zasad purynowych ani pirymidynowych. Skutkuje to uszkodzeniem struktury DNA. Jeśli takie miejsca nie zostaną usunięte przez enzymy naprawcze mogą powodować mutacje. Uszkodzony DNA nie powinien być replikowany oraz wchodzić do mitozy. Ochronę taką zapewniają punkty kontrolne G1 oraz G2 podczas cyklu komórkowego. Genotoksyczne działanie chromu(III) potwierdzają analizy faz cyklu komórkowego. W pracy nr 4.3 opisano wpływ chlorku chromu na cykl komórkowy. Związek ten powodował wraz ze wzrostem stężeń spadek liczby komórek w fazie G0/G1, ale wzrost w fazie G2/M. Sugeruje to, iż chrom(III) zatrzymuje cykl komórkowy w fazie G2/M w obu badanych liniach komórkowych. Oznacza to, DNA zawiera mutacje, które nie mogą być dalej powielane. Dai i wsp. (2009) wskazał, że chrom(III) może

wywoływać mutacje typu substytucji, transwersji, delecji i insercji. Badania wykonane w pracy nr 4.2 wskazują, że chlorek chromu wywołuje częściej mutacje typu przesunięcia ramki odczytu, a rzadziej mutacje zamiany pary zasad. Ponadto analiza faz cyklu komórkowego pokazuje, iż po zadziałaniu chlorku chromu wzrasta procent komórek w fazie subG1 (praca nr 4.3). Są to komórki, które wymknęły się spod mechanizmów kontrolnych komórki i replikują jadra komórkowe, bez podziału cytoplazmy. Efektem takiego procesu są obserwowane w obrazach mikroskopowych komórki wielojądrzaste lub olbrzymie. Ponadto proces ten może prowadzić do apoptozy, która również była obserwowana w preparatach mikroskopowych (praca nr 4.2). W teście mikrojądrowym określano zaburzenia procesu podziału komórki i uszkodzenia wrzeciona podziałowego. W teście tym wykazano istotny statystycznie, zależny od dawki wzrost liczby komórek zawierających jedno lub więcej mikrojąder w obu badanych liniach komórkowych (praca nr 4.2). Wyniki te potwierdzają obserwacje mikroskopowe komórek wielojądrzastych, w których dochodzi do zaburzeń funkcjonowania wrzeciona podziałowego.

Badania innych autorów sugerują, że uszkodzenia organelli komórkowych, tj. błony komórkowej, mitochondriów, lizosomów, jadra komórkowego, wrzeciona kariokinetycznego oraz zaburzenia metabolizmu komórki, tj. oddychania czy podziału wywoływane są przez wolne rodniki tlenowe powstające na skutek działania chromu(III). Dlatego w pracy nr 4.4 podjęto próbę oceny wpływu chlorku chromu na powstawanie wolnych rodników tlenowych, stężenie dialdehydu malonowego oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy oraz peroksydazy glutationowej. Po inkubacji obu linii komórkowych obserwowano zależny od dawki, powyżej stężenia 400 μM, wzrost stężenia wolnych rodników oraz dialdehydu malonowego. W przypadku dysmutazy ponadtlenkowej oraz katalazy w stężeniach 100 oraz 200 μM ich aktywność rosła, natomiast powyżej stężenia 400 μM spadała. Natomiast aktywność peroksydazy glutationowej spadała wraz ze wzrostem stężenia chlorku chromu. Obserwacje te poczyniono dla obu linii komórkowych. Wyniki te zgodne są z obserwacjami innych autorów, którzy również w niskich stężeniach chromu(III) obserwowali

wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy (Długosz i wsp., 2012; Chen i wsp., 2018). W wyższych stężeniach aktywność enzymów spadała, jak sugerują autorzy, najprawdopodobniej na skutek zniszczenia przez jony Cr(III) miejsc aktywnych enzymów (Chen i wsp., 2018). Ponadto jak wynika z badań przedstawionych w pracy nr 4.4 spadek aktywności enzymów skorelowany jest ze wzrostem stężenia wolnych rodników tlenowych, których stężenia rośnie do stopnia, w którym enzymy antyoksydacyjne nie są w stanie ich neutralizować.

Wysokie stężenia wolnych rodników tlenowych i osłabienie aktywności antyoksydacyjnej komórki jest jednym z czynników indukujących apoptozę. Komórki wykazujące charakterystyczne objawy morfologiczne, tj. kondensację chromatyny, czy tworzenie ciałek apoptotycznych obserwowano w pracy 4.2. W związku z powyższym w pracy 4.5 podjęto próbę zbadanie mechanizmów leżących u podstaw tego procesu. Określono stężenie kinaz aktywowanych w procesie apoptozy. Inkubacja komórek z chlorkiem chromu powodowała wzrost stężenia kaspaz: 3, 6, 9 oraz 12. Wzrost stężenia inicjatorowej kaspazy 9 oraz egzekutorowych 3 oraz 6 obserwowany jest podczas aktywacji szlaku wewnątrzpochodnego z udziałem mitochondriów. Potwierdza to obserwacje zawarte w pracach 4.2, 4.3 oraz 4.4. Wzrost stężenia ROS powoduje zahamowanie procesu β-oksydacji lipidów w mitochondrium, co prowadzi do tworzenia kropel lipidowych. Dodatkowo zaobserwowano wzrost stężenia kaspazy 12. Jest ona zaangażowana w indukcję apoptozy związanej z uszkodzeniem retikulum endoplazmatycznego (RE). Organellum to jest rezerwuarem lipidów. Jego uszkodzenie powoduje uwolnienie do cytoplazmy kropel lipidowych. Składniki kropel lipidowych obserwowane w niniejszym badaniu to pochodne kwasu oleinowego (trioleina i oleinian cholesterolu). Obserwowane były one w badaniach z użyciem spektktormetrii Ramana i FT-IR (praca 4.5).

Jak pokazały badania wykonane w pracy 4.6 nie były to jedyne mechanizmy prowadzące do indukcji apoptozy w komórkach. Inny mechanizm związany był z zaburzeniem równowagi stężenia Na^+ i K^+, pierwiastków mających kluczowe znaczenia dla utrzymania potencjału błonowego komórki. Badania Yurinskaya i wsp. wykazały, że zachwianie aktywności pompy

sodowo-potasowej, a co za tym idzie potencjału spoczynkowego błony komórkowej powoduje zmianę konformacji lipidów błonowych i tworzenie ciałek apoptotycznych. Zmiany w błonie komórkowej obserwowane były zarówno w teście uwalniania LDH, preparatach z mikroskopii fluorescencyjnej (praca 4.2) oraz preparatach obserwowanych w mikroskopie elektronowym (praca 4.6). Zachwiane równowagi innych pierwiastków komórce prowadzi do apoptozy. W utrzymanie homeostazy jonów Ca^{2+} zaangażowane są retikulum endoplazmatyczne i mitochondria. Uszkodzenie RE prowadzi do uwalniania nadmiaru jonów Ca^{2+} do cytoplazmy. Uszkodzenia RE i tworzenie kropli lipidowych stwierdzono w pracy 4.5. Potwierdzono to w pracy 4.6, w której obserwowano wzrost stężenia Ca^{2+} w cytoplazmie. Zjawisko to ma też negatywny wpływ na tworzenie elementów wrzeciona kariokinetycznego. Objawem tych zmian może być zaburzenie cyklu komórkowego i tworzenie mikrojąder, które obserwowano w pracy 4.2. Nie tylko zaburzenia równowagi wspomnianych powyżej jonów ma wpływ na indukcję apoptozy. Kolejnym pierwiastkiem jest magnez. Może indukować apoptozę poprzez wpływ ma metabolizm mitochondriów, indukcję uwalniania cytochromu c i aktywację kaspaz: 3 i 9. Ich podwyższone stężenie stwierdzono w pracy 4.5.

Kolejny analizowanym pierwiastkiem było żelazo(III). Jest to pierwiastek pełniący ważną rolę w wielu procesach metabolicznych komórki (Srai i wsp., 2002). Bierze udział w syntezie DNA oraz RNA, proliferacji komórek oraz oddychaniu komórkowym, tj. transporcie tlenu i elektronów (Lieu i wsp., 2001). Badania przeprowadzone w testach cytotoksyczności (praca nr 4.2) wykazały, że linia HepG2 jest bardziej wrażliwa na toksyczne działanie chlorku żelaza niż linia BALB/3T3. Zarówno w teście redukcji MTT, jak i NRU żelazo powodowało większe spadki żywotności komórek nowotworowych niż prawidłowych. Ponadto w obu testach spadek żywotności obserwowano dopiero od dawki 800 μM dla linii BALB/3T3, natomiast żywotność komórek linii HepG2 spadała już od dawki 100 μM. Sugeruje to, iż mitochondria komórek nowotworowych są bardziej wrażliwe na toksyczne działanie żelaza(III). Obserwacje te potwierdzają wyniki uzyskane w pracy nr 4.3, w których zaobserwowano zależny od dawki spadek mitochondrialnego potencjału błonowego po inkubacji obu linii komórkowych z chlorkiem żelaza

w zakresie stężeń 400-1000 μM. Spadki wartości tego parametru były wyższe w przypadku linii HepG2. W teście uwalniania LDH, który określa wrażliwość błony komórkowej na działanie badanego związku, chlorek żelaza wykazywał podobną toksyczność w stosunku do obu linii. Nieznacznie bardziej wrażliwa była linia BALB/3T3. Wyniki otrzymane z testów cytotoksyczności i analizy mitochondrialnego potencjału błonowego oraz prace innych autorów sugerują, iż za efekt toksyczny żelaza odpowiedzialne są wytwarzane pod wpływem tego pierwiastka wolne rodniki tlenowe (Eid i wsp., 2016). Badania wykonane w pracy nr 4.4 sugerują, że chlorek żelaza zakresie stężeń 100-1400 μM generuje nie tylko wolne rodniki tlenowe akumulowane wewnątrz komórki, ale też w porównaniu do innych badanych pierwiastków wysokie stężenie dialdehydu malonowego. Związek ten jest końcowym produktem peroksydacji lipidów błony komórkowej. Ponadto badania He i wsp. (2008) sugerują, że żelazo(III) reaguje z kwasem nitrylotrioctowym (w stosunku 1:1) i oddziałuje negatywnie na stabilność błony komórkowej. Badania tych samych autorów wskazują, że żelazo obniża aktywność fosfatazy alkalicznej, dysmutazy ponadtlenkowej oraz peroksydazy glutationowej (He i wsp., 2008). W badaniach zawartych w pracy nr 4.4 obserwowano również spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy oraz peroksydazy glutationowej. Dwa pierwsze enzymy odpowiedzialne są za neutralizowanie anionorodnika ponadtlenkowego. Jednak stężenie rodnika jest na tyle wysokie, że uniemożliwia ten proces. Natomiast peroksydaza glutationowa odpowiedzialna jest m.in. za neutralizację nadtlenków lipidów. Jednak jak zaobserwowano proces peroksydacji lipidów jest tak nasilony (wysokie stężenie MDA), że GPx nie może pełnić swojej funkcji.

