

Załącznik 3



UNIwersytet
PRZYRODniczy
WE WROcławiu

Tomasz Gębarowski

Autoreferat

Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wrocław 2024

Spis treści

1. Imię i nazwisko	4
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	4
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	4
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 2022 r. poz. 574 z późn. zm.)	5
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	5
4.2. Wykaz opublikowanych artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe	5
4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników prac stanowiących podstawę wszczęcia postępowania habilitacyjnego	7
4.3.1. Wprowadzenie	7
4.3.2. Cel badawczy.....	10
4.3.3. Uzyskane wyniki	11
H1 Gąsiorowski K, Gębarowski T, Moreira H, Kulma A, Szatkowski M, Szopa J. Impact of fabrics from transgenic flax on cultures of skin cells. Adv Clin Exp Med. 2019 Apr;28(4):431-438. doi: 10.17219/acem/92563.	11
H2. Gębarowski T, Wiatrak B, Janeczek M, Żuk M, Pistor P, Gąsiorowski K. Were our Ancestors Right in Using Flax Dressings? Research on the Properties of Flax Fibre and Its Usefulness in Wound Healing. Oxid Med Cell Longev. 2020 Nov 24;2020:1682317. doi: 10.1155/2020/1682317.....	14
H3. Gębarowski T, Jęskowiak I, Janeczek M, Żuk M, Dobosz A, Wiatrak B. The Technological Process of Obtaining New Linen Dressings Did Not Cause the Loss of Their Wound-Healing Properties. Materials (Basel). 2021 Dec 15;14(24):7736. doi: 10.3390/ma14247736.	18
H4. Gębarowski T, Jęskowiak I, Wiatrak B. Investigation of the Properties of Linen Fibers and Dressings. Int J Mol Sci. 2022 Sep 9;23(18):10480. doi: 10.3390/ijms231810480.....	22
H5. Gębarowski T, Benita Wiatrak B, Jęskowiak-Kossakowska I, Grajzer M and Prescha A. „Oils from Transgenic Flax Lines as Potential Chemopreventive Agents in Colorectal Cancer”. Biomedicines 11: 1–23. https://doi.org/10.3390/biomedicines11092592	26
4.3.4. Podsumowanie.....	32
4.3.5. Literatura	34
5. Informacje o wykazaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej wraz z omówieniem pozostałego dorobku z okresu całej kariery zawodowej	36
5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze realizowane w Katedrze Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu	37
5.1.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora	37
5.1.2. Udział w projektach naukowo-badawczych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora.....	40
■ zestawienie projektów naukowo-badawczych:.....	41
5.1.3. Aktywność naukowa – wykaz publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora	42
■ publikacje bez wskaźnika IF (brak na liście JCR):	42
■ publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR:	43
■ Patenty:	44
5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia naukowego doktora realizowane w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu UCZELNIA NR 1	

■	Współpraca międzynarodowa.....	46
■	Współpraca krajowa	47
■	Współpraca wewnątrzuczelniana.....	48
5.2.2.	Udział w projektach naukowo-badawczych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	49
■	projekty naukowo-badawcze:	50
5.2.3.	Aktywność naukowa – wykaz publikacji	51
■	publikacje bez wskaźnika IF (brak na liście JCR):	51
■	publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR	51
■	patenty:	53
5.3.	Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia naukowego doktora realizowane w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu UCZELNIA NR 2	54
■	Współpraca międzynarodowa.....	54
■	Współpraca krajowa	55
■	Współpraca wewnątrzuczelniana.....	56
5.3.2.	Udział w projektach naukowo-badawczych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora	56
■	projekty naukowo-badawcze:	56
5.3.3.	Aktywność naukowa – wykaz publikacji	56
■	publikacje bez wskaźnika IF (brak na liście JCR):	56
■	publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR	57
5.4.	Staża i szkolenia.....	59
■	Szkolenia odbyte przed uzyskaniem stopnia doktora:	59
■	Szkolenia odbyte po uzyskaniu stopnia doktora:	59
■	Staża/spotkania naukowe:.....	60
5.5.	Członkostwo w Towarzystwach Naukowych	60
5.6.	Udział w konferencjach.....	61
5.7.	Recenzowanie prac oryginalnych i przeglądowych	61
5.8.	Kwalifikacja produktów leczniczych terapii zaawansowanej (CAT – EMA).....	62
5.9.	Udział w kształceniu młodej kadry naukowej.....	63
6.	Informacje o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.....	63
6.1.	Dydaktyka	63
■	Promotor prac magisterskich:	64
■	Opieka nad Studenckim Kołem Naukowym:	64
■	Udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki:	64
■	Udział w Festiwalu Nauki w ramach Światowego Tygodnia Mózgu:.....	65
6.2.	Działalność organizacyjna	65
6.3.	Współpraca z otoczeniem społecznym i gospodarczym	66
■	Warsztaty dla uczniów szkół ponadpodstawowych.....	66
■	Współpraca z otoczeniem gospodarczym.....	66
7.	Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej, niewymienione w pkt 1-6.	69
7.1.	Nagrody i wyróżnienia	69
7.2.	Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego habilitanta	70

1. Imię i nazwisko

Tomasz Gębarowski

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

- 2001 r. – dyplom ukończenie studiów na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej we Wrocławiu, **tytuł lekarz weterynarii**
- 2005 r. – dyplom ukończenia studiów specjalizacyjnych z zakresu Higieny zwierząt rzeźnych i żywności zwierzęcego pochodzenia, **tytuł lekarza specjalisty**
- 2017 r. – dyplom i tytuł doktora nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna, w specjalności biotechnologia medyczna tytuł pracy: **Mechanizmy działania przeciwnowotworowego nowych pochodnych oliwacyny** w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych, Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierunkiem promotora prof. dr. hab. Kazimierza Gąsiorowskiego – praca została wyróżniona

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2000 – 2001	Asystent stażysta w Katedrze Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej we Wrocławiu (<i>roczne stypendium przyznane przez JM Rektora Akademii Rolniczej we Wrocławiu</i>).
2005 – 2007	Samodzielny technik w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu
2007 – 2017	Asystent w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu
2013 - 2021	Adiunkt dydaktyczny jednostki w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu
2017 - 2021	Adiunkt w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
2018 - 2021	Pełnomocnik JM Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu ds. Wdrażania Zaawansowanych Terapii Komórkowych
2021 – obecnie	Adiunkt w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, kierownik Laboratorium Hodowli Komórkowych i Terapii Zaawansowanych

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 2022 r. poz. 574 z późn. zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Proregeneracyjne, przeciwzapalne i chemoprewencyjne działanie surowców uzyskanych z nowych odmian lnu zwyczajnego (*Linum usitatissimum*) poddanych modyfikacjom genetycznym”

4.2. Wykaz opublikowanych artykułów stanowiących osiągnięcie naukowe

Osiągnięciem naukowym, będącym podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, jest cykl 5 powiązanych tematycznie artykułów naukowych [H1-H5] opublikowanych w latach 2019–2023. Sumaryczny *Impact Factor* przedstawionego cyklu publikacji, według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi 22.105, a sumaryczna liczba punktów MEiN (Ministerstwa Edukacji i Nauki) wynosi **550**.

W 4 pracach przedłożonego cyklu jestem pierwszym autorem.

H1. Gąsiorowski K, Gębarowski T, Moreira H, Kulma A, Szatkowski M, Szopa J. Impact of fabrics from transgenic flax on cultures of skin cells. *Adv Clin Exp Med*. 2019 Apr;28(4):431-438. doi: 10.17219/acem/92563. PMID: 30659788.

Impact Factor: 1.514; punkty MEiN: 70

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na ustaleniu metod badawczych, administrowaniu projektem badawczym, wspólnym przeprowadzeniu prac badawczych, zarządzaniu danymi, opracowaniu analizy statystycznej, pisaniu manuskryptu oraz jego edycji, opracowaniu piśmiennictwa.

H2. Gębarowski T, Wiatrak B, Janeczek M, Żuk M, Pistor P, Gąsiorowski K. Were our Ancestors Right in Using Flax Dressings? Research on the Properties of Flax Fibre and Its Usefulness in Wound Healing. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Nov 24;2020:1682317. doi: 10.1155/2020/1682317.

Impact Factor: 6.543; punkty MEiN: 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zdefiniowaniu celu badawczego, ustaleniu metod badawczych, administrowaniu projektem badawczym, wspólnym przeprowadzeniu prac badawczych, zarządzaniu danymi, opracowaniu analizy statystycznej, pisaniu manuskryptu oraz jego edycji, opracowaniu piśmiennictwa.

H3. Gębarowski T, Jęskowiak I, Janeczek M, Żuk M, Dobosz A, Wiatrak B. The Technological Process of Obtaining New Linen Dressings Did Not Cause the Loss of Their Wound-Healing Properties. *Materials (Basel).* 2021 Dec 15;14(24):7736. doi: 10.3390/ma14247736.

Impact Factor: 3.748; punkty MEiN: 140

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zdefiniowaniu celu badawczego, ustaleniu metod badawczych, administrowaniu projektem badawczym, wspólnym przeprowadzeniu prac badawczych, zarządzaniu danymi, opracowaniu analizy statystycznej, pisaniu manuskryptu oraz jego edycji, opracowaniu piśmiennictwa.

H4. Gębarowski T, Jęskowiak I, Wiatrak B. Investigation of the Properties of Linen Fibers and Dressings. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 9;23(18):10480. doi: 10.3390/ijms231810480.

Impact Factor: 5.6; punkty MEiN: 140

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zdefiniowaniu celu badawczego, ustaleniu metod badawczych, administrowaniu projektem badawczym, wspólnym przeprowadzeniu prac badawczych, zarządzaniu danymi, opracowaniu analizy statystycznej, pisaniu manuskryptu oraz jego edycji, opracowaniu piśmiennictwa, a także jako autora korespondencyjnego, na złożeniu manuskryptu do czasopisma i kontakcie z redakcją czasopisma.

H5. Gębarowski T, Benita Wiatrak B, Jęskowiak-Kossakowska I., Grajzer M and Prescha A. „Oils from Transgenic Flax Lines as Potential Chemopreventive Agents in Colorectal Cancer”.2023, *Biomedicines* 11: 1–23. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092592>.

Impact Factor: 4.7; punkty MEiN: 100

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zdefiniowaniu celu badawczego, ustaleniu metod badawczych, administrowaniu projektem badawczym, przeprowadzeniu prac badawczych in vitro, zarządzaniu danymi, opracowaniu analizy statystycznej, pisaniu manuskryptu oraz jego edycji, opracowaniu piśmiennictwa, a także jako autora korespondencyjnego, na złożeniu manuskryptu do czasopisma i kontakcie z redakcją czasopisma.

Do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego dołączono oświadczenie wszystkich żyjących współautorów publikacji, określające indywidualny wkład merytoryczny każdego z nich w ich powstanie.

4.3. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników prac stanowiących podstawę wszczęcia postępowania habilitacyjnego

4.3.1. Wprowadzenie

Len (*Linum usitatissimum*) jest jednym z najstarszych materiałów pochodzenia roślinnego wykorzystywanych przez człowieka. Najstarsze odkryte włókna lniane związane z działalnością przez człowieka pochodzą z górnego paleolitu z jaskini Dzudzuana w Gruzji (Kvavdze 2009). Jego zastosowanie jest również udokumentowane z innych stanowisk archeologicznych (Soffer 2004, Kislev 2011). Archeologiczne dowody uprawy udomowionej formy lnu pochodzą z rolniczych stanowisk neolitycznych datowanych na 7000 lat (McCorrison1997). W czasach starożytnych len uprawiano dla włókien tekstylnych, jak również dla oleju, który był ekstrahowany z nasion (Lucas nad Harris 1962).