Jak wykazano wolne rodniki tlenowe mają też negatywny wpływ na jądro komórkowe i procesy podziału komórki. W teście kometowym zaobserwowano wzrost liczby komet wraz ze wzrostem stężenia chlorku żelaza. Należy jednak zauważyć, że linia BALB/3T3 jest bardziej wrażliwa na genotoksyczne działanie chlorku żelaza. Oznacza to, że żelazo powoduje powstawanie przerw w dwuniciowym i jednoniciowym DNA oraz miejsc AP. Ponadto zanotowano wzrost liczby mikrojąder. W teście mutagenności stwierdzono, że może wywoływać zarówno mutacje typu zamiany pary zasad, jak i przesunięcia

ramki odczytu (praca nr 4.2). Genotoksyczność chlorku żelaza potwierdzają też badania faz cyklu komórkowego (praca nr 4.3). Obserwowano spadek odsetka komórek będących w fazie S oraz G2/M, ale wzrost komórek w fazie G0/G1 i subG1 wraz ze wzrostem stężenia chlorku żelaza (praca nr 4.3). Oznacza to zahamowanie syntezy DNA. Żelazo wpływa na aktywność enzymu reduktazy rybonukleotydowej oraz hamuje syntezę DNA. Ponadto aktywność kinazy cykliny A, E oraz D jest hamowana w obecności żelaza (Troadec i wsp., 2006). To wszystko wpływa na zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1. Ponadto pojawienie się komórek w fazie subG1 sugeruje zaburzenia podziału komórki, co było obserwowane w preparatach mikroskopowych. Zauważalne były komórki olbrzymie i wielojądrzaste. Dodatkowo obserwowano objawy apoptozy: wakuolizację cytoplazmy i paczkującą błonę komórkową (praca nr 4.2). Za te efekty odpowiedzialne są wolne rodniki tlenowe oraz osłabiony układ antyoksydacyjny komórki (praca nr 4.4).

Jednak jak wykazały badania przedstawione w pracy 4.5 apoptoza jest indukowana nie tylko w szlaku wewnątrzpochodnym związanym z uszkodzenie mitochondriów na skutek działania wolnych rodników tlenowych, co zostało poparte określeniem stężenia kaspaz 3, 6 oraz 9. Podobnie jak w przypadku chlorku chromu po inkubacji komórek z chlorkiem żelaza obserwowano wzrost stężenia kaspazy 12. Jest ona aktywowana w procesie apoptozy indukowanej uszkodzeniem retikulum endoplazmatycznego. Podobnie jak w przypadku chlorku chromu dodatkowo obserwowano tworzenie kropli lipidowych na terenie cytoplazmy, co wykazano przy użyciu spektroskopii Ramana i FT-IR. Oznacza to uszkodzenie retikulum endoplazmatycznego i indukcję apoptozy w szlaku niezależnym od mitochondriów.

Podobnie jak w przypadku chlorku chromu również w przypadku chlorku żelaza obserwowano zaburzenie równowagi jonów Na^+ i K^+. Powoduje to zachwianie spoczynkowego potencjału błonowego i transportu jonów przez błonę komórkową. Prowadzi to do zmiany metabolizmu błony i jej uszkodzenia, co może indukować apoptozę. Obserwacje te poczynione zostały w pracy 4.2 (test uwalniania dehydrogenazy mleczanowej) oraz 4.6. Ponadto w komórce zaobserwowano wzrost stężenia Ca^{2+}, co świadczy o uszkodzeniu

RE oraz mitochondriów, co stwierdzono również w pracach 4.2, 4.3 4.4 oraz 4.5. Dodatkowo możliwość zaburzenia podziałów komórkowych poprzez wzrost stężenia magnezu i możliwość tworzenia mikrojader, obserwowano w pracy 4.2 i zaburzenia procesu podziałów komórkowych (praca 4.3).

Nikiel i jego związki są powszechnie używane w przemyśle. Organizmy ludzi i zwierząt mają z nimi częsty kontakt. W dostępnej literaturze opisywano wpływ niklu na DNA różnych komórek. Rzadziej wykonywano badania cytotoksyczności tego pierwiastka. W badaniach prezentowanych w pracy nr 4.2 wykazano, że chlorek niklu obniża żywotność komórek obu badanych linii w teście redukcji MTT oraz NRU, ponadto wzrost uwalniania LDH. Jednak linia HepG2 była bardziej wrażliwa na działanie chlorku niklu w teście redukcji MTT i NRU. Badania przeprowadzone przez Jia i Chen (2008) wskazują, że toksyczność niklu wynika ze zdolności wytwarzania wolnych rodników tlenowych. Wzrost ich stężenia prowadzi do utraty transbłonowego potencjału mitochondrialnego, co z kolei może prowadzić do zaburzenia oddychania wewnątrzkomórkowego (praca nr 4.3). Wynika to również z tego, iż nikiel hamuje aktywność dehydrogenazy bursztynianiowej (Wang i wsp., 2012). W badaniach przedstawionych w pracy nr 4.4 wykazano, że chlorek niklu wraz ze wzrostem stężenia powoduje przede wszystkim wzrost syntezy wolnych rodników tlenowych, a w mniejszym stopniu dialdehydu malonowego. Wzrost stężenia ROS i MDA jest skorelowany ze spadkiem aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Świadczy to nie tylko o aktywności prooksydacyjnej, ale również oznacza, iż nikiel(II) osłabia mechanizmy obronne komórki. Potwierdzają to też badania innych autorów (Kalaivani i wsp., 2014; Salnikow i wsp., 2000; Chen i wsp., 2003).

Dane literaturowe jednoznacznie wskazują na genotoksyczne działanie niklu. Wykazano, że nikiel powoduje wzrost stężenia histonu H3K4me3, ale spadek H3K9me3, co może nasilać powstawanie mutacji i uszkodzenia w DNA (Chen i wsp., 2003; Arita i wsp., 2012; Hu i wsp.). W badaniach przeprowadzonych w pracy nr 4.2 wykazano, że wraz ze wzrostem stężenia chlorku niklu wzrasta liczba komet w obu badanych liniach komórkowych. Jednak bardziej wrażliwa na działanie badanego związku była linia BALB/3T3. Również test mikrojądrowy potwierdza genotoksyczne działanie

chlorku niklu. W tym teście również linia BALB/3T3 okazała się bardziej wrażliwa niż linia HepG2. Ponadto w preparatach mikroskopowych obserwowano komórki olbrzymie, ze zwakuolizowaną cytoplazmą, posiadające wygląd charakterystyczny dla apoptozy. W teście AMES'a nikiel(II) wywołuje mutacje przesunięcia ramki odczytu silniej niż zmiany par zasad (praca nr 4.2). Te zmiany w DNA nie pozostają bez wpływu na prawidłowość przebiegu cyklu komórkowego. Obserwowano spadek odsetka komórek znajdujących się w fazach G0/G1 i S, natomiast rośnie w fazie G2/M (praca nr 4.3). Ponadto pojawia się pik subG1, co potwierdzają obserwacje mikroskopowe. Podobne obserwacje poczynili inni autorzy (Lee i wsp., 2016; Chen i wsp., 2010; Shiao i wsp., 1998). Uzyskane wyniki ukazują, że chlorek niklu hamuje cykl komórkowy w fazie G2/M. Lee i wsp. (2016) sugeruje, iż zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G2/M następowało na skutek zahamowania aktywności cdk1 poprzez stymulację ekspresji p53 and $p21^{WAF1/CIP1}$.

Obserwacje komórek poczynione w pracy 4.2 wskazywały na indukcję apoptozy. W pracach 4.3 i 4.4 wykazano, że za ten proces odpowiedziane są wolne rodniki tlenowe i osłabienie układu antyoksydacyjnego, co powoduje uszkodzenie mitochondriów. Proces apoptozy potwierdzają również badania przeprowadzone w pracy 4.5 z użyciem spektrometrii Ramana i FT-IR. Stwierdzono, nie tylko wzrost stężenia kaspaz 3, 6 i 9 co potwierdza udział mitochondriów w indukcji apoptozy, ale również wzrost stężenia kaspazy 12 i tworzenie na terenie cytoplazmy tworzenie kropli lipidowych, co potwierdza możliwość indukcji apoptozy na skutek uszkodzenia retikulum endoplazmatycznego. Ponadto zaobserwowano wzrost stężenia kaspazy 8, która jest markerem apoptozy indukowane ze szlaku zewnątrzpochodnego.

Indukcja apoptozy następowała też w mechanizmie zależnym od zachwiania równowagi pierwiastków znajdujących się w komórce (praca 4.6). Należą do nich: Na^+, K^+, Mg^{2+} oraz Ca^{2+}. W przypadku dwóch pierwszych dochodzi do zaburzenia funkcjonowania pompy sodowo-potasowej i utratę potencjału spoczynkowego błony komórkowej, co prowadzi do jej uszkodzenia i tworzenia ciałek apoptotycznych. Ich obecność obserwowano w badaniach zawartych w pracy 4.2 oraz 4.6. Natomiast wzrost stężenia jonów Ca^{2+} spowodowany jest uwalnianiem ich z RE, co jest spowodowane uszkodzeniem

tego organellum. Dodatkowo wzrost stężenia jonów Mg^{2+} powoduje zaburzenie cyklu komórkowego, co stwierdzono w pracy 4.3.

Ostatnim z analizowanych pierwiastków był molibden. Pierwiastek ten okazał się nietoksyczny w teście redukcji MTT w zakresie stężeń 100-1400 μM. Podobne obserwacje poczyniono w teście uwalniania dehydrogenazy mleczanowej. W obu linach komórkowych nie udało się wyznaczyć wartości IC_{50}. Jedynie w teście NRU zaobserwowano większą toksyczność trójtlenku molibdenu w stosunku do linii BALB/3T3 (praca nr 4.2). Jednak trójtlenek molibdenu okazał się genotoksyczny i to w stosunku do obu linii komórkowych. W obu testach: kometowym oraz mikrojadrowym obserwowano wzrost odpowiednio liczby komet oraz komórek zawierających mikrojądra. Obserwacje mikroskopowe wskazują na indukcję przez badany związek apoptozy. Komórki posiadają charakterystyczny kształt, z ciałkami apoptotycznymi i skondensowaną chromatyną. Bardziej wrażliwa w obu testach była linia HepG2. W teście AMES'a wykazano, że trójtlenek molibdenu częściej wywołuje mutacje typu przesunięcia ramki odczytu niż zamiany pary zasad (praca nr 4.2). Oznacza to uszkodzenia w DNA, który nie może być powielany w procesie replikacji. W badaniach wykonanych w pracy nr 4.3 wykazano, że po inkubacji obu linii komórkowych z trójtlenkiem molibdenu w zakresie stężeń 100-1000 μM maleje odsetek komórek będących w fazie G0/G1 oraz S, a rośnie komórek w fazie G2/M. Oznacza to zahamowanie cyklu komórkowego na etapie punku kontrolnego G2/M, co zapobiega powielaniu zmutowanego materiału genetycznego. Podobne obserwacje poczynił Siddiqui i wsp. (2015). Badania tego autora sugerują, że za destrukcyjną aktywność molibdenu odpowiadają wolne rodniki tlenowe. Potwierdzają to wyniki uzyskane w pracy 4.4. Obserwowano wzrost stężenia ROS i MDA. Ponadto spadek aktywności enzymów antyoksydacyjnych, które nie pełnią swojej funkcji ochronnej. Potwierdzają to też wyniki uzyskane w pracy nr 4.3, w której obserwowano spadek transmembranowego potencjału mitochondrialnego, za który odpowiedzialny jest wzrost stężenia wolnych rodników tlenowych.

Synteza wolnych rodników i osłabienie aktywności antyoksydacyjnej komórki jest jednym z mechanizmów prowadzących do indukcji apoptozy.

Jednak, podobnie jak w przypadku opisywanych wcześniej związków, w przypadku inkubacji komórek z trójtlenkiem molibdenu obserwowano wzrost stężenia kaspaz: 3, 6, 9, i 8 (praca 4.5). Potwierdza to możliwość aktywacji apoptozy w wyniki uszkodzenia mitochondriów oraz alternatywnie retikulum endoplazmatycznego. Potwierdzają to wyniki otrzymane metodami spektroskopii Ramana i FT-IR.

Innym mechanizmem prowadzącym do apoptozy po zadziałaniu trójtlenku molibdenu było zaburzenie równowagi Na^+, K^+, Mg^{2+} oraz Ca^{2+} (praca 4.6). Zaburzenie równowagi stężenia jonów Na^+ i K^+ powoduje zmianę struktury i funkcji błony komórkowej i tworzenie ciałek apototycznych. Jako jeden z objawów apoptozy były obserwowane w wynikach zawartych w pracach 4.2 oraz 4.6. Do innych objawów apoptozy spowodowanych zaburzeniem równowagi jonów Mg^{2+} oraz Ca^{2+} należały: kondensacja chromatyny, tworzenie mikrojader (praca 4.2) uszkodzenie mitochondriów (praca 4.3) i uszkodzenie RE (praca 4.6).

Substancje aktywne biologicznie mogą oddziaływać na siebie zmieniając wielkość lub rodzaj efektów toksycznych. Oddziaływania te mogą zachodzić w fazie toksokinetycznej i/lub toksodynamicznej. Wyróżnia się następujące rodzaje interakcji: addytywność, synergizm lub antagonizm. Efekt antagonistyczny występuje, gdy efekt działania dwóch substancji jest mniejszy niż suma tych substancji użytych oddzielnie. Z efektem synergistycznym mamy do czynienia, gdy efekt działania substancji razem użytych jest wyższy niż suma efektów substancji użytych pojedynczo. Gdy suma efektów działania pojedynczych substancji równa jest efektowi użycia ich równocześnie mówimy o addytywności (Fødevare Rapport).

Do badań oddziaływań wybrano dawki pierwiastków na podstawie testów cytotoksyczności z pierwszego etapu badań. W dawce 200 μM w przypadku wszystkich pierwiastków nie obserwowano zahamowania proliferacji komórek, a często jej stymulację. Natomiast w dawce 1000 μM obserwowano efekt toksyczny- znaczny spadek żywotności.

Przebadano następujące kombinacje:

chlorek chromu o stężeniu 200 μM plus chlorek żelaza o stężeniu 1000 μM,

chlorek chromu o stężeniu 200 μM plus chlorek niklu o stężeniu 1000 μM,
chlorek chromu o stężeniu 200 μM plus trójtlenek molibdenu o stężeniu 1000 μM,
chlorek chromu o stężeniu 1000 μM plus chlorek żelaza o stężeniu 200 μM,
chlorek chromu o stężeniu 1000 μM plus chlorek niklu o stężeniu 200 μM,
chlorek chromu o stężeniu 1000 μM plus trójtlenek molibdenu o stężeniu 200 μM.
i wykonano wszystkie testy jak w przypadku pojedynczych pierwiastków.

W oddziaływaniu chlorku chromu o stężeniu 200 μM z chlorkiem niklu lub trójtlenkiem molibdenu o stężeniu 1000 μM obserwowano antagonizm- chlorek chromu użyty w stężeniu 200 μM wykazywał działanie ochronne przed skutkami toksycznego działania chlorku niklu lub trójtlenku molibdenu o stężeniu 1000 μM. Obserwacje takie poczyniono w testach cytotoksyczności, gdzie obserwowano wzrost żywotności komórek w porównaniu do komórek inkubowanych z ww. związkami w dawce 1000 μM (praca nr 4.2). Ponadto obserwowano spadek liczby komet i mikrojąder oraz liczby mutacji w komórkach w porównaniu do komórek inkubowanych z ww. związkami o stężeniu 1000 μM (praca nr 4.2). Tą samą obserwacje poczyniono w teście cytometrycznym- następował wzrost mitochondrialnego potencjału błonowego. W innym teście cytometrycznym- analizy faz cyklu komórkowego również obserwowano spadek odsetka komórek będących w fazie subG1, a ponadto odsetek komórek znajdujących się w fazach G0/G1, S oraz G2/M był porównywalny z komórkami kontrolnymi (praca nr 4.3). Obserwacje te potwierdziły badania poziomu wolnych rodników tlenowych i MDA- spadało ich stężenie w porównaniu do komórek inkubowanych z ww. związkami o stężeniu 1000 μM oraz następował wzrost aktywności SOD, CAT oraz GPx (praca nr 4.4). Mechanizm takiego działania chromu wyjaśniają badania przeprowadzone w pracy nr 4.4. Chlorek chromu w niskich dawkach, tj. 100 oraz 200 μM nie powodował stresu oksydacyjnego w komórce- poziom wolnych rodników tlenowych oraz MDA był porównywalny do komórek kontrolnych, ponadto stymulował aktywność enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej oraz katalazy. Jednocześnie jak wykazano w pracy nr 4.4

chlorek niklu oraz trójtlenek molibdenu o stężeniu 1000 μM indukował stres oksydacyjny i obniżał aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Potwierdzają to obserwacje innych autorów. Badania przeprowadzone przez Długosza i wsp. (2012) oraz Chen'a i wsp. (2018) wykazały, ze chrom(III) w niskich dawkach powoduje wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej oraz katalazy. Te obserwacje były zgodne z badaniami zawartymi w pracy nr 4.4. Prawdopodobnie ta aktywność leży u podstaw funkcji ochronnej chromu(III) wobec niklu(II) i molibdenu(III). Wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy powoduje spadek aktywności wolnych rodników wobec mitochondriów, błony komórkowej czy DNA. Zaobserwowany w pracy nr 4.4 spadek aktywności enzymatycznej katalazy w dawkach wyższych jest związany z niszczeniem miejsca aktywnego tego enzymu przez jony chromu(III) (Chen i wsp., 2018). Ponadto wykazano, że chrom(III) w niskich dawkach powoduje wzrost procesywności i aktywności polimerazy, ale spadek wierności replikacji (Galaris i Evangelou, 2001, Snow i Xu, 1989), dlatego w teście AMES'a obserwowano pojedyncze mutacje w obserwowanej interakcji.

Zniszczenie miejsca aktywnego katalazy przez jony chromu(III) powoduje, że w oddziaływaniu chlorek chromu o stężeniu 1000 μM plus chlorek niklu lub trójtlenek molibdenu o stężeniu 200 μM nie wykazywał właściwości ochronnych. Co więcej obserwowano wzrost syntezy wolnych rodników tlenowych oraz MDA, a spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy oraz peroksydazy glutationowej.

W oddziaływaniu chlorku chromu o stężeniu 200 μM plus chlorek żelaza o stężeniu 1000 μM zaobserwowano efekt synergistyczny. Zarówno w testach cytotoksyczności, genotoksyczności, jak i mutagenności obserwowano nasilenie toksyczności (praca nr 4.2). Obserwacje te potwierdzono też w teście cytometrycznym- następował spadek mitochondrialnego potencjału błonowego w porównaniu do komórek obu linii inkubowanych z chlorkiem chromu i chlorkiem żelaza samodzielnie. Ponadto w komórkach inkubowanych równocześnie z oboma pierwiastkami obserwowano wzrost odsetka komórek znajdujących się w fazie subG1 i G0/G1 (praca nr 4.3). Dane literaturowe wskazują, że zarówno chrom(III), jaki i żelazo(III) może generować

w komórce wolne rodniki tlenowe. W badaniach przedstawionych pracy nr 4.4 wykazano, że chrom(III), jaki i żelazo(III) generują powstawanie wolnych rodników tlenowych, jak i osłabienie układu antyoksydacyjnego. Jednak w przypadku żelaza(III) dużo silniej zachodziła peroksydacja lipidów i powstawały produkty ich utlenienia, m. in. MDA. W interakcji chlorku chromu w dawce 200 μM plus chlorek żelaza w dawce 1000 μM, nawet stymulacja aktywności, przez chrom(III) o stężeniu 200 μM, enzymów katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej, jest niewystarczająca, gdyż enzymy te nie neutralizują produktów peroksydacji lipidów. Ponadto aktywność peroksydazy glutationowej była bardzo niska i dlatego neutralizacja produktów utleniania lipidów jest niemożliwa. Produkty te silniej toksycznie oddziaływają na organella komórkowe niż rodniki hydroksylowe (Kohgo i wsp., 2008). Efekt toksyczny po równoczesnej inkubacji komórek obu linii z chlorkiem żelaza i chlorkiem chromu może wynikać też ze zdolności oddziaływania na DNA. Chrom(III) oddziałuje bezpośrednio na zasady azotowe i reszty fosforanowe, natomiast żelazo(III) oddziałuje na zasady azotowe w DNA wywołując efekty toksyczne (Moriwaki i wsp., 2008). Te mechanizmy prowadzą do synergizmu w działaniu obu pierwiastków.

Chrom i żelazo przebadano również pod kątem możliwości hamowania replikacji wirusów DNA i RNA (praca 4.1). Wykazano, że chlorek chromu oraz chlorek żelaza w stężeniach 200, 400, 600, 800, 1000 μM pierwiastki użyte samodzielnie hamują namnażanie wirusa HSV-1 oraz BVDV. Na podstawie otrzymanych wyników wybrano stężenia pierwiastków do badania oddziaływań. Mikroelementy użyte równocześnie w następujących interakcjach: 1) chlorek chromu w stężeniu 200 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 1000 μM, 2) chlorek chromu w stężeniu 1000 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 200 μM,3) chlorek chromu w stężeniu 400 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 800 μM oraz 4) chlorek chromu w stężeniu 800 μM plus chlorek żelaza w stężeniu 400 μM działają synergistycznie w spadku liczby kopii DNA obu zastosowanych wirusów. Prawdopodobny mechanizm opiera się na możliwej interakcji mikroelementów z DNA i RNA wirusów. Oba pierwiastki

mają zdolność interakcji z kwasami nukleinowymi, powodując ich uszkodzenie.

Wnioski

Analiza uzyskanych wyników badań pozwoliła na wyciągniecie szeregu wniosków, z których najważniejsze przedstawiono poniżej.