Najwcześniejsze informacje o medycznym zastosowaniu opatrunków lnianych pochodzą z Mezopotamii (Adamson 1991). Opatrunki lniane były szeroko wykorzystywane, przy czym stosowano także ich modyfikacje. Wśród wielu opisów zastosowania lnu, szczególnie interesująca jest modyfikacja opatrunku za pomocą miodu. Tekst AMT 16/5 opisuje metodę leczenia zakażonej rany za pomocą lnianych kompresów nasączonych miodem (Scurlock 2014). Interesujący jest opis na tabliczce z pismem klinowym BAM 159 leczenia zapalenia

przyzębia za pomocą lnianej szmatki nasączonej miodem (Scurlock 2014). W starożytnym Egipcie len był wykorzystywany głównie do produkcji ubrań i oleju używanego w lampach, ale znalazł również pewne zastosowanie w medycynie. Mianowicie wykorzystywano len w postaci bandaży, tamponów i siemienia lnianego. Papirus Ebersa wspomina o stosowaniu lnianego opatrunku do leczenia ran nozdrzy. Interesujące jest również zastosowanie lnianych bandaży do podtrzymywania świeżego mięsa przykładanego do rany (Wade 2017). Tym świeżym mięsem była tkanka pozyskiwana z kończyny piersiowej bydła, prawdopodobnie na drodze wiwisekcji. W papirusie Edwina-Smitha opatrunek lniany wkładany jest do jamy nosowej " ...powinieneś zrobić dla niego dwa waciki z lnu, (i) powinieneś oczyścić każdy robak z krwi, który zakrzepł na wewnętrznej stronie jego nozdrza" (Wade 2017). Świadczenia papirusu Ebersa i papirusu Edwin-Smitha dowodzą, że lniane bandaże były używane do leczenia ran i złamań (Brorson 2009). Papirus Ebersa wspomina również o stosowaniu lnianych szwów do zamykania ran (Saber 2011). Podobnie jak w Mezopotamii, używano go również do stabilizacji złamań. W papirusie medycznym Edwina Smitha opisane są różne rodzaje plint z płótnem: (a) orteza z drewna wyściełana płótnem (Edwin Smith, przypadek 7) wkładana do ust, aby ułatwić karmienie pacjenta, (b) szyna z płótna (Edwin Smith, przypadek 35, złamany obojczyk), (c) sztywny, przypominający słupek zwój z płótna (Edwin Smith, przypadki 11 i 12), (d) możliwe, że do szynowania złamań używano kartonażu, podobnego do naszego gipsu paryskiego, również wykonanego z płótna (Saber 2010).

W medycynie greckiej, Hipokrates zalecał stosowanie włókna lnianego do stabilizacji rozchwianych zębów oraz jako opatrunek na różnego rodzaju rany. Rzymski encyklopedysta Aulus Cornelius Celsus w swoim dziele "De re Medicina" zaleca, aby szwy były: "miękkie i nie nadmiernie skręcone, aby były łatwiejsze dla danej części". Prawdopodobnie ma on na myśli szwy lniane (Marin et al. 2019). Bandaże lniane były najczęstszym rodzajem opatrunku stosowanym do wiązania ran. Jednak Korneliusz Celsus zalecał pokrycie rany specjalną mieszanką zawierającą octan miedzi, tlenek ołowiu, alun, suszoną smołę, suszoną żywicę sosnową, olej i ocet (Belfiglio 2015b). Korneliusz Celsus i Klaudiusz Galen zalecali stosowanie plastrów i lnianych bandaży w leczeniu owrzodzeń kończyn (Wittens 1995). W średniowieczu nadal stosowano te same środki, co w starożytności, chociaż chirurdzy nie byli już lekarzami.

Rewolucja w dziedzinie produktów syntetycznych miała miejsce w XX wieku. W latach 50-tych przemysł tekstylny produkował włókna syntetyczne i tkaniny z polimerów, w tym nylonu, polietylenu, polipropylenu, poliestrów, poliwinylu, akrylu i olefin (Ovington 2002). Spowodowało to wyparcie lnu jako materiału opatrunkowego.

Pomimo stosowania różnego typu syntetycznych opatrunków, trudno gojące się rany są nadal wielkim wyzwaniem (Ferreira et al. 2006). Z jednej strony poznanie mechanizmów powodujących zaburzenie procesu gojenia, a z drugiej uzyskanie zdolności do modyfikacji genetycznej roślin, sprawiły, że możliwe było sprecyzowanie wymagań wobec innowacyjnego materiału opatrunkowego. Pod koniec XX wieku podjęto zatem próbę modyfikacji lnu, tak by uzyskać pożądane, unikatowe właściwości i tym samym stał się cennym materiałem opatrunkowym. Podstawą modyfikacji, było stwierdzenie, że w obrębie długo gojących się ran fibroblasty wykazują zmieszoną odporność na stres oksydacyjny (Wall 2008). Wiadomo, że stres oksydacyjny jest jednym z kluczowych czynników w patogenezie ran przewlekłych (Simon et al. 2004). Stres oksydacyjny powoduje uszkodzenia makromolekuł komórkowych, rozregulowuje białka biorące udział w replikacji DNA, zaburza cykl komórkowy i sprzyja apoptozie fibroblastów (Chen et al. 2004, Oshima 2004). Szlak fenylopropanoidowy jest źródłem wielu związków będących pochodnymi fenyloalaniny, takich jak flawonoidy, monomery ligniny, lignany, kwasy fenolowe i ich estry (Winkel-Shirley 2009). Związki te działają jako przeciwutleniacze i helatory kationów dwuwartościowych. Z kolei wysoka zawartość kwasów omega-3 i omega-6 w oleju lnianym ma bardzo korzystny wpływ na gojenie się ran (Ruthin 2009).

Aby uzyskać pożądane lnu cechy rozpoczęto wykonywać jego modyfikacji. Dwutygodniowe eksplantaty liścienia i hipokotyli transformowano przy użyciu szczepu *Agrobacterium tumefaciens* C58C1:pGV2260 niosącego wektor binarny zawierający trzy cDNA z *Petunii hybrida*, kodujące syntazę chalkonową (CHS, nr akcesyjny bazy danych EMBL/GenBank. X04080), izomerazę chalkonu (CHI, nr akcesyjny bazy danych EMBL/GenBank X14589) i reduktazę dihydroflawonolu (DFR, nr akcesyjny bazy danych EMBL/GenBank X15537) w orientacji sensownej pod kontrolą promotora 35S i terminatora OCS. 14,15 Rośliny transgeniczne zostały wstępnie wyselekcjonowane za pomocą PCR przy użyciu starterów specyficznych dla genu oporności na kanamycynę (*npt II*), a następnie wyselekcjonowane za pomocą analizy Northern blot (Lorenc-Kukula 2005). Nowa odmiana zmodyfikowanego lnu Flax Aid cechuje się wzrostem poziomu fenoli we włóknach, wzrostem zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych w nasionach i silny wzrost zawartości lignanów w płatkach nasiennych (Lorenc-Kukula 2005, Kulma 2015). Wykazano, że profil metaboliczny transgenicznego lnu dotyczy zmian w poziomie np. wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, kompleksów lignanowych, karotenoidów, flawonoidów i fenylopropanoidów (Żuk 2011). W zmodyfikowanych włóknach lnu nastąpił wzrost poziomu celulozy do ligniny poprzez wyciszenie genu białka CAD, enzymu, który katalizuje biosyntezę monomerów ligniny (Czemplik 2017). Badania przeprowadzone na liniach komórkowych a

obejmujące ocenę proliferacji i żywotności komórek, liczby komórek apoptotycznych, cyklu komórkowego, genotoksyczności, poziomu wolnych rodników tlenowych oraz określenie liczby komórek wykazały, że len modyfikowany posiada lepsze właściwości niż len tradycyjny (Gębarowski 2020). Przeprowadzono także badania kliniczne na 30 pacjentach z przewlekłymi nie gojącymi się owrzodzeniami żylnymi zlokalizowanymi na nogach. Średni czas występowania owrzodzeń wynosił między 7 a 9 lat. U tych chorych zastosowano opatrunki z modyfikowanego genetycznie lnu i okłady z oleju lnianego. U pacjentów zaobserwowano zmniejszenie się wrzodów (u 80%), zmniejszenie wysięku (u 66%), zmniejszenie odczuwania bólu (u 96%), pojawienie się ziarniny (u 93%) a u 23% pacjentów stwierdzono wyleczenie (Skórkowska-Telichowska 2010). Wyniki te należy uznać za bardzo dobre. Opisano także przypadek 66-cio letniej kobiety z niegojąca się przez 2,5 roku raną. Wdrożone leczenie przy zastosowaniu opatrunków lnianych zwilżonych emulsją olejową uzyskana z nasion lnu. Uzyskano wyleczenie po okresie 12 tygodni (Skórkowska-Telichowska 2012).

Len jest więc rośliną, której zastosowanie w medycynie ma wielowiekową tradycję i w obecnej chwili, dzięki osiągnięciom inżynierii genetycznej ma szansę stanowić poważną alternatywę dla innych materiałów.

4.3.2. Cel badawczy

Głównym celem podjętych badań, opisanych w pracach składających się na osiągnięcie habilitacyjne, **była szczegółowa analiza surowców lnianych otrzymanych z roślin transgenicznych**, skupiająca się na ich ekologicznym profilu, właściwościach bioaktywnych, i potencjale w leczeniu trudno gojących się ran.

Znaczący nacisk położono na możliwość wykorzystania lnu do stymulowania procesów regeneracyjnych skóry, co ma bezpośrednie przełożenie na aplikacje medyczne, zwłaszcza w kontekście ran przewlekłych, które stanowią wyzwanie dla współczesnej medycyny. Badanie miało na celu nie tylko identyfikację związków bioaktywnych w tkaninach lnianych mogących przyczynić się do przyspieszenia gojenia, ale także zrozumienie mechanizmów ich działania na poziomie komórkowym. Przez integrację wiedzy z zakresu biotechnologii, medycyny regeneracyjnej i nauk o materiałach, projekt dążył do opracowania innowacyjnych rozwiązań, które mogą zmienić podejście do leczenia ran, oferując alternatywę dla tradycyjnych metod.

Prace oryginalne obejmowały następujące szczegółowe cele badawcze:

- Celem pierwszej pracy było porównanie wpływu tkanin lnianych pochodzących z roślin transgenicznych z nadekspresją kwasów fenolowych i flawonoidów (W92) oraz polihydroksymaślanu (M48) oraz tkanin z rośliny nietransgenicznej (Nike) na hodowle ludzkich komórek skóry, a przez to ocenę przydatności w gojeniu się ran.
- W następnej pracy badano efekt włókna z tradycyjnej odmiany lnu oraz włókien z dwóch transgenicznych roślin na hodowle komórkowe, powszechnie stosowane jako modele *in vitro* gojenia się ran. Do badań wykorzystano włókno z odmian M50, B14 oraz MB.
- Celem kolejnych badań była ocena, czy proces technologiczny otrzymywania tkanin lnianych z roślin transgenicznych nie spowodował utraty właściwości leczniczych włókien lnianych.
- W kolejnej pracy zastosowano linię modelową V79. W trakcie badań było porównano właściwości tradycyjnych włókien lnianych i opatrunków oraz tych z roślin transgenicznych. Szczególną uwagę zwrócono na badania związane ze stresem oksydacyjnym.
- Celem ostatniej pracy było zbadania właściwości chemoprewencyjnych oleju lnianego otrzymywanego nasion z wcześniej badanych roślin transgenicznych.

4.3.3. Uzyskane wyniki

H1 Gąsiorowski K, Gębarowski T, Moreira H, Kulma A, Szatkowski M, Szopa J. Impact of fabrics from transgenic flax on cultures of skin cells. Adv Clin Exp Med. 2019 Apr;28(4):431-438. doi: 10.17219/acem/92563.

W badaniach wykorzystano 2 rodzaje tkaniny w roślin modyfikowanych genetycznie (M48 i W92) oraz dla porównania tkaninę z roślin lnu włóknistego typu Nike. Badane tkaniny lniane uwalniały do środowiska wodnego wykrywalne ilości związków fenolowych, co wykazała analiza HPLC. Pomimo różnic w zawartości i uwalnianiu poszczególnych zidentyfikowanych związków fenolowych, całkowita ilość związków fenolowych uwolnionych do roztworów wodnych po 48 h inkubacji badanych tkanin lnianych w roztworze PBS była ponad dwukrotnie wyższa w przypadku tkaniny W92 w porównaniu do lnu Nike. W przypadku tkaniny M48, podczas 48-godzinnej inkubacji, do roztworu wodnego uwolniono o 30% mniej związków fenolowych niż z tkaniny Nike,

choć całkowita aktywność antyoksydacyjna tego ekstraktu była porównywalna do ekstraktu z tkaniny typu Nike. Dodatkowo tkanina M48 uwalniała polihydroksymaślan, który w kontakcie z płynami ustrojowymi ulega degradacji do D,L- β -hydroksymaślanu. Podobne wyniki uzyskano w przypadku tkanin lnianych inkubowanych przez 48 godz. w pożywce hodowlanej.

Inkubacja keratynocytów i fibroblastów w obecności badanych fragmentów tkanin lnianych prowadziła do wyraźnego wzrostu proliferacji komórek, mierzonego testem SRB. Z kolei komórki monocytoidalne (THP1) hodowane w obecności wodnego ekstraktu z tkanin wykazywały istotny spadek wzrostu. Wpływ fragmentów tkanin lnianych na keratynocyty i fibroblasty oraz wodnego ekstraktu z tkanin (THP1) na wzrost komórek skóry porównano do względnych hodowli kontrolnych.