1. Najbardziej wrażliwa na działanie chlorku chromu jest błona komórkowa, kolejno mitochondria i lizosomy w komórkach prawidłowych i nowotworowych. Mitochondria komórek nowotworowych są bardziej wrażliwe na toksyczne działanie chlorku żelaza niż linii prawidłowej.
2. Chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu oraz trójtlenek molibdenu wywołują przerwy w dwuniciowym i jednoniciowym DNA oraz powstawanie miejsc AP- nieposiadających zasad purynowych ani pirymidynowych.
3. Chlorek chromu, trójtlenek molibdenu oraz chlorek niklu wywołują częściej mutacje typu przesunięcia ramki odczytu, a rzadziej mutacje zamiany pary zasad. Natomiast chlorek żelaza wywołuje mutacje typu zamiany pary zasad, jak i przesunięcia ramki odczytu
4. Chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu oraz trójtlenek molibdenu powodują zaburzenia funkcjonowania wrzeciona podziałowego prowadząc do replikacji jądra komórkowego, bez podziału cytoplazmy.
5. Chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu oraz trójtlenek molibdenu generuje syntezę wolnych rodników tlenowych. Dodatkowo chlorek żelaza wywołuje peroksydację lipidów.
6. Chlorek chromu w niskich stężeniach stymuluje aktywność enzymów antyoksydacyjnych, a w wyższych hamuje ich aktywność. Natomiast chlorek żelaza, chlorek niklu oraz trójtlenek molibdenu hamują aktywność enzymów antyoksydacyjnych
7. Chlorek chromu, chlorek niklu oraz trójtlenek molibdenu powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego na etapie punku kontrolnego G2/M, natomiast chlorek żelaza powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego na etapie punku kontrolnego G0/G1.
8. Chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu, trójtlenek molibdenu wywołują apoptozę w szlaku wewnątrzpochodnym zależnym od

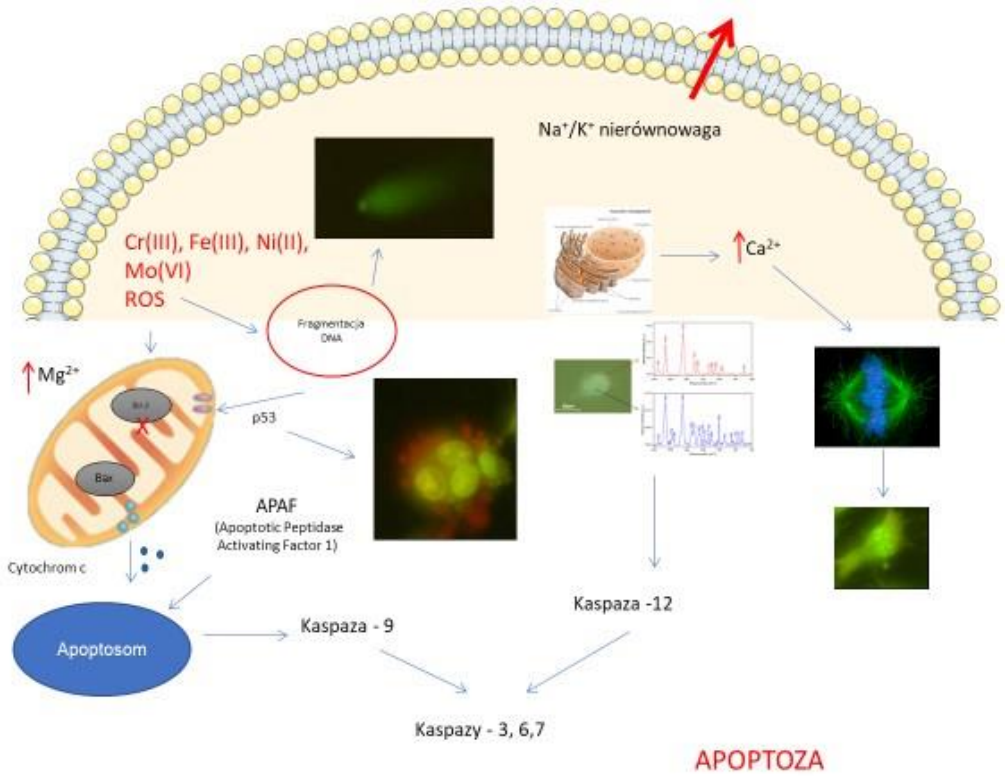
mitochondriów, retikulum endoplazmatycznym i zaburzeniu równowagi jonowej. Chlorek niklu dodatkowo wywołuje apoptozę w szlaku zewnątrzpochodnym.

9. Chlorek chromu, chlorek żelaza, chlorek niklu, trójtlenek molibdenu wywołują apoptozę na skutek zaburzenia równowagi stężenia jonów Na^{+}, K^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}.
10. Chlorek chromu oddziałuje synergistycznie z chlorkiem żelaza.
11. Chlorek chromu oddziałuje antagonistycznie z chlorkiem niklu i trójtlenkiem molibdenu- pełni funkcje ochronne przed wysokimi dawkami niklu i molibdenu.
12. Chlorek chrom i chlorek żelaza hamują replikację wirusów DNA i RNA użyte samodzielnie, jak i równocześnie na sposób synergistyczny.

Podsumowanie

Celem badań przedstawionych w niniejszym opracowaniu było poznanie metabolizmu chromu, a także żelaza, niklu i molibdenu. Ponadto charakteru oddziaływań pomiędzy chromem a pozostałymi pierwiastkami. Jest to bardzo istotny problem we współczesnej medycynie. W ostatnich latach notuje się wzrost przyjmowania preparatów witaminowo-mineralnych oraz suplementów diety. Również na szeroka skalę stosowane są biomateriały zawierające te mikroelementy. W organizmach ludzi i zwierząt może dochodzić do przekroczenia bezpiecznych stężeń pierwiastków oraz do nieznanych dotąd oddziaływań. Dlatego tak duże znaczenia mają otrzymane wyniki. Są one pierwszymi doniesieniami w literaturze dotyczącymi odziaływania pomiędzy chromem, a żelazem lub niklem lub molibdenem, co utrudniało przeprowadzenie dyskusji z wynikami prac innych autorów. Badania przeprowadzone w ramach prezentowanych prac wykazały możliwość indukcji apoptozy w komórkach w szlaku zewnątrzpochodnym (nikiel) oraz wewnątrzpochodnym (chrom, nikiel, żelazo i molibden). Dodatkowo wykazano, że mechanizmy leżące u podstaw apoptozy dotyczą wielu organelli. Dostępna literatura wskazywała na zaangażowanie wolnych rodników tlenowych w ten proces pod wpływem badanych pierwiastków. Prezentowane badania pokazały, iż nie tylko ROS są odpowiedzialne za indukcja apoptozy, ale również

osłabienie aktywności enzymów antyoksydacyjnych odpowiada za ten proces. ROS oddziałują na mitochondria, powodując ich uszkodzenie, uwalnianie cytochromu *c* i aktywację kaspaz: 9, 3, 6 oraz 7. Poza tym wzrost stężenia jonów Mg^{2+} powoduje obniżenie ekspresji Bcl-2 i wzrost ekspresji Bax co wpływa na uwalnianie cytochromu *c*. Dodatkowo apoptozę powoduje uszkodzenie RE, co prowadzi do uwolnienia jonów Ca^{2+} do cytoplazmy. Nadmiar tych jonów negatywnie wpływa na regulację cyklu komórkowego i jego hamowanie w fazach G1/S i G2/M oraz podczas tworzenia wrzeciona podziałowego. Uszkodzenie RE powoduje również tworzenia kropel lipidowych w cytoplazmie i aktywacje kaspazy 12 prowadząc do apoptozy. Ponadto zaburzenie równowagi jonów Na^{+}/K^{+} prowadzi do zaburzenia potencjału spoczynkowego błony komórkowej i tworzenia pęcherzyków na powierzchni błony. Niezależnie od możliwości indukcji apoptozy przez zmiany metabolizmu błony komórkowej, mitochondriów i RE pierwiastki samodzielnie i poprzez wolne rodniki tlenowe oddziałują z DNA komórki powodują jego uszkodzenia i mutacje.



Literatura

Arita A., Shamy M.Y., Chervona Y., Clancy H.A., Sun H., Hall M.N., Qingshan Q., Gamble M.V., Costa M., 2012, The effect of exposure to carcinogenic metals on histone tail modifications and gene expression in human subjects. J. Trace Elem. Med. Biol, 26: 174-178.

Baghi D., Stohs S.J., Downs B.W., Bagchi M., Preuss H.G., 2002, Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. Toxicology, 180: 5-22.

Bauer S., Schmuki P., von den Mark K., Park J., 2013, Engineering biocompatible implant surfaces. Part I- Materials and surfaces, Progr. Mater. Sci., 58: 261-326.

Berner T. G., Murphy M. M., Slesinski R., 2004, Determining the safety of chromium tripicolinate for addition to foods as a nutrient supplement, Food Chem. Toxicol., 2004, 42: 1029-1042.

Berntsson E., Vosough F., Svantesson T., et al., 2023, Residue-specific binding of Ni(II) ions influences the structure and aggregation of amyloid beta (Aβ) peptides, Sci. Rep. 13, 3341.

Chen C.-Y., Wang Y.-F., Lin Y.-H., Yen S.-F., 2003, Nickel-induced oxidative stress and effect of antioxidants in human lymphocytes. Arch. Toxicol., 77: 123–130.

Chen C.Y., Lin T.K., Chang Y.C., Wang Y.F., Shyu H.W., Lin K.H., Chou M.C., 2010, Nickel(II)-induced oxidative stress, apoptosis, G2/M arrest, and genotoxicity innormal rat kidney cells. J. Toxicol. Environ. Health A, 73: 529–539.

Chen L., Zhang J., Zhu Y., Zhang Y., 2018, Interaction of chromium(III) or chromium(VI) with catalase and its effect on the structure and function of catalase: An in vitro study. Food Chemistry, 244: 378–385.

Chiba K., Kawakami K., Tohyama, K., 1998, Simultaneous evaluation of cell viability by neutral red, MTT and crystal violet staining assays of the same cells. Toxicol. in Vitro, 12(3): 251-8.

Czajka A., 2006, Reactive oxygen species and mechanisms of body protection. Nowiny Lekarskie, 75(6): 582–586.

Czubaszek M., Szostek M., Wójcik E., Andraszek K., 2014, Test kometowy jako metoda identyfikacji niestabilności chromosomów. Postepy Hig. Med. Dosw., 68: 695-700.

Dai H., Liu J., Malkas L.H., Catalano J., Alagharu S., Hickey R.J., 2009, Chromium reduces the in vitro activity and fidelity of DNA replication mediated by the human cell DNA synthesome. Toxicol. Appl. Pharmacol., 236: 154–165.

Długosz A., Rembacz K.P., Pruss A., Durlak M., Lembas-Bogaczyk J., 2012, Influence of chromium on the natural antioxidant barrier. Pol. J. Environ. Stud., 21(2): 331-335.

Eid R., Arab N.T.T., Greenwood M.T., 2017, Iron mediated toxicity and programmed cell death: A review and a re-examination of existing paradigms. Biochim. Biophys. Acta., 1864: 399–430.