W badaniach stwierdzono umiarkowany wzrost liczby komórek hodowli ludzkich keratynocytów po 48-godzinnej inkubacji z badanymi tkaninami lnianymi. Efekt ten był zależny do powierzchni kawałków tkanin obecnych w hodowlach keratynocytów. Wzrost komórek był o 24% wyższy w przypadku W92 niż w hodowli kontrolnej (bez tkaniny lnianej) i o 20% wyższy w przypadku tkaniny lnianej M48.

Stwierdzono również wpływ tkanin lnianych na proliferację fibroblastów izolowanych ze skóry. Efekt ten był najsilniejszy w obecności 0,5 cm² lnu w porównaniu do hodowli kontrolnych (bez tkaniny lnianej) zarówno w przypadku M48 (wzrost o 52%), jak i W92 (wzrost o 49%). Wyniki uzyskane przy większej (1 cm²) i mniejszej (0,25 cm²) powierzchni fragmentów tkaniny lnianej nie były tak wyraźne, choć statystycznie istotne. Wpływ tkaniny lnianej nietransgeniczej Nike na proliferację fibroblastów był wprost proporcjonalny do powierzchni tkaniny obecnych w hodowli komórkowej, a w obecności kawałków 1 cm² tkaniny proliferacja komórek była nawet o 46% wyższa niż w hodowli kontrolnej.

W przypadku wykonania badań na linii komórek rosnących w zawiesinie nie było możliwości sprawdzenia bezpośredniego działania tkaniny na komórki. W badaniach sprawdzono wpływ ekstraktów z tkanin lnianych na proliferację ludzkiej monocytoidalnej linii komórkowej (THP1). Badane tkaniny lniane wyraźnie zmniejszały proliferację linii THP1; spadek o 42% (M48), o 40% (Nike) i o 28% (W92) oszacowano dla ekstraktu izolowanego z 1 cm² - powierzchni tkaniny, w porównaniu do hodowli kontrolnej.

Wewnątrzkomórkową zawartość ROS w komórkach THP1 hodowanych przez 48 godz. z ekstraktami z badanych tkanin lnianych (komórki spoczynkowe/nieaktywowane) oraz w komórkach THP1 stymulowanych estrami forbolu (PMA, 200 nM przez 2 godz.) oceniano za pomocą standardowego testu utleniania DCFH-DA. Wyniki porównano z wynikami uzyskanymi we względnych kulturach kontrolnych (bez ekstraktów z tkanin lnu). W spoczynkowych komórkach

THP1, nieaktywowanych, wodne ekstrakty z 3 rodzajów tkanin lnianych zwiększały produkcję ROS w komórkach THP1. Wzrost ten był największy przy dawce ekstraktu wytworzonego z 1,0 cm² z tkaniny lnianej, o ponad 50% w przypadku Nike, o 45% dla tkaniny W92 i o 32% dla tkaniny M48 w porównaniu z poziomem ROS w hodowli kontrolnej.

W komórkach THP1 aktywowanych za pomocą PMA, niższe dawki wodnych ekstraktów z badanych tkanin lnianych (0,25 cm² ekstrahowanej tkaniny) powodowały niewielki wzrost (o około 10% w przypadku ekstraktów Nike i W92) wewnątrzkomórkowych ROS, natomiast wyższe dawki ekstraktów (1,0 cm² ekstrahowanej tkaniny) prowadziły do wyraźnego spadku zawartości ROS w komórkach THP1 o około 10% (Nike) i o prawie 25% (W92 i M48). Dla badanych tkanin oceniano również średnią prędkość migracji HDMEC (μm/h) w obecności wodnych ekstraktów z fragmentów 1,0 cm² tkanin lnianych oraz w kontrolnej hodowli komórek (bez badanych ekstraktów). Ekstrakty z tkanin lnianych różniły się istotnie wpływem na migrację komórek śródbłonna. Prędkość migracji komórek zwiększała się o 33% w obecności ekstraktu z tkaniny M48 i o 20% z ekstraktem z tkaniny W92, natomiast ekstrakt z nietransgenicznego tkaniny Nike powodował zmniejszenie o 50% prędkości migracji komórek w porównaniu z hodowlą kontrolną (bez badanych ekstraktów).

Dla porównania aktywności poszczególnych tkanin wykonano analizę multykryterialną (indeks MCA). Ogólny korzystny wpływ na hodowle komórek skóry (indeks MCA) był wyższy o około 47% w przypadku tkaniny W92 i o 34% w przypadku M48 niż w przypadku nietransgenicznego tkaniny lnianej Nike. Analiza wykazała, że tkanina lniana W92 wykazywała najkorzystniejszy ogólny efekt na hodowle komórek skóry, co może mieć znaczenie we wspomaganiu procesu gojenia się ran.

Podsumowanie wyników H1: Korzystny materiał opatrunkowy powinien uwalniać do wilgotnego środowiska rany związki aktywne, które mogłyby sprzyjać gojeniu się uszkodzeń skóry. Badane tkaniny lniane uwalniały wykrywalne ilości polifenoli i polihydroksymaślanu do roztworów wodnych i do podłoża hodowli komórkowej, różniły się także zdolnością uwalniania - związki z tkaniny W92 były najłatwiej uwalniane. Przyczyna tego stanu rzeczy nie jest jeszcze znana, ale wcześniejsze eksperymenty sugerowały, że polimery celulozy we włóknie W92 były mniej ciasno związane niż w tkaninie M48, co może wpływać na efektywność ekstrakcji. Prawdopodobnie bardziej gęsta struktura włókien tkaniny M48 powoduje wolniejsze uwalnianie związków fenolowych z tej tkaniny do roztworu wodnego w procedurze 48-godzinnej inkubacji. Chociaż nadmiar wolnych rodników jest szkodliwy i najwyraźniej powinny one być ograniczone, aby zapobiec uszkodzeniu i śmierci komórek, normalny, fizjologiczny poziom wolnych rodników jest niezbędnym składnikiem wielu wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów, odgrywając tym samym istotną rolę w komórkowej odpowiedzi na stres i w naprawie tkanek. Na

przykład wolne rodniki są istotnymi regulatorami funkcji komórek śródbłonna podczas tworzenia nowych naczyń w procesie gojenia się ran i najwyraźniej mają kluczowe znaczenie dla obrony gospodarza przed infekcjami bakteryjnymi. W leczeniu przewlekłych ran potrzebny jest precyzyjnie dostrojony modulator ROS, zdolny do zmniejszenia nadmiaru wolnych rodników bez wpływu na podstawową pulę ROS potrzebną do normalnych procesów fizjologicznych i sygnalizacji wewnątrzkomórkowej oraz niezbędną do odporności na infekcje bakteryjne. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że tkaniny lniane M48 i W92 są obiecującymi modulatorami poziomu wolnych rodników, zdolnymi do modalnego zwiększenia podstawowej puli ROS oraz do zmniejszenia nadmiaru wolnych rodników w komórkach aktywowanych do generacji ROS. Wyniki badań *in vitro* wykazały, że badane tkaniny lniane pochodzące z roślin transgenicznych, jak również wyodrębnione z nich ekstrakty poprawiają aktywność komórek, co może mieć znaczenie w procesie gojenia się ran. Porównanie wyników uzyskanych w 6 testach z zastosowaniem MCA wskazuje, że potencjalnie korzystny wpływ na gojenie się ran skóry mógł być wyraźnie silniejszy w przypadku tkanin z lnu transgenicznego - o 47% (W92) i o 34% (M48) w porównaniu do nietransgenicznej tkaniny lnianej (Nike). Tkaniny lniane W92 i M48 wydają się być obiecującym materiałem do opracowania nowego typu opatrunków, zdolnych do poprawy gojenia się ran skóry.

H2. Gębarowski T, Wiatrak B, Janeczek M, Żuk M, Pistor P, Gašiorowski K. Were our Ancestors Right in Using Flax Dressings? Research on the Properties of Flax Fibre and Its Usefulness in Wound Healing. Oxid Med Cell Longev. 2020 Nov 24;2020:1682317. doi: 10.1155/2020/1682317.

W następnych pracach (H2-H5) analizowano aktywność biologiczną surowców uzyskanych z roślin typu Nike, M50, B14, oraz surowca otrzymanego z obu typów roślin. Zmiana rodzaju badanych tkanin była związana w uzyskaniem nowych roślin transgenicznych i realizacją nowego projektu badawczego.

Analizowane w publikacji włókna lniane nie różniły się istotnie pod względem zawartości podstawowych polimerów ściany komórkowej (celuloza, pektyny, lignina, hemiceluloza). Badane włókna różniła zawartość substancji potencjalnie bioaktywnych, takich jak związki fenolowe, polihydroksymaślan i poliaminy.

Wszystkie testy aktywności biologicznej wykonywano z wykorzystaniem ekstraktu z włókna lnu. W badaniach wykorzystano ekstrakty z włókna uzyskane z włókna o masie od 5 do 40 mg na 1 ml pożywki hodowlanej. Ze względu na specyfikę włókna nie było możliwości wykonywania badań w ko-hodowli.

Testy aktywności biologicznej rozpoczęto od oceny żywotności komórek. Do badań wybrano linię komórkową fibroblastów mysich (Balb/3T3). Linia ta jest zalecaną do oceny cytotoksyczności wyrobów medycznych. Wszystkie badane włókna nie powodowały wzrostu liczby komórek nekrotycznych w porównaniu z hodowlami kontrolnymi (inkubowanymi tylko w pełnej pożywce). Największą liczbę komórek nekrotycznych zaobserwowano w przypadku oceny 20 mg lnu nie modyfikowanego genetycznie (Nike), o około 4% więcej niż w hodowli kontrolnej. W pozostałych badanych przypadkach liczba komórek nekrotycznych nie przekraczała 1% w porównaniu z kontrolą.

Wpływ włókna lnianego na wzrost fibroblastów. Następnym badanym parametrem była ocena wpływu wzrostu komórek poprzez pomiar ilości białka w teście SRB. Włókno lniane wpływało na ilość całkowitego białka komórkowego w hodowlach fibroblastów mysich (Balb/3T3), jak również ludzkich fibroblastów skóry (NHDF) po czasie inkubacji 48h. W komórkach Balb/3T3 nie stwierdzono znaczącego obniżenia poziomu białka, niezależnie od zastosowanego włókna, co świadczy może również o braku cytotoksyczności. Przy masie 20-40 mg zaobserwowano wzrost całkowitego białka komórkowego dla wszystkich badanych typów włókna w porównaniu z kontrolą. Wzrost ten stwierdzono we wszystkich badanych dawkach dla włókien nie modyfikowanych (Nike) dla obu linii fibroblastów, oraz B14 w hodowli ludzkich fibroblastów skórnych. W zakresie stężeń 10-40 mg wzrost całkowitego białka komórek Balb/3T3 był istotny po inkubacji hodowli z włóknem M50 i B14. W tym samym zakresie stężeń zaobserwowano całkowity wzrost białka komórek NHDF po inkubacji z włóknem uzyskanym z roślin typu M50.

Połączenie obu typów włókien (M50+B14) spowodowało wzrost całkowitej ilości białka komórkowego w obu liniach fibroblastów. Wzrost ten był statystycznie istotny tylko w dawkach 10 i 30 mg dla hodowli fibroblastów mysich.

Pierwszą fazą gojenia się rany poprzedzającą fazę proliferacyjną jest faza zapalenia. Gojenie się ran składa się z trzech nakładających się na siebie faz gojenia: zapalenia, proliferacji i remodelingu. W fazie zapalenia następuje wzrost liczby cytokin i komórek odpornościowych, które umożliwiają oczyszczenie rany. Proces ten powinien się zakończyć regeneracją uszkodzonej skóry. Linią modelową w ocenie stanu zapalnego jest linia komórek monocytarnych THP-1. Dlatego też oceniono efekt badanych włókien na całkowitą ilość białka komórek THP-1 po 48 godzinach inkubacji. Nike hamowało całkowitą wzrost komórek w całym zakresie badanych stężeń (również 10-40 mg statystycznie istotne). Wzrost proliferacji stwierdzono dla włókien M50, oraz kombinacja M50 i B14 w dawce 10 mg.

Przy dawce 20 mg (M50) i 20-30 mg (M50+B14), obserwowano zmniejszenie ilości białka komórkowego w porównaniu z kontrolą. Co ciekawe, przy stężeniach 30-40 mg dla włókna M50 i

40 mg dla M50+B14, obserwowano zmniejszenie ilości białka komórkowego w porównaniu z hodowlami komórkowymi przed dodaniem włókna co wskazuje na efekt cytotoksyczny tych włókien w wysokich dawkach, co ma znaczenie w późniejszych etapach gojenia się ran. 48-godzinna inkubacja hodowli komórek monocytarnych THP-1 z włóknem B14 powodowała wzrost ilości białka całkowitego w zakresie stężeń 5-30 mg. Jednak w najwyższym badanym stężeniu włókno to wykazywało hamujący efekt wzrost w porównaniu z kontrolą.

W gojeniu się ran, w fazie proliferacji, najważniejszy jest wzrost liczby keratynocytów. Dlatego też oceniono wpływ włókna na wzrost tego typu komórek również poprzez pomiar ilości białka w teście SRB. Dla wszystkich badanych włókien w całym badanym zakresie stężeń obserwowano statystycznie istotny wzrost całkowitej ilości białka w porównaniu z kontrolą. Dla wszystkich badanych prób zaobserwowano zależność od stężenia, gdzie największy wzrost ilości białka wykazano przy najniższych stężeniach (5mg). Największy wzrost obserwowano w hodowlach inkubowanych z kombinacją obu zmodyfikowanych włókien (M50+B14).

Następnym ważnym etapem fazy proliferacyjnej w gojeniu się ran jest tworzenie bogato unaczynionej ziarniny. W badaniach tych przeprowadzono ocenę ilości białka komórkowego w hodowli ludzkich komórek śródbłonna naczyniowego skóry HMVEC-D. Największy wzrost białka komórkowego zaobserwowano przy dawce 20mg we wszystkich badanych próbach. Tradycyjny len (Nike) powodował wzrost całkowitej ilości białka komórkowego w całym badanym zakresie stężeń a włókno M50 w dawkach (5 i 10mg). Natomiast w wyższych stężeniach (20 i 40 mg) obserwowano spadek całkowitej ilości białka w linii HMVEC w porównaniu z kontrolą. Po zastosowaniu włókna B14 stwierdzono wzrost całkowitej ilości białka w dawkach 10 mg i 20 mg, natomiast w pozostałych zastosowanych dawkach wykazano podobną ilość białka komórkowego jak w hodowli kontrolnej. Co ciekawe, największy wzrost białka komórkowego zaobserwowano po połączeniu obu zmodyfikowanych rodzajów lnu M50+B14.

Nowotwory naskórka są jednymi z najczęstszych nowotworów skóry. Stanowią około 65-75% wszystkich nowotworów skóry (około 25% wszystkich nowotworów). Oczekuje się, że badany materiał opatrunkowy nie zwiększy podziałów komórkowych nowotworu. Dlatego też sprawdzono wpływ badanych materiałów na wzrost komórek raka naskórka (A431). W badaniach stwierdzono zahamowanie całkowitej ilości białka komórkowego w porównaniu do hodowli kontrolnych we wszystkich badanych włóknach i w całym zakresie badanych dawek. Najsilniejszy efekt obserwowano po 48 godz. inkubacji hodowli w obecności włókna Nike.

Całkowita liczba komórek. Wzrost całkowitej ilości białka komórkowego może wskazywać na wzrost masy komórkowej lub wzmożone podziały komórkowe (proliferację). Ze względu na oczekiwanie zwiększonej proliferacji fibroblastów skóry podczas intensywnego gojenia się ran,

oceniano liczbę komórek NHDF i Balb/3T3 po inkubacji przez 48 godzin w obecności badanych włókien. Po 48-godzinnej inkubacji komórek Balb/3T3 z Nike w zakresie stężeń 5-20 mg, stwierdzono podobną liczbę komórek obserwowano jak w kontroli. Wraz ze wzrostem masy badanego włókna obserwowano spadek liczby komórek. W przypadku włókna M50, B14 oraz kombinacjach tych dwóch rodzajów włókien, zaobserwowano wzrost liczby komórek Balb/3T3 w porównaniu z kontrolą (z wyjątkiem dawki 5mg - M50). Natomiast liczba ludzkich komórek fibroblastów skórnych była wyższa w porównaniu z kontrolą przy wszystkich dawkach i wszystkich badanych włóknach.

Ocena poziomu wewnątrzkomórkowego wolnych rodników. Wraz ze wzrostem liczby komórek, w wyniku procesów metabolicznych zachodzących przez zwiększoną liczbę komórek, wzrasta ilość wolnych rodników tlenowych. Dlatego oceniano poziom wolnych rodników w hodowli komórek NHDF inkubowanymi z badanymi włóknami przez 48 godzin. Wszystkie badane dawki wszystkich testowanych włókien powodowały wzrost poziomu ROS do 20% w porównaniu z kontrolą (z wyjątkiem kombinacji włókien M50 i B14, gdzie wzrost był znaczący tylko przy dawce 40 mg).

Jednocześnie przeprowadzono badanie mające na celu ocenę efektu na poziom ROS w komórkach, które wcześniej poddano egzogennemu stresowi oksydacyjnemu poprzez dodanie 100 μ M H₂O₂. Wszystkie badane włókna obniżały poziom wolnych rodników w porównaniu z kontrolą, do której podawano 100 μ M H₂O₂.

Apoptoza. Aby ocenić liczbę komórek w apoptozie i nekrozie, wykonano barwienie aneksyną V sprzężoną z FITC i jodkiem propidyny. Po 48-godzinnej inkubacji komórek linii NHDF z badanymi włóknami odsetek komórek w stanie nekrozy nie przekraczał więcej niż 5%. Suma komórek w fazie apoptozy i apoptoza była najwyższa w najwyższych badanych dawkach i nie przekraczała ponad 22%. Najmniejszą liczbę komórek w fazie apoptozy obserwowano w hodowlach inkubowanych z włóknem roślin M50. Suma komórek nekrotycznych i apoptotycznych nie przekraczała 10%.

Cykl komórkowy. Przeprowadzono analizę cyklu komórkowego, aby sprawdzić, czy inkubacja hodowli z badanymi fibrami spowodowała wzrost liczby komórek w fazie proliferacji (faza S). Po 48-godzinnej inkubacji komórek NHDF z badanymi włóknami stwierdzono wzrost liczby komórek w fazie S.

Ocena genotoksyczności. Wpływ na uszkodzenia DNA w komórkach NHDF badanych włókien lnianych oceniano w teście kometowym. Ilość DNA w głowie komety po inkubacji komórek NHDF z badanymi fibrami porównano z ilością DNA w hodowli kontrolnej. Nie wykazano efektu genotoksycznego. W związku z tym sprawdzono wpływ badanych włókna na naprawę uszkodzeń

genotoksycznych wywołanych stresem oksydacyjnym. Stres oksydacyjny indukowano poprzez inkubację hodowli komórkowych z H₂O₂. Ilość DNA w głowie komety po inkubacji hodowli komórkowych z badanymi włóknami była wyższa niż w hodowli kontrolnej inkubowanej z H₂O₂

Najsilniejszy efekt reparacji zaobserwowano po inkubacji hodowli komórkowych w obecności połączonych włókien M50 i B14 w dawce 30 mg.

Podsumowanie wyników H2:

Ograniczeniem przeprowadzonych badań był brak oceny poziomu cytokin prozapalnych ważnych w procesie gojenia się ran. Pomimo tego badanie w warunkach *in vitro* wykazało, że zmodyfikowane włókno lniane posiada jeszcze lepsze właściwości niż tradycyjny len. Badanie wykazało wyraźnie korzystne efekty. Wykazano, że poziom nekrozy był wyższy dla nie modyfikowanej odmiany lnu niż zmodyfikowanej genetycznie. Wyższy poziom stężenia białka całkowitego komórek (fibroblastów, keratynocytów i komórek śródbłonka mikrokrążenia skórniego) zaobserwowano dla wszystkich badanych typach włókien w porównaniu z kontrolą. M50 i B14 wykazały wysoki poziom reparacji w badaniach oceny genotoksyczności; najniższy poziom komórek apoptotycznych zaobserwowano w hodowlach poddanych działaniu M50. Przeprowadzone badania wykazały, że badane, zmodyfikowane odmiany lnu mają pozytywny efekt na modelu hodowli komórkowych. Otrzymane wyniki wydają się być obiecujące do dalszych badań *in vivo*.

H3. Gębarowski T, Jęskowiak I, Janeczek M, Żuk M, Dobosz A, Wiatrak B. The Technological Process of Obtaining New Linen Dressings Did Not Cause the Loss of Their Wound-Healing Properties. Materials (Basel). 2021 Dec 15;14(24):7736. doi: 10.3390/ma14247736.

W tej części badań sprawdzano interakcje materiał - komórka. W przypadku linii adherentnych badane tkaniny były inkubowane bezpośrednio z komórkami.

Zawartość polimerów w tkaninie

Analizowane tkaniny nie wykazywały istotnych różnic w odniesieniu do poszczególnych głównych polimerów. Różnice w wartościach bezwzględnych wynikały z różnych gęstości analizowanych tkanin.

Analiza biochemiczna tkanin

W celu zidentyfikowania potencjalnych różnic w zawartości związków bioaktywnych pomiędzy opisanymi wcześniej włóknami a tkaniną, przeprowadzono dokładną analizę składu biochemicznego tkaniny, ze szczególnym uwzględnieniem związków wykazujących działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne lub proliferacyjne.

W procesie przygotowania tkaniny do celów biomedycznych zrezygnowano z chemicznej obróbki przędzy (bielenie, ługowanie itp.). Jednak nawet przy "delikatnym procesie" nie da się uniknąć pewnych strat poprzez wypłukiwanie niestabilnie związanych związków fenolowych - dotyczy to głównie kwasów fenolowych (kwas ferulowy, kwas kumarowy i inne małowymiarowe związki fenolowe), w przypadku których tracimy około 10-15% pierwotnego stężenia. Dlatego zasadne wydaje się przeprowadzenie analiz na tak uzyskanej tkaninie w celu weryfikacji jej właściwości biomedycznych. Obróbka włókien w celu uzyskania tkaniny wpływa również na ich hydrofilowość, co może nie być bez znaczenia dla efektów ich działania w środowisku zapalnym/ranach/ w kontakcie z płynami ustrojowymi.

Trzy grupy związków zostały uznane za przydatne do celów medycznych. Pierwszą grupę stanowią fenylopropanoidy i izoprenoidy (a także związki antyoksydacyjne i przeciwzapalne) o podstawowej funkcji zmiataczy wolnych rodników. Analizowano również wielonienasycone kwasy tłuszczowe jako metabolity o udowodnionym działaniu regenerującym błony komórkowe. Trzecią grupą związków promujących proliferację komórek są związki hydrofobowe, takie jak kannabidiol, sterole oraz 3-hydroksymaślan, który jest aktywatorem genów krytycznych dla modyfikacji białek histonowych i niehistonowych.

Wszystkie analizowane tkaniny charakteryzują się obecnością kwasów fenolowych (kwasu ferulowego, kumarowego czy 4-hydroksybenzoesowego) - najniższą ich zawartość wykazuje tkanina oparta o rośliny typu B14. Ważnym związkiem o potencjalnym działaniu przeciwbakteryjnym i proliferacyjnym jest wanilina - jej najniższe ilości (o 17-35% niższe niż w pozostałych analizowanych tkaninach) stwierdzono w tkaninie B14. Następną badaną grupą związków były flawonoidy (m.in. luteolina). Związki te mogą odgrywać istotną rolę w profilaktyce chorób skóry ze względu na swoje działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne. Tkanina M50 ma zdecydowanie największą zawartość flawonów, a nieco mniej tych związków zidentyfikowano w tkaninach Nike i MB.

Związki hydrofobowe występujące w tkaninach lnianych, a w szczególności kannabidiol (obecny we wszystkich analizowanych tkaninach w ilości od 0,017 do 0,029 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), mają właściwości przeciwzapalne. Właściwości antyoksydacyjne tkanin badano za pomocą dwóch testów DPPH i FRAP (oba wykonywane na ekstraktach tkanin). Wzrost takich właściwości w tkaninach pochodzących z roślin modyfikowanych, obserwowany w teście DPPH, najprawdopodobniej wynika z obecności antyoksydantów fenolowych. Różnice w zmierzonej aktywności antyoksydacyjnej nie są jednak istotne statystycznie.

Następnie w badaniach określano zawartość kwasów tłuszczowych w tkaninie.

Zaobserwowano jedynie niewielkie, nieistotne statystycznie różnice w procentowej zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych. Stwierdzono natomiast różnice w bezwzględnej zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych.

Właściwości mechaniczne tkanin i gęstość

Zagadnieniem, które może mieć potencjalne znaczenie w przypadku wykorzystania tkaniny do celów leczniczych, jest sposób jej tkanina. Wpływa on nie tylko na właściwości biologiczne, takie jak biodostępność związków bioaktywnych, co wiąże się z określonym efektem terapeutycznym, ale także na właściwości mechaniczne badanej tkaniny.

Na wstępnym etapie planowania eksperymentu przygotowano szereg różnych kombinacji, a następnie przeanalizowano parametry mechaniczne uzyskanych tkanin. Największą sztywnością charakteryzowała się tkanina wykonana z włókna typu B14.