Eastmond D. A., Macgregor J. T., Slesinski R. S., 2008, Trivalent chromium: assessing the genotoxic risk of an essential trace element and widely used human and animal nutritional supplement. Crit. Rev. Toxicol., 38(3): 173-90.
Fang J.L., Beland F.A., 2009, Long-term exposure to zidovudine delays cell cycle progression, induces apoptosis, and decreases telomerase activity in human hepatocytes. Toxicol. Sci., 111: 120–130.
Fenech M., 2008, The micronucleus assay determination of chromosomal level DNA damage. Methods Mol. Biol., 410: 185-216.
Figgitt M., Newson R., Leslie I. J., Fisher J., Ingham E., Case C. P., 2010, The genotoxicity of physiological concentrations of chromium (Cr(III) and Cr(VI)) and cobalt (Co(II)): An in vitro study. Mut. Res., 688(1–2): 53-61.
Fødevare Rapport, 2003:12.Combined Actions and Interactions of Chemicals in Mixtures.
Galaris D., Evangelou A., 2002, The role of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis. Crit. Rev. Oncol. Hematol., l42: 93-103.
Grosicka-Maciąg E., 2011, Biologiczne skutki stresu oksydacyjnego wywołanego działaniem pestycydów, Postepy Hig. Med. Dosw., 65: 357-366
He W., Feng Y., Li X., Wei Y., Yang X., 2008, Availability and toxicity of Fe(II) and Fe(III) in Caco-2 cells. J. Zhejiang Univ. Sci. B, 9(9): 707-712.
Hininger I., Rachida B., Osman M., Faure H., Roussel A.M., Anderson R.A., 2007, Safety of trivalent chromium complexes: No evidence for DNA damage in human HaCaT keratinocytes. Free Radic. Biol. Med., 42: 1759–1765.
Hirsh M., Konijn A.M., Iancu T.C., 2002, Acquisition storage and release of iron by cultured human hepatoma cells. J. Hepatol., 36: 30-38.
Hirsh M., Konijn A.M., Iancu T.C., 2002, Hepcidin the iron watcher. Biochimie, 91: 1223-1228.
Hu W.Z., Feng Z., Tang M.S., 2004, Nickel (II) enhances benzo[a]pyrene diol epoxide-induced mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair in human cells: a possible mechanism for nickel (II) -induced carcinogenesis. Carcinogenesis, 25(3): 455-462.
Huang L., Huang H., Zhang Z., Li G., 2023, Contractile Hairpin DNA-Mediated Dual-Mode Strategy for Simultaneous Quantification of Lactoferrin and Iron

Ion by Surface- Enhanced Raman Scattering and Fluorescence Analysis, Anal. Chem., 95(14), 5946–5954.

Jia J., Chen J., 2008, Chronic nickel-induced DNA damage and cell death: the Protection role of ascorbic acid. Environ. Toxicol., 23: 401–406.

Kalaivani P., Saranya S., Poornima P., Prabhakaran R., Dallemerm F., Vijaya Padma V., Natarajan K., 2014, Biological evaluation of new nickel(II) metallates: Synthesis, DNA/protein binding and mitochondrial mediated apoptosis in human lung cancer cells (A549) via ROS hypergeneration and depletion of cellular antioxidant pool. Eur. J. Med. Chem., 82: 584-599.

Klein C., Costa M., 2015, Chapter 48 – Nickel, in: Nordberg G.F., Fowler B.A. (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition), Elsevier, pp. 1091–1089.

Kohgo Y., Ikuta K., Ohtake T., Torimoto Y., Kato, J., 2008, Interaction of chromium(III) or chromium(VI) with catalase and its effect on the structure and function of catalase: An in vitro study. Int. J. Hematol., 88: 7–15.

Kozłowska A., Olewińska E., Pawlas N., 2012, Wykorzystanie mikropłytkowego testu Amesa MPFTM do oceny mutagenności pyłowych zanieczyszczeń powietrza. Medycyna Środowiskowa - Environmental Medicine, 15(3): 55-65.

Langard, S., and Costa M. (2015). Chromium, chapter 33, In “Handbook on the Toxicology of Metals 4E” (Langård S., Costa M., Eds.), pp. 717-742. Elsevier B.V.

Le N.T.V., Richardson D.R., 2002, The role of iron in cell cycle progression and the proliferation of neoplastic cells. Biochim. Biophys. Acta, 1603: 31– 46.

Lee Y.-J., Lim S.-S., Baek B.J An., J.-M., Nam H.-S., Woo K.-M., Cho M.-K., Kim S.-H., Lee S.-H., 2016, Nickel(II)-induced nasal epithelial toxicity and oxidative mitochondrial damage. Environ. Toxicol. Pharmacol., 42: 76–84.

Lieu P.T., Heiskala M., Petersom P.A., Yang Y., 2001, The roles of iron in health and disease. Mol. Aspect. Med., 22: 1-87.

Lv W., Fu B., Li M., Kang Y., Bai S., Lu C., 2022, Determination of IC50 values of anticancer drugs on cells by D2O – single cell Raman spectroscopy, Chem. Commun. 58, 2355–2358.

Mazzotti F., Sabbioni E., Ponti J., Ghiani M, Fortaner S., Rossi G.L., 2002, *In vitro* setting of dose- effect relationships of 32 metal compounds in the

Balb/3T3 cell line, as a basis for predicting their carcinogenic potential. ATLA, 30: 209-21.

Mendel R.R., 2013, Cell biology of molybdenum, in Banci, L., (Ed.), Metallomics and the Cell, 12: 503-528.

Moriwaki H., Osborne M.R., Phillips D.H., 2008 Effects of mixing metal ions on oxidative DNA damage mediated by a Fenton-type reduction. Toxicol. in Vitro, 22(1): 36 - 44.

O'Brien T.J., Ceryak S., Patierno S.R., 2003, Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. Mutat. Res. 533: 3-36.

Patel B, Favoro G, Inam F, Reece M. J, Angadij A, Bonfield W, Huang J, Edirisinghe., 2012, Cobalt-based orthopaedic alloys: Relationship between forming route, microstructure and tribological performance. Mater. Sci. Eng. C, 32: 1222-1229

Pu X, Wang Z., Klaunig J.E., 2015, Alkaline comet assay for assessing DNA damage in individual cells. Curr .Protoc. Toxicol., 6;65(3): 12.1-11

Rauwel E., Al-Arag S., Salehi H., Amorim C.O., Cuisinier F., Guha M., Rosario M.S., Rauwel P., 2020, Assessing Cobalt Metal Nanoparticles Uptake by Cancer Cells Using Live Raman Spectroscopy, Int. J. Nanomed. 15, 7051–7062.

Rudolf E., Červinka M., 2003, Chromium (III) produces distinct of cell death in cultured cells. Acta Medica (Hradec Kralowe), 46(4): 139-146.

Salnikow K., Su W., Blagosklonny M.V., Costa M., 2000, Carcinogenic metals induce hypoxia-inducible factor-stimulated transcription by reactive oxygen species-independent mechanism. Cancer Res., 60: 3375–3378.

Schoonen W.G., de Roos J.A., Westerink W.M., Débiton E., 2005,, Cytotoxic effects of 110 reference compounds on HepG2 cells and for 60 compounds on HeLa, ECC-1 and CHO cells. II mechanistic assays on NAD(P)H, ATP and DNA contents. Toxicol. in Vitro, 19: 491–503.

Shiao Y.H., Lee S.H., Kasprzak K.S., 1998, Cell cycle arrest, apoptosis and p53 expression in nickel(II) acetate-treated Chinese hamster ovary cells. Carcinogenesis, 19: 1203–1207.

Siddiqui M.A., Saquiba Q., Ahamed M., Farshorid N.N., Ahmad J., Wahab R., Khan S.T., Alhadlaq H.A., Musarrat J., Abdulaziz Al-Khedhairy A., Pant A.B., 2015, Molybdenum nanoparticles-induced cytotoxicity, oxidative stress,G2/M arrest, and DNA damage in mouse skin fibroblast cells (L929). Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 125: 73–81.

Snow E.T., Xu L., 1991, Chromium-III bound to DNA templates promotes increased polymerase processivity and decreased fidelity during replication in vitro. Biochemistry, 30: 11238–11245.

Srai S.K.S., Bomford A., McArdle H.J., 2002, Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron uptake. Best. Pract. Res. Clin. Haematol., 15(2): 243-259.

Srai S.K.S., Bomford A., McArdle H.J., 2002, Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron uptake. Best. Pract. Res. Clin. Haematol., 15(2): 243-259.

Swanson C. A., 2003, Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload, Alcohol, 30: 99-102.

Tallkvist J., Oskarsson A., 2015, Chapter 47, Molybdenum, in: Nordberg G.F., Fowler B.A. (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals (Fourth Edition), Elsevier, pp. 1077–1089.

Tkaczyk C., Huk O.L., Mwale F., Antoniou J., Zukor D.J., Petit, A., Tabrizian, M. 2010, Investigation of the binding of Cr(III) complexes to bovine and human serum proteins: A proteomic approach. J. Biomed. Mater. Res., 94A, 214-222.

Troadec M.-B., Courselaud B., Detivaud L., Haziza-Pigeon Ch., Leroyer P., Brissot P., Loreal O., 2006, Iron overload promotes Cyclin D1 expression and alters cell cycle in mouse hepatocytes. J. Hepatol., 44:391–399.

Wang Y.-F., Shyu H.-W., Chang Y.-Ch., Tseng W.-Ch., Huang Y.-L., Lin K.-H., Chou M.-Ch., Liu H.-L., Chen Ch.-Y., 2012, Nickel (II)-induced cytotoxicity and apoptosis in human proximal tubule cells through a ROS- and mitochondria-mediated pathway, Toxicol. Appl. Pharmacol., 259(2): 177–186.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol. Interact., 160: 1–40.

Vincent J. B., 2001, The bioinorganic chemistry of chromium (III), Polyhedron,

20, 1-26.
Vincent J.B., Edwards K.C.,2019, Chapter 4 - The absorption and transport of chromium in the body in The Nutritional Biochemistry of Chromium (III) (Second Edition), (Ed.), John B. Vincent, Elsevier, 129-174

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

Badanie interakcji pierwiastków *in vitro* i *in vivo*

Studia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi ukończyłam w 2000 roku obroną pracy magisterskiej pt. „*Spontaniczne i indukowane in vitro wytwarzanie cytokin w komórkach podścieliska szpiku kostnego osób chorych na ostrą białaczkę szpikową i szpiczaka mnogiego*". W tym samym roku zostałam zatrudniona jako asystent naukowo-dydaktyczny w Katedrze Biologii Komórki, Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego. Od początku mojej pracy naukowej moje zainteresowania skupiały się wokół metabolizmu pierwiastków oraz zastosowania metod alternatywnych w badaniu ich metabolizmu. Pierwiastkiem, który wzbudzał moje szczególne zainteresowanie był chrom(III). Był to pierwiastek, którego mechanizm działania nie był poznany, a w literaturze pojawiało się coraz więcej nowych doniesień na temat jego udziału w aktywacji receptora insulinowego, czy metabolizmie tłuszczy. Coraz częściej podkreślano jego udział w redukcji masy tkanki tłuszczowej. Oprócz chromu(III) drugim pierwiastkiem, który znalazł się w kręgu moich zainteresowań był wanad(V). Jego metabolizm był lepiej poznany. Bardzo interesowały mnie możliwości interakcji obu pierwiastków. Wykazano, że chrom pełni funkcje ochronne w stosunku do toksycznego działania wanadu(V). Uczestniczyłam ponadto w określeniu interakcji selenu(IV) i cynku(II) z wanadem. Cynk(II) pełnił funkcje ochronne przed toksycznym działaniem wanadu(V).