Analizie poddano również parametry fizyczne i mechaniczne uzyskanych tkanin. Właściwości te są wypadkową cech użytego włókna, procesu pozyskiwania przędzy i wytwarzania (tkania) tkaniny. Ważnym parametrem właściwości tkanin (zwłaszcza do zastosowań biomedycznych) jest gęstość tkaniny; dla badanych tkanin oscylowała ona w granicach od 0,0238 g/cm² dla tkaniny wykonanej z włókien B14 do 0,0384 g/cm² i 0,0314 g/cm² dla tkaniny Nike i M50 (odpowiednio). Zgodnie z przewidywaniami gęstość tkaniny MB była wypadkową gęstości tkanin M i B i wynosiła 0,0289 g/cm².

Wytrzymałość tkaniny ma również znaczenie dla użyteczności medycznej (bandaże, kompresy, opatrunki). Sztywność charakteryzuje odporność danego materiału na odkształcenia sprężyste. Dla opisywanych tkanin wyznaczono dwa takie parametry - sztywność przy zginaniu i sztywność przy rozciąganiu. Tkanina B (28 Gpa) okazała się najbardziej rozciągliwa i najmniej rozciągliwa spośród przędz M50 i MB-34,9 Gpa. Odporność na zginanie (sztywność) była nieco inna: najbardziej elastyczna była tkanina MB (0,482 Gpa), a najmniej Nike (0,787 Gpa).

Żywotność komórek

Działanie cytotoksyczne badanych tkanin lnianych przeprowadzono z wykorzystaniem rekomendowanej przez NIH linii komórkowej Balb/3T3 oraz linii monocytów (THP-1), oceniając liczbę komórek nekrotycznych po wybarwieniu jodkiem propidium. Nie stwierdzono wzrostu liczby komórek nekrotycznych po poddaniu hodowli komórkowych działaniu badanych tkanin lnianych w porównaniu do hodowli kontrolnych; ich liczba waha się w granicach 4-6%. Niższą liczbę komórek nekrotycznych zaobserwowano w przypadku tkaniny typu MB (2 cm²). W pozostałych badanych przypadkach liczba komórek nekrotycznych nie przekraczała 2%.

Wzrost komórek

Inkubacja hodowli Balb/3T3 z genetycznie modyfikowaną tkaniną lnianą oraz ich kombinacją

spowodowała wzrost białka całkowitego komórek w hodowlach fibroblastów mysich (Balb/3T3) po inkubacji (48 h) w całym zakresie powierzchni tkaniny B14 (z wyjątkiem największej powierzchni 2,0 cm) oraz w zakresie 0,5-1,0 cm² kombinacji tkanin genetycznie modyfikowanych M50 z B14. W hodowli komórek Balb/3T3 zaobserwowano zmniejszenie ilości białka całkowitego po inkubacji z powierzchniami 1,0-2,0 cm² tkaniny Nike i 2,0 cm tkaniny M50. Znaczące obniżenie poziomu białka stwierdzono w komórkach HMVEC, tylko w przypadku największej badanej powierzchni 2,0 cm² tkaniny Nike. Dla powierzchni 0,5-1,5 cm² obserwowano wzrost całkowitego białka komórkowego dla wszystkich włókien lnianych w porównaniu z kontrolą (z wyjątkiem 1,5 cm² tkaniny Nike). Dodatkowo 2,0 cm² tkaniny M50 i jej połączenie z B14 spowodowały statystycznie istotny wzrost ilości białka całkowitego komórek HMVEC. W przypadku powierzchni 0,5-1,0 cm² wzrost ilości białka całkowitego komórek NHEK był istotny po inkubacji hodowli z włóknami M50 i B14 oraz tylko 0,5 cm² tkaniny Nike. Na pozostałych badanych powierzchniach i tkaninach nie zaobserwowano zmniejszenia całkowitej ilości białka poniżej kontroli. Liczba monocytów była zmniejszona we wszystkich badanych tkaninach na największych badanych powierzchniach (1,5-2,0 cm²) materiału.

Na mniejszych powierzchniach nastąpił wzrost ilości białka całkowitego monocytów po zastosowaniu tkanin Nike, M50 oraz kombinacji M50 z B14. Tkanina B14 zmniejsza ilość białka całkowitego w całym zakresie badanych powierzchni. Badane tkaniny spowodowały statystycznie również istotne zmniejszenie zahamowanie wzrostu komórek raku naskórka (A431) (z wyjątkiem 0,5 cm² tkaniny typu Nike).

Apoptoza

Po 48 h inkubacji komórek THP-1 z tkaninami lnianymi wzrost komórek apoptotycznych w całym zakresie badanych powierzchni tkanin B14 oraz kombinacji tkanin M50 i B14. Wzrost ten był zależny od powierzchni badanej tkaniny. Najmniejszą liczbę komórek w fazie apoptozy zaobserwowano w hodowlach inkubowanych z włóknem M50 dla powierzchni 0,5 cm. Podobnie jak w przypadku tkaniny tradycyjnej Nike - tylko dla badanej powierzchni 1,5-2,0 cm² powodowały statystycznie istotny wzrost komórek w fazie apoptozy. Nekroza nie był statystycznie istotna.

Cykl komórkowy

Inkubacja hodowli z badanymi tkaninami lnianymi zwiększyła liczbę komórek w fazie proliferacyjnej (faza S). Największy wzrost zaobserwowano po zastosowaniu tkaniny B14.

Podsumowanie wyników H3: Włókna lnu modyfikowanego M50, B14 i MB mają jeszcze lepsze właściwości niż len tradycyjny. Modyfikowane odmiany lnu mają korzystny wpływ na hodowle komórkowe [H2], dlatego wykonano ocenę otrzymanych tkanin. Wykonane badania, wykazały że proces technologiczny był prawidłowy i nie zmienił właściwości włókien lnianych. Inkubacje

badanych tkanin lnianych z komórkami nie powodowały zwiększenia liczby komórek nekrotycznych w porównaniu z hodowlami kontrolnymi. Ponadto badane tkaniny spowodowały statystycznie istotne obniżenie zawartości białka całkowitego w hodowlach raka naskórka. Inkubacja hodowli z badanymi tkaninami lnianymi spowodowała wzrost komórek w fazie proliferacyjnej dla wszystkich tkanin, ale największy wzrost zaobserwowano w przypadku tkaniny B14. Uzyskany wynik świadczy o zachowaniu właściwości gojących rany przez otrzymane w wyniku procesu technologicznego tkaniny.

H4. Gębarowski T, Jęskowiak I, Wiatrak B. Investigation of the Properties of Linen Fibers and Dressings. Int J Mol Sci. 2022 Sep 9;23(18):10480. doi: 10.3390/ijms231810480.

Głównym celem badań było potwierdzenie, że dobry surowiec, jakim jest włókno lniane, nie traci swoich właściwości w procesie obróbki przemysłowej.

Trudno jest wykorzystać włókno bezpośrednio w leczeniu ran, dlatego ważne było sprawdzenie właściwości otrzymanej tkaniny. Lepsze właściwości charakteryzują opatrunki lniane wykonane z modyfikowanych odmian lnu w porównaniu do tradycyjnej tkaniny lnianej. Badania przeprowadzono na modelu linii fibroblastów płucnych chomika chińskiego (linia V79). Linia ta stanowi dobry model do oceny stresu oksydacyjnego w komórkach ze względu na posiadane układy cytochromów. W badaniach porównano włókno i tkaninę lnianą.

Żywotność komórek

W badaniu porównano żywotność komórek hodowli V79 po 24-h inkubacji w temperaturze 37°C czterech rodzajów włókien lnianych oraz tkanin NIKE, M, B i MB. Zwiększoną żywotność komórek zaobserwowano po inkubacji z tkaninami lnianymi w porównaniu z włóknami lnianymi. Najwyższe wartości żywotności hodowanych komórek V79 obserwowano po inkubacji z tkaniną lnianą, w zależności od jej badanego rozmiaru. Najwyższą żywotność komórek V79 dla tkaniny 0,5 cm zaobserwowano dla tkaniny M (95,96% żywych komórek 2,89), a nieco niższą dla tkaniny B (95,04% żywych komórek 0,86), 1 cm dla tkaniny B (94,76% żywych komórek 1,07), 1,5 cm dla tkaniny NIKE (94,60% żywych komórek 1,17), nieco mniejszą dla tkaniny B (94,20% żywych komórek 1,09) i 2 cm dla tkaniny B (93,66% żywych komórek 1,42). Na podstawie tych wyników można stwierdzić, że tkanina z odmiany lnu typu B miała najlepszy wpływ na żywotność komórek.

Analizując żywotność komórek dla włókien lnianych uzyskano niejednoznaczne wyniki. Najwyższą przeżywalność komórek V79 stwierdzono dla próbki 10 mg włókna M (94,08% żywych

komórek) i dla próbki 20 mg włókna B (92,00% żywych komórek). Natomiast dla próbek powyżej 30 mg najwyższą przeżywalność komórek uzyskano dla włókna NIKE (30 mg-90,96% żywych komórek i 40 mg - 89,09% żywych komórek).

Proliferacja komórek

Wpływ na proliferację komórek V79 był silniejszy dla włókien lnianych w porównaniu z tkaninami. Wszystkie tkaniny i włókna lniane z odmian lnu modyfikowanego M, B i MB zwiększały proliferację komórek w porównaniu do tkaniny i włókna lnianego nie modyfikowanego (NIKE). W przypadku tkanin lnianych największy wpływ na proliferację komórkową stwierdzono dla lnu typu B (wzrost o 0,5 cm-4,66% komórek, 1,5 cm-13,54% i 2 cm- 9,29%). Dla powierzchni 1 cm największą proliferację komórek stwierdzono dla tkaniny lnianej MB (wzrost o 15,06%). W przypadku włókien lnianych najwyższe wartości proliferacji wykazano dla lnu typu MB dla stężeń 10 mg (wzrost o 14,27) i 20 mg (25,06). Natomiast dla stężenia 30 mg najwyższa proliferacja pojawiła się dla włókna typu B (wzrost o 23,54%) i 40 mg (19,29%). Przy masie włókna 40 mg proliferacja komórek V79 znacząco spadła dla wszystkich włókien. Największe wartości proliferacji komórek uzyskano dla włókna i tkaniny MB.

Ocena wewnątrzkomórkowego poziomu wolnych rodników

Ilość wolnych rodników wzrasta wraz ze wzrostem proliferacji komórek w wyniku wzrostu procesów metabolicznych. Najwyższe wartości poziomu wolnych rodników po inkubacji z komórkami V79 stwierdzono dla tkanin. Największe wartości wolnych rodników stwierdzono dla tkanin lnianych o powierzchni 0,5 cm². Jednocześnie tkanina wykonana z niemodyfikowanego lnu NIKE powodowała najwyższy wzrost ilości wolnych rodników. Wśród modyfikowanych tkanin lnianych najwyższe wartości reaktywnych form tlenu (ROS) wystąpiły dla tkaniny lnianej M. W przypadku włókien najwyższy poziom wolnych rodników wykazano również dla włókien typu NIKE a próbki 10 mg, a dla włókien modyfikowanych - dla M. Największe zmiany metaboliczne wystąpiły w przypadku włókien i tkanin typu NIKE oraz w mniejszym stopniu w przypadku włókien i tkanin typu M.

Wszystkie badane włókna i tkaniny lniane obniżały poziom wolnych rodników w porównaniu z kontrolą, którą poddano działaniu 100 μM H₂O₂.

Ocena genotoksyczności

W teście kometowym dla włókien i tkanin lnianych widoczny był wzrost długości ogona. Charakterystyczny kształt ogona komety wskazuje na następujący proces apoptotyczny. W przypadku włókien i tkanin nie obserwuje się zmniejszenia ilości DNA w głowie komety. Ogony pojawiają się dopiero wtedy, gdy na komórkę działa czynnik powodujący degradację materiału genetycznego. Wzrost długości ogona spowodowany jest niewielką ilością uszkodzonych komórek,

co prowadzi do apoptozy. Największy wzrost długości ogona w teście kometowym dotyczył włókien lnianych w porównaniu z tkaninami lnianymi. Najdłuższy ogon był dla włókna B dla próbek 20 i 30 mg, a dla opatrunków dla tkaniny z włókna B (0,5-1,5 cm), gdzie komórki rozpadają się w wyniku apoptozy. Dla włókien i tkanin lnu typu MB długość ogona była zbliżona do kontroli.

Ocena działania genoprotekcyjnego

Hodowla poddana działaniu 100 μM H_2O_2 ilustruje zachowanie się opatrunku lnianego w środowisku rany, gdzie uszkodzenia DNA nasilają się pod wpływem działania wolnych rodników. Najlepsze właściwości wykazywała tkanina lniana M, dzięki której ilość uszkodzonego DNA uległa znacznemu zmniejszeniu. Porównując wpływ lnu i włókien lnianych na potencjalne środowisko rany, okazuje się, że tkaniny lniane mają w tej analizie zdecydowaną przewagę nad włóknami lnianymi. Spośród włókien najlepsze właściwości w tym teście wykazały włókna M i B.

Wpływ na proces apoptozy.

Do oceny liczby komórek apoptotycznych i nekrotycznych wykonano barwienie izotiocyjanianem fluoresceiny (FITC) z aneksyną i jodkiem propidu. W wyniku badania stwierdzono wzrost apoptozy w przypadku wszystkich włókien lnianych i tkanin. Rozkład nekrozy i apoptozy był podobny dla włókien lnianych i materiałów opatrunkowych. Mimo to tkaniny lniane osiągały wyższe wskaźniki apoptozy. Najmniej komórek w fazie apoptotycznej obserwowano w hodowlach z tradycyjną tkaniną lnianą, a najwięcej z tkaniną lnianą B.

Cykl komórkowy

Przeprowadzono analizę cyklu komórkowego, aby sprawdzić, czy inkubacja komórek V79 z badanymi włóknami i tkaninami zwiększyła liczbę komórek w fazie proliferacji (faza S) po 48-h inkubacji. Dla wszystkich włókien i tkanin z transgenicznymi odmianami lnu stwierdzono większą liczbę komórek w fazie S w porównaniu do włókien i tkanin z tradycyjnego lnu NIKE oraz wzrost liczby komórek w fazie G /1 . Dla włókien i tkanin z odmianami transgenicznymi obserwowano podobną liczbę komórek w fazie S, natomiast liczba komórek dla faz G /G01 i G2+M była różna. W przypadku włókien transgenicznymi odmianami lnu największa liczba komórek w fazie G/G1 występowała dla włókna M, a najmniejsza dla włókna MB. Z kolei największa liczba komórek w fazie G2+M występowała dla włókna MB. Natomiast w przypadku tkanin z lnu transgenicznego było odwrotnie. Najwięcej komórek w fazie G/G1 występuje dla tkaniny z lnu MB, a najmniej dla tkanin z lnu M i B. Najmniejsza liczba komórek w fazie G2 +M występuje dla tkaniny lnianej MB, a najwięcej dla tkaniny lnianej B. Faza G1 w komórce, jeszcze przed fazą S cyklu, w której może dojść do powielania nieprawidłowej informacji genetycznej, występuje wtedy, gdy pojawiają się różne mutacje i uszkodzenia DNA. Zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2, uniemożliwia powstanie uszkodzonych komórek w następującej po niej fazie M. Uzyskane wyniki wskazują na korzystny

wpływ procesu technologicznego na otrzymane tkaniny lniane. Zatrzymanie cyklu komórkowego sprzyja indukcji apoptozy, szczególnie w komórkach uszkodzonych.

Wpływ prędkość migracji komórek *in vitro*.

Ocena wpływu na migracje komórek jest kolejnym ważnym badaniem oceniającym potencjał badanych materiałów w gojeniu się ran. Wszystkie badane tkaniny z transgenicznych odmian lnu powodowały szybszą migrację komórek niż tkanina lniana NIKE. Tkanina lniana M wykazywała najsilniejszy wpływ na migrację komórek. Podobny rozkład wyników uzyskano dla włókien lnianych. Najszybszą migrację komórek stwierdzono po inkubacji z włóknem typu M, a nieco słabszą dla włókna MB.

Wpływ włókien lnianych i opatrunków lnianych na gojenie się ran

w modelu komórkowym V79

Wpływ opatrunku z włókna i lnu na gojenie się ran określono w modelu komórkowym V79, oceniając wzrost konfluencji obszaru hodowli. Badanie przeprowadzono przez 20 godz. dla włókna lnianego w stężeniu 20 mg/ml oraz odpowiadającej mu powierzchni 1 cm² opatrunku lnianego w porównaniu z kontrolą. Najbardziej fizjologiczny przebieg procesu gojenia się ran ma postać wykresu logarytmicznego. W modelu komórek V79 dla tkanin lnianych taki przebieg procesu występuje dla tkanin lnianych B i M. Natomiast dla pozostałych tkanin proces gojenia charakteryzuje się stałym wzrostem bez fazy plateau. Proces gojenia przebiega najkorzystniej dla tkaniny M, gdyż występuje faza plateau, ale z większym procentem zagojonej rany niż w przypadku tkaniny B. Dodatkowo faza plateau dla włókna M występuje przy wyższych procentach zagojenia rany. Wyniki uzyskane w modelu przedstawiają, że najkorzystniejsze właściwości dla gojenia się ran mają włókno lniane M i tkanina B.

Podsumowanie wyników H4:

Na podstawie przeprowadzonych badań w publikacji H4 stwierdzono, że najkorzystniejsze właściwości mają opatrunki wykonane z tkanin pochodzących z modyfikowanego lnu MB. Opatrunki lniane zbudowane są ze splecionych włókien, dlatego pomagają w oczyszczaniu ran i owrzodzeń oraz stymulują wzrost naczyń krwionośnych. Dzięki zawartym w plastrach nienasyconym kwasom tłuszczowym młoda tkanka zostaje wzmocniona i zabezpieczona przed wysychaniem. Rana jest chroniona przed podrażnieniami mechanicznymi i ewentualnym zakażeniem. W fazie epitelizacji opatrunki lniane ułatwiają wzrost nabłonka poprzez utrzymanie odpowiedniego poziomu wilgotności, dzięki czemu chronią tkankę przed uszkodzeniem. Opatrunki lniane są nadal przedmiotem procesów badawczych i rozwojowych. Badane włókna lniane charakteryzują się większą zdolnością do eliminacji uszkodzonych komórek w potencjalnych ranach. Jednak w trakcie obróbki technologicznej opatrunki lniane uzyskują większe właściwości

regeneracyjne dla uszkodzonych komórek.

Uzyskane wyniki wskazują na dwukierunkowe działanie polegające z jednej strony na nasileniu procesu regeneracji i ochrony tkanek, a z drugiej na usuwaniu uszkodzonych komórek poprzez apoptozę.

H5. Gębarowski T, Benita Wiatrak B, Jęskowiak-Kossakowska I., Grajzer M and Prescha A. „Oils from Transgenic Flax Lines as Potential Chemopreventive Agents in Colorectal Cancer”. 2023, *Biomedicines* 11: 1–23. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092592>.

Jednym z produktów otrzymywanych w wyniku uprawy roślin transgenicznych jest również surowiec w postaci oleju lnianego. Celem ostatniej pracy [H5] było zbadanie właściwości otrzymanych olejów ze szczególnym uwzględnieniem ich właściwości chemoprewencyjnych i przeciwzapalnych. Właściwości te mogą być wykorzystane w preparatach o działaniu miejscowym, będąc dodatkiem do opatrunków, jak również mogą być podawane jako uzupełnienie diety ludzi i zwierząt. Zbadanie właściwości oleju produkowanego przez rośliny transgeniczne, było niezbędne w związku ze stwierdzanymi w komórkach inkubowanych z tkaniną lub włóknem lniany mikropęcherzykami oleju.

Właściwości chemiczne oleju

Kwasy tłuszczowe

Oleje z linii Nike i jej linii transgenicznej M zawierały około 44% ALA (C18:3 n-3) i ponad 19% C18:2 n-6. Olej z linii B miał najniższą, nieprzekraczającą 42%, ilość ALA spośród badanych olejów. Nie zaobserwowano różnic w zawartości pozostałych kwasów tłuszczowych oznaczonych w olejach z nasion odmiany Nike i jej linii transgenicznych.

Skład i zawartość fitosteroli

Całkowita zawartość fitosteroli w analizowanych olejach lnianych wynosiła średnio od 681,7 do 652,0 mg na 100 g oleju. Największą ilość steroli ogółem, przekraczającą 680 mg/100 g, stwierdzono w oleju Nike. Zaobserwowano, że oleje z linii M i B zawierały istotnie mniej ($p < 0,001$) fitosteroli niż kontrola Nike. Głównym związkem sterolowym olejów lnianych był β -sitosterol. Stanowił on średnio 44,5% frakcji fitosteroli. Olej M (296,6 mg/100 g) i jego kontrola Nike (291,9 mg/100 g), zawierała najwięcej tego związku. W linii B zawartość tego związku była istotnie niższa niż w kontroli i w oleju M. Najwyższe ilości stigmasterolu oznaczono w oleju uzyskanym z lnu B i Nike (42,4 mg, 40,2 mg, odpowiednio) i były znacznie wyższe niż te

stwierdzone w linii olejowej M. We wszystkich olejach zawartość tokoferoli i plastochromanolu-8 była zbliżona. Najbogatszym źródłem tokoferoli był olej z odmiany Nike i linii M, zawierający ok. 352 mg/kg, a w linii B suma tokoferoli istotnie różniła się od tej w oleju z odmiany Nike (tab. 2). γ -Tokoferol stanowił średnio 94%, natomiast formy α i δ stanowiły ok. 3,5 i 3,3% całkowitej zawartości tokoferoli w liniach olejowych B i M. Oprócz tokoferoli w olejach lnianych stwierdzono obecność plastochromanolu-8, kolejnego przeciwutleniacza należącego do grupy tokochromanoli. Najniższą zawartość tego związku stwierdzono w oleju M (80,5 mg/kg), natomiast najwyższą w oleju Nike 107,71 mg/kg. Badane oleje różniły się zawartością zarówno karotenoidów ogółem, jak i poszczególnych karotenoidów. Najwyższe stężenie oznaczono w niemodyfikowanej odmianie Nike (25,0 mg/kg). Suma luteiny i zeaksantyny stanowiła największy udział w całkowitej zawartości karotenoidów w badanych olejach (do około 90%), co miało największy wpływ na różnice w zawartości karotenoidów w tych olejach. Oleje z linii Nike i jej transgenicznej linii B charakteryzowały się najwyższym stężeniem β -karotenu (odpowiednio 4,5 i 4,1 mg/kg). Zawartość tego związku w oleju transgenicznej linii M wynosiła 2,05 mg/kg. β -kryptoksantyna we frakcji niezmydlającej się badanych olejów lnianych stwierdzono w niewielkich ilościach (ok. 0,2 mg/kg).

W badanych olejach zidentyfikowano kwasy fenolowe: wanilinowy, p-kumarowy, o-kumarowy i ferulowy, a także aldehydofenole: wanilinę, aldehyd syringowy i aldehyd koniferylowy. Znaleziono również sekoizolarycyrezynol z grupy lignanów. Najwyższe stężenia związków fenolowych w tych olejach oznaczono w oleju z linii transgenicznej M, na poziomie 309 mg/kg, który był istotnie wyższy od ustalonego zarówno dla olejów Nike, jak i B. W oleju M dominowały kwas wanilinowy i wanilina, a ich stężenia były istotnie wyższe niż w pozostałych badanych olejach lnianych. W oleju Nike związkami fenolowymi występującymi w największych ilościach były wanilina i kwas ferulowy.

Badania in vitro

Ocena witalności

Wpływ badanych olejów na witalność linii nowotworowych oceniono w teście redukcji MTT. Badania przeprowadzono na prawidłowych komórkach nabłonka okrężnicy (CCD 841 CoTr), komórkach gruczolakoraka okrężnicy (LoVo), oraz wariacie opornym na doxorubicynę (LoVo/Dx) oraz raka płuc (A549). W badaniach wykorzystano ludzką linię komórek raka piersi z receptorami estrogeny, progesteronu i glikokortykoidów (MCF7) oraz linię ostrej białaczki limfoblastycznej (CCRF/CEM). Linia posiada mutację genu p53. Aktywność wobec wymienionych linii komórkowych czterech olejów lnianych, (NIKE oraz odmian transgenicznych M, B i MB) badano

w porównaniu z lekiem referencyjnym doksorubicyną. Efekty biologiczne wskazują, że badane oleje wykazują właściwości chemoprewencyjne. Najsilniejsze właściwości obniżające vitalność komórek nowotworowych wykazał olej B dla wszystkich linii komórkowych w porównaniu z lekiem referencyjnym i innymi olejami. Najsilniejsze właściwości antyproliferacyjne wszystkich badanych olejów stwierdzono wobec linii ostrej białaczki limfoblastycznej (CCRF/CEM), linii komórkowej ludzkiego raka piersi z receptorami estrogenowymi, progesteronowymi i glukokortykoidowymi (MCF7) oraz komórek ludzkiego gruczolakoraka okrężnicy (LoVo). Wartości IC50 zostały oszacowane na podstawie regresji nieliniowej wykorzystującej zależność efektów biologicznych od stężeń.

Dla uzyskanych wyników IC50 obliczono współczynniki korelacji w odniesieniu do zawartości polifenoli w oleju lnianym. Spadek wartości IC50 koreluje ze wzrostem zawartości polifenoli. W przypadku linii LoVo uzyskano znaczące ujemne korelacje dla większości porównywalnych polifenoli. Podobny efekt zaobserwowano dla linii MCF7. W przypadku linii LoVoDx najwyższy współczynnik korelacji dotyczył kwasu ferulowego. Współczynnik korelacji nie został określony dla linii A549 ze względu na brak aktywności dla części olei.