W wyniku przeprowadzonych przeze mnie badań ustalono, że chlorek chromu powoduje przesuniecie krzywej oporności osmotycznej erytrocytów u szczurów, które otrzymywały w wodzie do picia chlorek chromu. Ponadto,

obserwowano wzrost minimalnej, średniej oraz maksymalnej oporności osmotycznej erytrocytów pod wpływem Cr(III). Dodatkowo po zadziałaniu tego pierwiastka obserwowano w mikroskopie elektronowym zniszczenie błony erytrocytów- wypuklenia błony komórkowej. Świadczyć to może o aktywności prooksydacyjnej tego pierwiastka. Te obserwacje potwierdziły koleje badania, w których chlorek chromu u szczurów powodował wzrost stężenia MDA.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach i prezentowane na konferencjach naukowych: A1, A2, A3, A4, R1, R2, P1, P2, P3, P4, P5.

W roku 2006 rozpoczęłam współpracę z Katedrą Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, z prof. dr hab. Andrzejem K. Siwickim, pod kierunkiem, którego przygotowałam rozprawę doktorską. W ramach tej współpracy prowadziłam badania nad interakcją chromu(III) oraz żelaza(III) w zakresie uwalniania IL-1, IL-6, aktywności proliferacyjnej limfocytów, aktywności metabolicznej fagocytów, poziomu γ-globulin i aktywności lizozymu u myszy oraz oporności osmotycznej erytrocytów myszy, całkowitej zdolności wiązania żelaza (total iron-binding capacity, TIBC) oraz indeksu saturacji transferryny (index of transferin saturation, ITS). W badaniach tych wykazałam, że u myszy: chrom(III) oraz żelazo(III) powoduje spadek wydzielania IL-1, bez zmian w wydzielaniu IL-6, aktywności proliferacyjnej limfocytów, aktywności metabolicznej fagocytów, poziomu γ-globulin i aktywności lizozymu u myszy, którym dootrzewnowo podawano Cr(III) lub Fe(III). Równoczesne stosowanie obu pierwiastków powoduje synergizm ich działania *in vivo*. Ponadto chrom(III) oraz żelazo(III) podawane równocześnie powoduje przesuniecie krzywej oporności osmotycznej erytrocytów myszy, co oznacza synergizm w nasileniu aktywności hemolitycznej. Dodatkowo stężenie żelaza w surowicy krwi spada po podaniu chromu(III). Podobne obserwacje poczyniono dla całkowitej zdolności wiązania żelaza (total iron-binding capacity, TIBC) oraz indeksu saturacji transferryny (index of transferin saturation, ITS). Równoczesne podawanie zwierzętom żelaza(III) i chromu(III) powoduje spadek poziomu żelaza w surowicy krwi, TIBC oraz ITS. Dodatkowo

wykonałam badania *in vitro* z użyciem hodowli komórkowych.

Chrom(III) i Żelazo(III) powodował spadek żywotności fibroblastów oraz indukcję apoptozy, wzrost wydzielania IL-1, a spadek IL-6 *in vitro*. Chrom(III) pełni ponadto funkcje ochronne przed cytotoksycznością wywołaną przez żelazo(III) w komórkach linii BALB/c 3T3, podczas równoczesnej inkubacji z oboma pierwiastkami. Jednak preinkubacja komórek linii BALB/c 3T3 z Fe(III) chroni przed toksycznością wywołaną Cr(III).

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach i prezentowane na konferencjach naukowych: A5, A6, A7, A8, A10, A13, A21, P6, P7, P11, P12, P13, P14, P15, P16.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych w roku 2010 zostałam zatrudniona w nowo utworzonym Instytucie Inżynierii Środowiska. W roku 2011 zostałam kierownikiem Pracowni Biologii Środowiska. W nowo utworzonym zespole badawczym kontynuowałam rozpoczęte w pracy doktorskiej badania nad interakcjami mikroelementów. Jednak w nowoutworzonej jednostce nie było laboratorium umożliwiającego prowadzenie badań, dlatego swoje badania kontynuowałam na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie.

W roku 2012 odbyłam staż naukowy w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. W ramach tego stażu przeprowadzono badania aktywności przeciwwirusowej chromu(III), żelaza(III) i niklu(II). Wyniki badań dotyczące interakcji chromu i żelaza na aktywność przeciwwirusową przedstawiono w punkcie 4 autoreferatu.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach i prezentowane na konferencjach naukowych: A12, R6, P18, P22.

W 2014 roku odbyłam staże w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. W czasie stażu realizowałam badania interakcji

mikrolelementów, tj. chromu z niklem, żelazem lub molibdenem. Obejmują one wyniki opisane już w punkcie 4 autoreferatu.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach i prezentowane na konferencjach naukowych: A18, A19, A22, R7, R8, R14, R15, R17, R20, P23.

Dodatkowo badałam interakcje żelaza z niklem oraz żelaza z molibdenem. Podjęłam również badania nad interakcjami molibdenu z chromem lub niklem lub kobaltem lub żelaza.

Zarówno chlorek niklu, jak i chlorek żelaza wywoływało zależny od dawki spadek żywotności komórek: mysich fibroblastów oraz linii nowotworowej HepG2 obserwowany był w teście redukcji MTT, uwalniania dehydrogenazy mleczanowej oraz pochłaniania czerwieni obojętnej. W testach genotoksyczności obserwowano zależny od dawki wzrost liczby komet oraz mikrojąder po inkubacji z oboma pierwiastkami. Dodatkowo w preparatach mikroskopowych obserwowano komórki olbrzymie, wielojądrzaste lub apoptotyczne, tj. z „paczkującą" cytoplazmą oraz silnie zwakulizowane w obu liniach komórkowych. W teście mutagenności stwierdzono, że chlorek niklu wywołuje mutacje typu przesunięcia ramki odczytu częściej niż zamiany pary zasad. Natomiast chlorek żelaza z podobną częstotliwością wywołuje oba typy mutacji. Równoczesna inkubacja obu linii komórkowych z chlorkiem żelaza w stężeniu 200 μM i chlorkiem niklu w stężeniu 1000 μM oraz chlorkiem żelaza w stężeniu 1000 μM i chlorkiem niklu w stężeniu 200 μM wywoływała efekt synergistyczny obserwowany w testach cytotoksyczności. Jedynie w teście redukcji MTT zaobserwowano ochronne działanie niskich dawek chlorku żelaza- 200 μM w stosunku do toksycznych dawek chlorku niklu- 1000 μM. U podstaw takiego działania chlorku żelaz leży prawdopodobnie jego wpływ na prawidłowe działanie dehydrogenazy bursztynianowej. Podobne obserwacje poczyniono w testach genotoksycznosci oraz mutagenności. Żelazo(III) w stężeniu 200 μM pełni funkcje ochronne w stosunku do niklu(II) w stężeniu 1000 μM.

Kolejną analizowaną interakcją była interakcja chlorku żelaza i trójtlenku molibdenu. Tutaj też zaobserwowano zależny od dawki spadek żywotności komórek linii BALB/3T3 oraz HepG2 w teście redukcji MTT. Natomiast w teście uwalniania LDH trójtlenek molibdenu nie wykazywał toksyczności. Podobnie w teście pochłaniania czerwieni obojętnej w linii nowotworowej. Natomiast chlorek żelaza był toksyczny we wspomnianych powyżej testach w zakresie stężeń 400-1400 μM. Oznacza to, że trójtlenek molibdenu nie jest toksyczny wobec błony komórkowej w obu linach komórkowych oraz wobec lizosomów linii nowotworowej. W testach kometowym oraz mikrojądrowym stwierdzono wzrost liczby komet oraz mikrojąder odpowiednio. Ponadto w preparatach obserwowano komórki apoptotyczne. W teście mutagenności stwierdzono, że trójtlenek molibdenu wywołuje mutacje typu przesunięcia ramki odczytu częściej niż zamiany pary zasad. Natomiast chlorek żelaza z podobną częstotliwością wywołuje oba typy mutacji. Natomiast w badanych interakcjach: chlorek żelaza w stężeniu 200 μM plus trójtlenek molibdenu w stężeniu 1000 μM oraz chlorek żelaza w stężeniu 1000 μM plus trójtlenek molibdenu w stężeniu 200 μM wykazano działanie synergistyczne obu pierwiastków w obu badanych liniach w testach cytotoksyczności, genotoksyczności, mutagenności oraz wzroście stężenia ROS i MDA oraz spadku aktywności SOD, CAT i GPx.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach: A16, A17, A20, A23, R9, R10, R11, R12, R13, R21, P19

Badania metabolizmu mikroelementów kontynuowane były również w ramach kolejnych staży. W roku 2020 r. odbyłam trzymiesięczny staż naukowy w Instytucie Fizyki Jądrowej PAN. W ramach tej współpracy kontynuowałam badania na indukcją apoptozy w komórkach pod wpływem chlorku chromu, chlorku żelaza, chlorku niklu oraz trójtlenku molibdenu z użyciem spektrometrii Ramana i FT-IR. Wyniki tych badań zostały opisane punkcie 4 autoreferatu.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracy: A28.

W roku 2019, 2021 oraz 2023 odbyłam trzy staże w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalityki, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Wyniki tych badań zostały opisane punkcie 4 autoreferatu.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracy A29.

Badanie cytotoksyczności i genotyczności pranobexu inozyny

Kolejny staż w Katedrze Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego odbyłam w dniach 1 III - 7 IV 2014 r. Badania prowadzone przeze mnie dotyczyły genotoksyczności i cytotoksyczności pranobexu inozyny.

Badania wykonywane były w ramach projektu: *Badania nad innowacyjnym lekiem o działaniu immunostymulacyjnym u zwierząt* (POIG.01.03.01-28-108/12) finansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Miały na celu określenie cytotoksyczności, genotoksycznosci i mutagenności tego związku w stosunku do linii prawidłowych i nowotworowych. Pranobex inozyny to mieszanina inozyny z kwasem 4-acetamidobenzoesowym i 1-dimetyloamino 2-propanolem (w stosunku molowym 1:3). Stosowany jest w infekcjach wirusowych, jako lek hamujący namnażanie wirusów i jako preparat immunomodulujacy. Wykazano w testach cytotoksyczności, że linia nowotworowa była wrażliwa na jego cytotoksyczne działanie. W testach genotoksycznosci, również linia nowotworowa była bardziej wrażliwa na toksyczne działanie pranobexu inozyny.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach: A14, A15.