Akumulacja Rodaminy 123

Aktywność P-glikoproteiny badano za pomocą testu akumulacji Rh-123. Akumulację Rh-123 zaobserwowano dla wszystkich badanych olejów, niezależnie od zastosowanego stężenia, w całym zakresie stężeń; jednakże najwyższą akumulację rodaminy zaobserwowano po inkubacji z olejami komórek raka jelita grubego LoVo w porównaniu do linii LoVo/Dx. Najwyższą akumulację rodaminy uzyskano dla linii komórkowej LoVo inkubowanej z emulsją zawierającą 0,5 mg na 1 ml oleju M, a w przypadku linii LoVo/Dx najwyższą akumulację Rh-123 uzyskano dla 0,1 i 0,25 mg na 1 ml oleju M. Inkubacja z 0,1 i 0,25 mg na 1 ml oleju B spowodowała wyższą akumulację Rh-123 dla linii komórkowej LoVo w porównaniu z innymi olejami. Odwrotne wyniki uzyskano dla linii raka okrężnicy LoVo/Dx odpornej na doksorubicynę inkubowanej z olejem B, gdzie wyższa akumulacja rodaminy niż w innych olejach wystąpiła w emulsji olejowej 1,0 i 2,5 mg.

Wykrywanie apoptozy

Apoptoza jest procesem zaprogramowanej śmierci komórki i jednocześnie jej indukcja jest kluczowa dla substancji o działaniu przeciwnowotworowym. Z kolei nekroza prowadzi do niekontrolowanej śmierci komórek wraz z reakcją zapalną w otaczających tkankach, co jest uważane za efekt uboczny działania leków przeciwnowotworowych. Wzrost częstości apoptozy o 50% po 24 godzinach inkubacji został określony dla czterech testowanych olejów, tj. NIKE, M, B i MB, wobec linii raka okrężnicy LoVo i LoVo/Dx. Wzrost częstości apoptozy w porównaniu z nekrozą wystąpił w

najwyższym odsetku wszystkich olejów wobec komórek linii raka okrężnicy LoVo/Dx. W przypadku linii raka jelita grubego LoVo odsetek apoptozy i nekrozy okazał się porównywalny dla każdego z testowanych stężeń oleju. Najwyższy odsetek apoptozy wystąpił w przypadku olejów z linii transgenicznych M i B w stosunku do linii raka okrężnicy LoVo. W przypadku linii raka okrężnicy odpornej na doksorubicynę, LoVo/Dx, najwyższy odsetek apoptozy zaobserwowano w oleju M. Uzyskane wyniki potwierdziły proapoptotyczne działanie wszystkich badanych olejków w hodowlach komórek raka jelita grubego LoVo i LoVo/Dx opornych na doksorubicynę. Po 24 godzinach inkubacji największy efekt proapoptotyczny wykazywały dwa olejki z linii M i B, zarówno w przypadku linii raka okrężnicy LoVo, jak i LoVo/Dx.

Pomiar ilości stężenia białka p53

Białko p53, które jest markerem apoptozy, jest zaangażowane zarówno w zewnętrzne (tj. receptorowe), jak i wewnętrzne (tj. mitochondrialne) szlaki apoptozy i zostało wybrane do badania w komórkach raka jelita grubego po inkubacji z badanymi olejami. Stężenia p53 analizowano w precyzyjnych pomiarach ilościowych przy użyciu zestawu do immunoenzymatycznego testu (ELISA) dla wszystkich czterech olejów lnianych w całym wybranym zakresie stężeń dla linii raka jelita grubego LoVo i LoVo/Dx. We wszystkich olejach w badaniach wystąpił proporcjonalny wzrost stężenia białka p53 wraz ze wzrostem konwencjonalnych jednostek na mg białka w każdej testowanej linii nowotworowej. Wyższe ilości białka p53 stwierdzono podczas testowania olejów z komórkami linii raka okrężnicy LoVo. Zarówno w przypadku linii raka jelita grubego LoVo, jak i LoVo/DX, najwyższe wartości białka p53 stwierdzono w oleju M. Ten olej lniany w największym stopniu indukował zaprogramowaną śmierć komórek nowotworowych.

Cykl komórkowy

Przeprowadzono analizę cyklu komórkowego, aby sprawdzić wpływ na liczbę komórek w fazie proliferacyjnej (faza S) po 24 godzinach inkubacji. W przypadku wszystkich olejów z linii transgenicznych stwierdzono mniejszą liczbę komórek w fazie S w porównaniu do oleju z roślin typu NIKE. Oleje z linii transgenicznych powodowały wzrost liczby komórek w fazie G0/G1 w porównaniu do tradycyjnej linii NIKE. Największą liczbę komórek w fazie G0/G1 stwierdzono w oleju B. Uzyskane wyniki wskazują na korzystny wpływ olejów na linie raka jelita grubego, ponieważ mogą one indukować proces apoptozy poprzez zatrzymanie cyklu komórkowego, zwłaszcza w fazach G0 i G1, co zapobiega powstawaniu dwóch wadliwych komórek potomnych w kolejnej fazie, M.

Migracja komórek

Ocena wpływu na migrację komórek została przeprowadzona w celu sprawdzenia wpływu olejów lnianych na hamowanie powstawania przerzutów nowotworowych. Migracja komórek została

przetestowana dla wszystkich olejów zarówno dla linii raka jelita grubego LoVo, jak i LoVo/Dx. Posiane komórki nowotworowe LoVo i LoVo/Dx inkubowano, aż utworzyły monowarstwę na całej powierzchni studzienki. Następnie przeprowadzono test zarysowania, wykonując zadrapanie w monowarstwie i mierząc jego szerokość. Do hodowli komórek LoVo i LoVo/Dx dodano stężenie 0,25 mg/ml badanych olejków. Płytki hodowlane inkubowano przez 20 godz.. Następnie ponownie zmierzono szerokość pęknięcia przy użyciu otwartej platformy ImageJ. Zahamowanie migracji komórek LoVo i LoVo/Dx wystąpiło w przypadku wszystkich testowanych olejów, ale większe zahamowanie migracji komórek zaobserwowano w przypadku linii LoVo. Najmniejszy wzrost komórek w hodowli LoVo wystąpił dla olejów z linii M i B, a dla LoVo/Dx, z oleju M. Wpływ oleju lnianego na inwazyjność komórek nowotworowych linii LoVo i LoVo/DX określono poprzez porównanie hiperplazji powierzchniowej w ocenie inwazyjności komórek nowotworowych. W przypadku linii nowotworowej LoVo najniższą inwazyjność komórek nowotworowych uzyskano dla olejów B i M. W przypadku linii LoVo/Dx najniższą inwazyjność stwierdzono dla oleju M.

Efekt proliferacji białka Ki67

Ki67 jest białkiem jądrowym związanym z proliferacją komórek. Białko Ki67 jest obecne we wszystkich aktywnych fazach cyklu wzrostu. Ki-67 ulega ekspresji w komórkach proliferujących. Na podstawie obecności Ki67 w komórce można oszacować odsetek krążących komórek nowotworowych w aktywnej fazie wzrostu cyklu komórkowego. Wyższe ilości są związane ze zwiększonym ryzykiem progresji lub nawrotu. Obecność białka Ki67 w komórkach nowotworowych jest cennym narzędziem do monitorowania skuteczności leczenia i ryzyka progresji choroby nowotworowej. Analiza cytometrii przepływowej wykazała, że badane oleje nie zwiększały ekspresji Ki67.

Test hamowania aktywności cyklooksyzgenaz (COX) *in vitro*.

Kolorymetryczny test przesiewowy inhibitora COX firmy Cayman został wykorzystany do oceny zdolności hamowania COX-1 i COX-2 przez badane oleje. Wyniki przedstawiono jako wartości IC50, tj. stężenie, przy którym nastąpiło 50% zahamowanie aktywności enzymu zarówno dla COX-1, jak i COX-2. Lekami referencyjnymi były ketoprofen, ibuprofen i meloksykam. Istotność statystyczną hamowania COX-1 i COX-2 obliczono za pomocą testu post hoc w porównaniu z lekami referencyjnymi (** $p < 0,01$). Trzy leki wybrane do badania pochodziły z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych i hamowały COX-1 i COX-2, ale w różnym stopniu, ponieważ ketoprofen i ibuprofen hamuje COX-1 i COX-2 w podobnym stopniu (w wartościach w eksperymencie widoczna jest silniejsza inhibicja COX-1) oraz meloksykam, który jest preferencyjnym inhibitorem COX-2. Badane oleje wykazywały istotnie mniejszą inhibicję COX-1 i COX-2 niż leki referencyjne. W przypadku wszystkich badanych olejów uzyskano silniejsze

hamowanie COX-1 w porównaniu z hamowaniem COX-2. Silniejsze właściwości hamujące COX-1 i COX-2 uzyskano w przypadku olejów z linii transgenicznych w porównaniu z olejem NIKE. Najsilniejsze właściwości hamujące COX-1 i COX-2 wykazał olej M, a niższe właściwości hamujące COX, ale na podobnym poziomie, wykazały oleje B i MB.

Podsumowanie wyników H5:

Dane uzyskane z badań zdecydowanie sugerują, że olej pochodzący z roślin typu M ma potencjał chemoprewencyjny. Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że włączenie do diety oleju lnianego może stanowić mechanizm ochronny przed inicjacją szlaków karcynogenezy w komórkach okrężnicy. Jednym z głównych mechanizmów wydaje się indukcja procesów apoptotycznych. W przypadku zaawansowanych stadiów nowotworowych, olej lniany wykazuje zdolności supresyjne - demonstrując chemoprewencję na późnym etapie - poprzez również indukcję apoptozy i wpływ na migrację komórek. Efekty te mogą być związane z większą zawartością polifenoli.

Wykonane badania z wykorzystaniem oleju lnianego mogą wyjaśniać również stwierdzane efekty biologiczne dla badanych opatrunków lnianych.

4.3.4. Podsumowanie cyklu habilitacyjnego

Trudno gojące się rany stanowią znaczące wyzwanie w medycynie i weterynarii, wpływając negatywnie na jakość życia pacjentów oraz zwiększając ryzyko infekcji i długotrwałych komplikacji. Współczesne badania koncentrują się na poszukiwaniu skutecznych metod leczenia, które mogłyby przyspieszyć proces gojenia oraz zminimalizować ryzyko nawrotów. Innowacyjne podejścia, takie jak zastosowanie bioaktywnych materiałów, terapia genowa, czy zaawansowane technologie opatrunkowe, otwierają nowe możliwości w leczeniu ran przewlekłych, oferując obiecujące perspektywy zarówno dla pacjentów ludzkich, jak i zwierzęcych. Zastosowanie lnu w leczeniu ran otwiera nowe perspektywy dzięki jego bioaktywnym właściwościom, które mogą przyspieszać proces gojenia.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono:

1. Lniane materiały, dzięki naturalnym antybakteryjnym i przeciwzapalnym właściwościom, mogą znacząco wpływać na poprawę stanu ran przewlekłych, minimalizując ryzyko infekcji i wspierając regenerację tkanki.
2. Modyfikacje genetyczne i tworzenie roślin transgeniczných poprawiają właściwości otrzymywanych surowców z lnu.
3. Badania nad lnem koncentrują się na wykorzystaniu jego unikalnych cech w zaawansowanych opatrunkach oraz w terapiach wspomagających szybszą rekonstrukcję uszkodzonych tkanek, co ma znaczenie zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynarii.

Publikacja H1 koncentruje się na badaniu wpływu różnych rodzajów tkanin lnianych, w tym tkanin z roślin modyfikowanych genetycznie, na proces gojenia się ran. Badania wykazały, że tkaniny lniane mogą uwalniać związki bioaktywne, takie jak polifenole i polihydroksymaślan, które wpływają pozytywnie na proliferację komórek skóry, w tym keratynocytów i fibroblastów. Szczególnie korzystne efekty zaobserwowano w przypadku tkaniny z roślin transgeniczných: W92, która uwalniała najwięcej związków bioaktywnych. Wyniki sugerują, że tkaniny lniane, zwłaszcza te z roślin modyfikowanych genetycznie, mogą mieć zastosowanie jako materiały opatrunkowe wspierające gojenie ran.

Publikacja H2 opisano badania aktywności biologicznej włókien lnianych z różnych odmian lnu, w tym Nike i odmian transgeniczných: M50 i B14. Zmiana rodzajów tkanin wynikała z nowych roślin transgeniczných i nowego projektu badawczego. Badania nie wykazały znaczących różnic w zawartości podstawowych polimerów ściany komórkowej między analizowanymi włóknami, ale różniły się one zawartością substancji potencjalnie bioaktywných. Wszystkie testy aktywności biologicznej przeprowadzono na ekstraktach z włókien, oceniając między innymi cytotoxycywność i wpływ na wzrost fibroblastów.