Badanie właściwości biologicznych biomateriałów

W 2021 roku rozpoczęłam pracę w Katedrze Medycyny Zabiegowej z Pracownią Genetyki Medycznej, Instytutu Nauk Medycznych, Collegium Medicum, Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach. W nowym miejscu

pracy rozpoczęłam badania nad zastosowaniem nowych biomateriałów w medycynie. W tym celu nawiązałam współpracę z Politechniką Świętokrzyską, Politechniką Warszawską oraz Siecią Badawczą Łukasiewicz-Łódzkim Instytutem Technologicznym. W ramach tej współpracy badam właściwości biologiczne nowo syntetyzowanych nanstruktur, które mogą być stosowane w terapii przeciwnowotworowej. Jedną z takich struktur są jony nanosrebra osadzone na matrycy węglowej. Toksyczność nanostruktur srebra została przebadana w wielu doświadczeniach naukowych. Wykazywały one niebezpieczeństwo indukcji efektów cytotoksycznych, a zwłaszcza genotoksycznych i mutagennych. Stad podjęto próbę syntezy nowych struktur, które wyeliminują te efekty. W ramach prac opracowano metodę syntezy nowych nanostruktur. Natomiast ja byłam odpowiedzialna za przebadanie jego właściwości biologiczne. Badania przeprowadzono z użyciem linii L_{929} i badania wykazywały brak genotoksyczności oraz mutagenności, która często była obserwowana w przypadku nonostroktur srebra.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach i prezentowane na konferencjach naukowych A26, R19.

Współpraca dalej jest kontynuowana i prowadzone są badania nad zastosowaniem opracowanych nanostruktur w terapii antynowotworowej. Ponadto prowadzę badania nad opracowaniem nowych materiałów, które będę mogły służyć jako matryca do hodowli komórek pierwotnych nowotworu trzustki w układzie 3D. Badania te są prowadzone we współpracy z Siecią Łukasiewicz-Łódzkim Instytutem Technologicznym w Łodzi. W ramach tej współpracy przygotowano wniosek o dofinansowanie Narodowego Centrum Nauki w ramach programu OPUS.

Wyniki badań zostały prezentowane na konferencjach naukowych P16

Nowoczesne biomateriały będące używane w medycynie badałam również w ramach współpracy z Katedrą Biochemii i Biotechnologii Wydziału Farmaceutycznego, Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Natomiast ja byłam odpowiedzialna za przebadanie genotoksyczności biomateriału. Efektem tej

współpracy jest praca o roboczym tytule *Comprehensive biological assessment of biomimetic curdlan-based osteochondral scaffold – In vitro, ex vivo*, and *in vivo* studies in accordance with 3Rs principle, K. Klimek, S. Terpilowska, A. Michalak, R. Bernacki, A. Nurzynska, M. Cucchiarini, M. Tarczynska, K. Gaweda, S. Głuszek, G. Ginalska, która jest w czasie opracowywania.

Badanie wybranych parametrów pacjentów z uszkodzeniem mózgu

W 2019 roku rozpoczęłam współpracę z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie, I Kliniką Anestezjologii i Intensywnej Terapii SPSK4 w Lublinie dotyczącą badania wybranych parametrów pacjentów z uszkodzeniem mózgu. Ponadto wpływem osi mózg-jelita na parametry pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii. Współpraca ta kontynuowana jest do dziś. W wyniku tej współpracy badałam stężenia kaspaz oraz wybranych białek pro- i antyapoptotycznych u pacjentów z uszkodzeniem mózgu. W ramach tych badań odpowiedzialna byłam za wykonanie oznaczeń stężenia kaspaz: 3, 6, 8, 9 oraz 12. Ponadto oznaczałam stężenia Caspase Activated DNase (CAD), Tumour protein p53 (TP53), B-Cell Leukaemia/Lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl2 Associated X Protein (BAX), p53 Upregulated Modulator of Apoptosis (PUMA), Apoptotic Peptidase Activating Factor 1 (APAF1) oraz Bcl2 Associated Death Promoter (BAD). Wszystkie ww. parametry oznaczane były w płynie pochodzącym z płukania skrzelowo-pęcherzykowego (BALF**,** *bronchoalveolar lavage fluid*)u pacjentów z izolowanym uszkodzeniem mózgu - isolated traumatic brain injury (TBI), hospitalizowanych na oddziale Anestezjologii i Intensywnej Terapii SPSK4 w Lublinie. Zarówno kaspazy jak i białaka pro- i antyapoptotyczne są wskaźnikami procesu apoptozy komórek nabłonka dróg oddechowych. Stąd celem tych badań było określenie prawdopodobieństwa apoptozy komórek wyścielających drogi oddechowe, co może istotnie wpływać na kondycję układu oddechowego. Jest to o tyle istotne, że pacjenci ci są poddawani intensywnej wentylacji mechanicznej, co sprzyja powikłaniom płucnym, tj. niewydolności oddechowej, zapaleniu płuc, ostremu uszkodzeniu płuc i zespołowi niewydolności oddechowej (ALI/ARDS). Badania wykazały wyższe stężenia kaspazy-3, kaspazy-6 oraz kaspazy-8, u pacjentów, którzy

zmarli przed 28 dniem pobytu na Oddziale Intensywnej Terapii. Ponadto wykazano, że stężenie wszystkich oznaczanych kaspaz w BALF pacjentów z izolowanym ciężkim uszkodzeniem mózgu wykazuje związek z ciężkością urazu i 28 dniową śmiertelnością. Sugeruje to indukcję apoptozy, zarówno w szlaku zewnątrzpochodnym (wzrost stężenia kaspazy-8) jak i wewnątrzpochodnym (wzrost stężenia kaspazy 9). Ponadto wzrost stężenia kaspaz sugeruje apoptozę indukowaną przez zaburzenie pracy mitochondriów (wzrost stężenia kaspaz-3, 6 i 9) jak i retikulum endoplazmatycznym (wzrost stężenia kaspasy-12). W kolejnym etapie przebadano stężenia wybranych czynników pro- i anty apoptotycznych ww. powyżej. U pacjentów wykazano wzrost białek, których wzrost stężenia obserwuje się podczas apoptozy. Badania są kontunuowanie i obejmują wpływ tlenoterapii u tych pacjentów na indukcję stresu oksydacyjnego, co może być przyczyną indukcji apoptozy.

Wyniki badań zostały opublikowane w pracach i prezentowane na konferencjach naukowych A24, A25, A27, P27.

W ramach tej współpracy powstała też kolejna praca o roboczym tytule Multiorgan microbiome and brain axis as a potential therapeutic target in TBI, D. Siwicka-Gieroba, C. Robba, R. Badenes, K. Kotfis, S. Terpilowska, M. Bielacz, W. Dabrowski, która obecnie jest przygotowywana do wysyłki.

Inne obecnie prowadzone badania

W ramach współpracy z prof. dr hab. n. med. Andrzej Jaroszyńskim z Katedry Chorób Wewnętrznych i Medycyny Rodzinnej, Collegium Medicum, Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach wykonałam szereg oznaczeń parametrów w osoczu krwi pacjentów dializowanych. Były to: kaspaza 1, kaspaza 2, kaspaza 3, tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A (TNFRSF1A), tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B (TNFRSF1B), tumor necrosis factor receptor superfamily member 10B (TNFRSF10B), S100 Binding Protein, heat shock protein family B (HSPB1), Myelin basic protein (MBP), Glial fibrillary acidic protein (GFAP), Microtubule-

associated protein tau (MAPt), IL1RL1, IL-6, MDA-modified LDL (ox-LDL/MDA), Antioxidative Capacity (ImAnOx (TAS/TAC)), endothelin 1 (EDN1), Noradrenalina (NE), Asymmetric dimethylarginine (ADMA) oraz miRNA: miRNA-21-5p, miRNA-93-5p, miRNA-122-5p, miRNA-132-3p, miRNA-142-3p, miRNA-195-5p, miRNA-625-5p. Wyniki tych badań są obecnie analizowane i przygotowywane są manuskrypty.

Inne osiągnięcia (zostały opublikowane w A9, A11, RM1, RM2, RM3, RM4, RM5, RM6, RM7, RM8, RM9, RM10, RM11, RM12, RM13, RM14, RM15, RM16, RM17, RM18, RM19, R3, R4, R18, P8, P19, P10, P17, P20, P21, P24, P25, P26, M1, M2).

Poza szeregiem ukierunkowanych badań nad interakcjami pierwiastków przygotowałam szereg opracowań dotyczących metabolizmu różnych pierwiastków, witamin, a także najnowszych osiągnięć medycyny i nowoczesnych substancji w niej stosowanych. Należą tu żywność funkcjonalna, nanozwiazki czy biomateriały.

Efektem mojej działalności są dwa podręczniki dydaktyczne (M1, M2), w których zebrano obszerne informacje dotyczące podstaw biologii komórki czy mikrobiologii, ale także praktyczne aspekty pracy w laboratorium mikrobiologicznym.

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

a) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego

Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim mgr Katarzyny Czarnek, od 2018 roku, na Wydziale Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Obrona pracy doktorskiej 24 wrzesień 2019 r.

b) Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

- prowadzenie zajęć dla studentów kierunku lekarskiego 2021-obecnie

Fizjologia z cytofizjologią (wykład, ćwiczenia, laboratoria), kierunek lekarski

Physiology with cytpphysiology (wykład, ćwiczenia, laboratoria), kierunek lekarski English Division

Pathophysiology (ćwiczenia) kierunek lekarski English Division

Haemostatis and Thrombosis (wykład) kierunek lekarski English Division

Basis in cell biology (wykłąd) kierunek lekarski English Division

Badania in vitro w kosmetologii (wykład, ćwiczenia laboratoria), Kosmetologia

- opiekun studiów kierunku lekarskiego English Division w latach 2023-obecnie

Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II

- opracowanie autorskich programów nauczania dla studentów kierunku Inżynieria środowiska z następujących przedmiotów, 2010- 2020:

Biologia i ekologia (wykład i laboratoria)

Biologia środowiska (wykład i laboratoria)

Mikrobiologia ogólna z elementami technicznej (wykład i laboratoria)

Oceny mikrobiologicznego skażenia wód (wykład i laboratoria)

Toksykologia środowiska (wykład i laboratoria)

Odwodnienia i nawodnienia (wykład i laboratoria)

Procesy przeróbki osadów ściekowych (wykład i laboratoria)

Ochrona środowiska (wykład i laboratoria)

Ochrona własności intelektualnej (wykład i konwersatorium)

- opracowanie autorskich programów nauczania dla studentów kierunku Inżynieria środowiska do wykładów monograficznych, 2010- 2020:

Biotechnologia w inżynierii środowiska

Mikrobiologia, higiena, środowisko- bezpieczeństwo i jakość w praktyce przemysłowej

- prowadzenie Seminarium inżynierskiego i Pracowni inżynierskiej, 2011-2020.

- Prowadzenie wykładów i ćwiczeń z wymienionych niżej przedmiotów dla kierunku Inżynieria środowiska.

Biologia i ekologia (wykład i laboratoria)

Biologia środowiska (wykład i laboratoria)

Mikrobiologia ogólna z elementami technicznej (wykład i laboratoria)

Oceny mikrobiologicznego skażenia wód (wykład i laboratoria)

Toksykologia środowiska (wykład i laboratoria)

Odwodnienia i nawodnienia (wykład i laboratoria)

Procesy przeróbki osadów ściekowych (wykład i laboratoria)

Ochrona środowiska (wykład i laboratoria)

Ochrona własności intelektualnej

Biotechnologia w inżynierii środowiska

Mikrobiologia, higiena, środowisko- bezpieczeństwo i jakość w praktyce przemysłowej

- promotor 48 prac inżynierskich, 2012-2021
- recenzent 23 prac inżynierskich, 2013-2017
- opiekun studiów kierunku Inżynieria Środowiska w latach 2011-2016
- koordynator projektów w ramach VI i VII Lubelskiego Festiwalu Nauki latach 2009, 2010
- koordynator projektów Wydziału Zamiejscowego Nauk o Społeczeństwie w ramach IX Lubelskiego Festiwalu Nauki oraz Dni Nauki i Techniki, 2012
- prezentacje w ramach IX Lubelskiego Festiwalu Nauki i Dni Nauki i Techniki, 2012

Sylwia Terpiłowska, Joanna Dyrda-Muskus, Tomasz Pajor, *Akademia nauki*

Sylwia Terpiłowska, Aleksandra Ptaszek, Robert Stachyra, Monika Szelest, Katarzyna Czarnek *Jak "działa" osad czynny?*

Sylwia Terpiłowska, Mariusz Piasecki, Adam Wszołek, Waldemar Lakan, Tomasz Bednarowicz, Aleksandra Bułaś, *Nowoczesna firma dbająca o środowisko*

Sylwia Terpiłowska, *Bakterie- wrogowie, czy sprzymierzeńcy?*

Katarzyna Czarnek, Monika Szelest, Robert Stachyra, **Sylwia Terpiłowska**, *Czy chcesz samodzielnie zbudować modele komórek?*

Sylwia Terpiłowska, *In vitro i/czy in vivo? – czyli o testowaniu nowych substancji słów parę …*
Monika Szelest, Robert Stachyra, Katarzyna Czarnek, **Sylwia Terpiłowska**, *Jak zobaczyć to, co niewidoczne gołym okiem?*
Robert Stachyra, Katarzyna Czarnek, Monika Szelest, **Sylwia Terpiłowska**, *Mikroskopijni sprzymierzeńcy, czyli jak organizmy niewidoczne gołym okiem oczyszczają nasze ścieki*
- wygłoszenie wykładu otwartego pt., „Co ile i jak…? Czyli dietetyczne ciekawostki, 2012 r., Koło Naukowe BIOAKTYWNI, Wydział Chemii UMSC oraz Uniwersytet III wieku w Stalowej Woli

c) Osiągnięcia organizacyjne

- Członek zespołu ds. aplikacji o fundusze na badania kliniczne, 2023 -obecnie

- Kierownik Pracowni Biologii Środowiska, Instytutu Inżynierii Środowiska, Wydziału Zamiejscowego KUL w Stalowej Woli, 2011-2019. Organizacja pracy w Pracowni, zakup sprzętu, opracowanie i nadzór nad prowadzonymi zajęciami dydaktycznymi oraz pracami badawczymi. Opracowanie podstaw systemu GLP w Pracowni.

- Członek Rady Instytutu Inżynierii Środowiska, 2011 – 2019.

- Przedstawiciel Instytutu Inżynierii Środowiska w Wydziałowej Komisji ds. Jakości Kształcenia, Wydziałowy Koordynator Wewnętrznego Systemu Zapewnienia Jakości Kształcenia, 2011- 2016. Opracowanie *Wydziałowego Systemu Zapewniania Jakości Kształcenia na Wydziale Zamiejscowym Prawa i Nauk o Społeczeństwie Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II w Stalowej Woli*. Opracowanie Wydziałowego Systemu Zapewniania Jakości Kształcenia i nadzór nad jego realizacją.

- Członek Wydziałowej Komisji ds. podziału środków na badania naukowe, kontaktów z KBN oraz Działem Obsługi Badań i Projektów Naukowych KUL

2011-2015. Opracowanie kryteriów podziału środków pochodzących z dotacji statutowej i podział tych środków pomiędzy tematy badawcze.

- Przewodnicząca Komisji programowej do opracowania programu kształcenia dla kierunku Inżynieria środowiska i Inżynieria materiałowa, 2011-2015. Przygotowanie programu kształcenia na ww. kierunkach.

- Realizator na Wydziale Zamiejscowym Nauk o Społeczeństwie w Stalowej Woli zakupów sprzętu i odczynników laboratoryjnych, 2012r. Szkolenia pracowników Wydziału z zakresu Prawa Zamówień Publicznych, sporządzanie planu zamówień publicznych. Przygotowywanie dokumentacji przetargowej zgodnie z wytycznymi KUL i aktami prawa powszechnie obowiązującego.

- Członek Zespołu ds. opracowania strategii rozwoju KUL do 2020 r., 2012. W ramach podzespołu roboczego pt. *Obszar Administracja i Finanse* odpowiedzialna byłam za sporządzenie analizy SWOT, opracowanie celów strategicznych i operacyjnych oraz strategii w tym obszarze. Opracowanie całościowej strategii rozwoju Uniwersytetu.

- Członek Senackiej Komisji Administracyjno-Finansowej, 2012-2016.
Do zadań Komisji, w której pracach brałam czynny udział, należało w szczególności:
1) czuwanie nad gospodarką lokalową KUL;
2) opiniowanie wniosków o przyznanie świadczeń z Zakładowego Funduszu Świadczeń Socjalnych KUL na zasadach określonych w regulaminie Zakładowego Funduszu Świadczeń Socjalnych;
3) opiniowanie wniosków o umorzenie i przedłużenie okresu spłaty pożyczek udzielonych z Zakładowego Funduszu Świadczeń Socjalnych KUL

- Członek Senackiej Komisji ds. Jakości Kształcenia, 2012-2016.
Do zadań Komisji, której pracach brałam czynny udział, należało w szczególności:
1) koordynowanie polityki oraz procedur zapewniania jakości;

2) wprowadzanie i doskonalenie procedur w zakresie europejskich standardów wewnętrznego systemu zapewniania jakości w instytucjach szkolnictwa wyższego;
3) nadzór nad prawidłowym przebiegiem procesu kształcenia;
4) monitoring oraz okresowy przegląd programów oraz ich efektów;
5) monitoring kryteriów i procedur oceniania studentów;
6) weryfikowanie obsady zajęć i obciążeń dydaktycznych nauczycieli akademickich;
7) inicjowanie procedury akredytacji środowiskowej;
8) rekomendowanie nowych form i kierunków kształcenia Senatowi KUL;
9) nadzór nad procesem monitorowania losów zawodowych absolwentów;
10) koordynowanie współpracy z pracodawcami, przedstawicielami rynku pracy oraz innymi podmiotami w celu zapewnienia i rozwoju wdrażanych działań projakościowych.

- Członek Komisji do przeprowadzenia kontroli wewnętrznej w zakresie zarządzania na KUL oraz przestrzegania przepisów wewnętrznych i zewnętrznych przez pracowników Uniwersytetu, 2012-2016
Celem pracy Komisji było przeprowadzenie kontroli w zakresie zarządzania na KUL oraz przestrzegania przepisów wewnętrznych i zewnętrznych przez pracowników Uniwersytetu, w szczególności:
1) identyfikacja problemów i wskazanie środków zaradczych dotyczących wprowadzenia ładu organizacyjnego na KUL,
2) ocena efektywności i skuteczności działań jednostek organizacyjnych KUL,
3) rekomendowanie Rektorowi działań i rozwiązań w zakresie usprawnienia systemu zarządzania Uczelnią.

- Członek Komisji ds. Aktualizacji wniosku o dofinansowanie projektu pn. “Baza dydaktyczna i badawcza niezbędna dla powstania i rozwoju kierunku inżynieria środowiska na Wydziale Zamiejscowym Nauk o Społeczeństwie KUL w Stalowej Woli”, 2014. Celem zespołu była aktualizacja wniosku o dofinansowanie Budowy i wyposażenia budynku Inżynierii środowiska.

- Przewodnicząca zespołu roboczego ds. prac nad udzieleniem odpowiedzi Instytucji Wdrażającej nt. rozmieszczenia sprzętu i wyposażania w budynku Instytutu Inżynierii Środowiska oraz uzgodnienia tego rozmieszczenia z planem rozwoju i dydaktyki Instytutu, 2014r. Opracowanie planów rozwoju naukowego, dydaktycznego, opracowanie planu rozmieszczenia sprzętu w budynku Inżynierii Środowiska.

- Koordynator ds. stypendium Rektora dla najlepszych studentów i najlepszych doktorantów na WZPiNoS, 2015-2016. Opiniowanie wniosków o przyznanie stypendium Rektora dla najlepszych studentów. Ocena osiągnięć naukowych studentów i ustalanie punktacji.

- Członek zespołu roboczego wspierającego zespół ds. obsługi projektu pn. „Baza dydaktyczna i badawcza niezbędna dla powstania i rozwoju kierunku inżynieria środowiska na Wydziale Zamiejscowym Nauk o Społeczeństwie KUL w Stalowej Woli", 2015.

- Członek Komisji przetargowej ds. zakupu wyposażenia Pracowni Biologii Środowiska, 2015. Opracowanie opisów przedmiotu zamówienia, wybór najkorzystniejszej oferty.

- Przewodnicząca Komisji przetargowej w przetargu pt. Dostawa sprzętu laboratoryjnego na potrzeby Pracowni Biologii Środowiska WZPiNoS Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II w Stalowej Woli, 2018. Opracowanie opisów przedmiotu zamówienia, wybór najkorzystniejszej oferty.

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

Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową albo artystyczną

1. Nagroda zespołowa II stopnia Rektora KUL za twórcza działalność w zakresie administracji i szczególne osiągnięcia organizacyjne, 2007
2. Nagroda zespołowa III stopnia Rektora KUL za wyróżniające pełnienie funkcji koordynatora VI Lubelskiego Festiwalu Nauki, 200

3. Nagroda zespołowa I stopnia Rektora KUL za wzorowe pełnienie funkcji koordynatora wydziałowego Lubelskiego Festiwalu Nauki, 2011

4. Nagroda zespołowa III stopnia Rektora KUL za wyróżniający się projekt na VIII Lubelski Festiwal Nauki, 2011

5. Medal brązowy za długoletnią służbę, Prezydent Rzeczpospolitej, nr legitymacji 308-2013-145, 2013

6. Nagroda indywidualna III stopnia Rektora KUL za oryginalne i twórcze osiągnięcia naukowe oraz wybitną działalność organizacyjno-społeczną i popularyzację nauki, 2013

Signature Not Verified
Dokument podpisany przez Sylwia Terpiłowska
Data: 2024.01.25 18:56:51 CET

Podpis elektroniczny/certyfikat został usunięty podczas anonimizacji dokumentu.