Następnie w kolejnej publikacji cyklu [H3] skupiono się na interakcjach między materiałem a komórkami przy użyciu linii komórkowych adherentnych, gdzie tkaniny lniane były inkubowane bezpośrednio z

komórkami. Analizy wykazały, że tkaniny lniane, niezależnie od ich obróbki chemicznej, zachowują substancje bioaktywne wpływające korzystnie na procesy regeneracyjne. Zidentyfikowano fenylopropanoidy, izoprenoidy, wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz związki hydrofobowe jako kluczowe dla celów medycznych, promujące proliferację komórek i posiadające właściwości antyoksydacyjne oraz przeciwzapalne. Badane tkaniny te charakteryzują się różnicami w zawartości bioaktywnych związków w roślinach modyfikowanych genetycznie, co może mieć znaczenie dla ich zastosowania w biomedycynie.

W publikacji H4 szczególną uwagę skupiono na modelu badawczym wykorzystującym komórki, aby zbadać wpływ włókien lnianych na procesy regeneracyjne. Analiza koncentrowała się na działaniu tkanin lnianych na komórki fibroblastów i innych typów komórek skóry, oceniając ich zdolność do promowania gojenia się ran. Wyniki podkreśliły, że włókna lniane, szczególnie te z odmian genetycznie modyfikowanych, zachowują bioaktywne właściwości po przetworzeniu, co ma kluczowe znaczenie dla ich zastosowania w medycynie regeneracyjnej.

W publikacji H5 skupiono się na badaniu właściwości chemoprewencyjnych i przeciwzapalnych olejów lnianych pozyskanych z roślin transgenicznych. Badania wykazały, że te oleje mogą posiadać zastosowanie w preparatach miejscowych jako dodatek do opatrunków oraz w diecie ludzi i zwierząt. Szczególną uwagę zwrócono na analizę składu chemicznego olejów, w tym zawartość kwasów tłuszczowych, fitosteroli, tokoferoli oraz związków fenolowych, co podkreśla ich potencjalne korzyści zdrowotne.

Całość badań przedstawionych w dokumencie dotyczyła zastosowania tkanin lnianych i produktów lnianych, takich jak oleje, w kontekście ich właściwości bioaktywnych, wpływu na gojenie ran oraz potencjału chemoprewencyjnego i przeciwzapalnego. Badania te łączyły w sobie różnorodne podejścia, od genetycznych modyfikacji roślin, przez analizę składu chemicznego, po testy biologiczne na komórkach. Wyniki wskazują na znaczący potencjał lnianych materiałów i olejów w medycynie regeneracyjnej i zapobieganiu chorobom, podkreślając ich interdyscyplinarny charakter i szerokie spektrum zastosowań.

4.3.5. Literatura

1. Adamson P., B.: Surgery in Ancient Mesopotamia. *Med. Hist.* 1991, 35: 428- 435
2. Brorson S.: Management of Fractures of the Humerus in Ancient Egypt, Greece, and Rome. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2009, 467, 1907-1914
3. Chen J-H, Stoeber K, Kingsbury S, Ozanne SE, Williams GH, Hales CN. Loss of proliferative capacity and induction of senescence in oxidatively stressed human fibroblasts. *J Biol Chem* 2004; 279: 49439–46.
4. Czemplik M., Korzun-Chłopicka U., Szatkowski M., Działo M., Szopa J., Kulma A., Optimization of phenolic compounds extraction from flax shives and their effect on human fibroblasts. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, Article ID 3526392, 2017.
5. Ferreira MC, Tuma P Jr., Carvalho VF, Kamamoto F. Complex wounds. *Clinics* 2006; 61: 571–8.
6. Fujisawa M and Misawa N., “Enrichment of carotenoids in flaxseed by introducing a bacterial Phytoene synthase gene,” *Methods in Molecular Biology*, vol. 643, pp. 201–211, 2010.
7. Gębarowski T., Wiatrak B., Janeczek M., Żuk M., Pistor P., Gąsiorowski K.: Were our Ancestors Right in Using Flax Dressings? Research on the Properties of Flax Fibre and Its Usefulness in Wound Healing. *Cellular and Molecular Mechanisms of Oxidative Stress in Wound Healing*, 2020, Article ID 1682317 |
8. Kulma, A. , Skórkowska-Telichowska, K. , Kostyn, K., Szatkowski, M., Skała, J., Drulis-Kawa, Z., Preisner, M., Żuk, M., Szperlik, J., Wang, Y. F.: New flax producing bioplastic fibres for medical purposes, *Industrial Crops and Products*, 2015 (68), 80-89
9. Kvavadze E., Bar-Yosef O., Belfer-Cohen A., Boaretto E., Jakeli N., Matskevitch Z., Mesheveliani T.: 30,000-Year-Old Wild Flax Fibers. *Science*, 2009, 325 (5496), 1359
10. Lorenc-Kukula K, Amarowicz R, Oszmian ski J, Doermann P, Starzycki M, Skala J, Zuk M, Kulma A, Szopa J. Pleiotropic effect of phenolic compounds content increases in transgenic flax plant. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 3685–92
11. Marin E., Boschetto F., Pezzotti G.: Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. *J. Biomed. Mater. Res.* 2019, 108, 1617-1633
12. McCorrison J.: Textile Extensification, Alienation, and Social Stratification in Ancient Mesopotamia. *Current Anthropology*, 1997, 38 (4), 517-535

13. Ohshima S. Apoptosis in stress-induced and spontaneously senescent human fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 324: 241–6.
14. Ovington L.: The evolution of wound management. *Home Health Nurse*, 2002, 20 (10): 653-666
15. Ruthin DJ, Meckling-Gill KA. Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. *J Nut* 1999; 129: 1791–98.
16. Saber A.: Ancient Egyptian surgical heritage. *J. Investigative Surg.* 2011, 19, 55
17. Scurlock J.: *Sourcebook for Ancient Mesopotamian Medicine*. SBL Press, Atlanta-Georgia 2014
18. Simon D, Dix FP, McCollum CN. Management of venous leg ulcers. *BMJ* 2004; 328: 1358–62
19. Skórkowska-Telichowska K., Kulma A., Żuk M., Czuj T., Szopa J.: The effect of newly developed linen dressings of decubitus ulcer. *J. Palliative Medicine*, 2012, 15 (2), 146-148
20. Skórkowska-Telichowska K., Żuk M., Kulma A., Bugajska-Prusak A., Ratajczak K., Gąsiorowski K., Kostyn K., Szopa J.: New dressing materials derived from transgenic flax products to treat long-standing venous ulcers—a pilot study. *Wound Rep. Reg.* 2010, 18, 168-179
21. Soffer, O.: Recovering Perishable Technologies through Use Wear on Tools: Preliminary Evidence for Upper Paleolithic Weaving and Net Making *Current Anthropology*, 2004, 45 (3), 407-413.
22. Wade E.: The sword and the knife: a comparison of Ancient Egyptian treatment of sword injuries and present day knife trauma. *Res Medica*, 2017, 24 (1), 47-56
23. Waetzoldt H (1985) Ölpflanzen und Pflanzenöle im 3. Jahrtausend. *Bull Sumer Agric* 2:77–96
24. Wall IB, Moseley R, Baird DM, Kipling D, Giles P, Laffafian I, Price PE, Thomas DW, Stephens P. Fibroblast dysfunction is a key factor in the non-healing of chronic venous leg ulcers. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 2526–40
25. Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol* 2001; 126: 485–93.
26. Wittens C., H., A., Pierk R., G., J., M., Urk van H.: The Surgical Treatment of incompetent Perforating Veins. *Eur. J. Endovasc. Surg.* 1995, 9: 19-23
27. Żuk M., Kulma A., Dymińska L., Szołtysek K., Prescha A., Hanuza J., Szopa J.: Flavonoid engineering of flax potentiate its biotechnological application. *BMC Biotechnology*, vol. 11, no. 1, p. 10, 2011.

5. Informacje o wykazaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej wraz z omówieniem pozostałego dorobku z okresu całej kariery zawodowej

Swoją aktywność naukową rozpocząłem już podczas studiów jako asystent stażysta w Katedrze Mikrobiologii Weterynaryjnej Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Po studiach byłem pracownikiem: Katedry i Zakładu Podstaw Nauk Medycznych, moją pracę w tej Katedrze **przed uzyskaniem stopnia doktora można podzielić na 2 etapy:**

(1) praca na Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu siedziba ul. Kochanowskiego 14 (lata 2005 – 2012),

(2) praca na Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu siedziba ul. Borowskiej 211 (2012 -2017).

Po uzyskaniu stopnia doktora pracowałem jako adiunkt:

(1) w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (2017-2021)

(2) w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu od 2021

Dorobek naukowy uzyskany w obu ośrodkach został omówiony osobno w celu przedstawienia aktywności naukowej w więcej niż jednej uczelni.

Aktualnie prowadzę stałą współpracę z zespołem:

- Prof. Olega Melnyka z Narodowego Uniwersytetu Przyrodniczego i Nauk o Środowisku Ukrainy. Ze względu na wojnę prace badawcze obu zespołów prowadzone są w Polsce (doniesienie zjazdowe: Oleksii Melnyk, Jęśkowiak-Kossakowska Izabela, Nowotarska Paulina, Wiatrak Benita, Gębarowski Tomasz: Investigating the effect of stem cell post-culture supernatant in its potential use as a neural cell regenerative agent , 68-69 s., 2023, Pathomorphology today: International scientific conference dedicated to the 125th anniversary of the creation of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine 2023). W ramach współpracy odbyły się już 3 miesięczne przyjazdy badaczy z Ukrainy.

- Prof. Tomaszem Gedrange z Technische Universität Dresden (publikacje P28, P31, P32, P36, P37). Badania były prowadzone w Polsce i w Dreźnie. Każdego miesiąca odbywają się spotkania dotyczące wspólnych badań.
- Prof. Ying Li Spinal Repair Unit, Department of Brain Repair and Rehabilitation, UCL Institute of Neurology, Londyn. Aktualnie prowadzone są badania w zakresie opracowania produktu leczniczego do leczenia całkowitych urazów rdzenia kręgowego w psów. W 2021 odbyły się wspólne badania w laboratoriach Uniwersytetu Przyrodniczego (2 tygodnie).
- Kontynuuje rozpoczęte współprace z ośrodkami krajowymi.

5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze realizowane w Katedrze Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

5.1.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Będąc studentem kierunku Medycyna Weterynaryjna już na początku studiów rozpocząłem pracę w Studenckim Kole Naukowym Medyków Weterynaryjnych, w sekcji anatomii zwierząt. Moim głównym tematem prac badawczych była anatomia rozwojowa, w szczególności rozwój tętnic przewodu pokarmowego świni. Już na drugi roku studiów organizowałem I ogólnopolską konferencję naukową studenckim kół naukowych zajmujących się anatomią której byłem sekretarzem. Konferencja zgromadziła uczestników z całej Polski z uczelni o różnym profilu, w których były prowadzone badania z zakresu anatomii. Przez cały okres studiów aktywnie pracowałem w Studenckim Kole Naukowym Medyków Weterynaryjnych, obejmując jego kierownictwo na piątym roku studiów. Będąc studentem trzeciego roku rozpocząłem badania w sekcji wirusologicznej. Już w tym czasie rozpocząłem swoją przygodę z hodowlami komórkowymi. Badania swoje z wykorzystaniem hodowli komórkowych rozpocząłem pod kierownictwem prof. dr hab. Witolda Golnika. Swoją pasję związaną z hodowlami komórkowymi kontynuuje do dnia dzisiejszego. W czasie studiów pracowałem również w Katedrze Mikrobiologii Weterynaryjnej jako asystent stażysta, otrzymując powołanie na tą funkcję przez JM Rektora Akademii Rolniczej we Wrocławiu. W trakcie studiów byłem autorem licznych doniesień konferencyjnych na sejmikach SKN i konferencjach. Po zakończeniu studiów (2001) rozpocząłem pracę w Powiatowym Inspektoracie Weterynarii w Wołowie na stanowisku inspektora weterynaryjnego. Pracując w IW ukończyłem z wynikiem pozytywnym szkolenie przygotowawcze do Służby Cywilnej. Szkolenie zostało zakończone egzaminem prowadzonym przez Dolnośląskiego Wojewódzkiego Lekarza Weterynarii lek. wet. Henryka Jana Mądrego w dniu 25 listopada 2003 r. W trakcie pracy w Inspekcji Weterynaryjnej rozpocząłem również studia specjalizacyjne.

Okres: 2005 – 2012, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, Akademia Medyczna we Wrocławiu, lokalizacja ul. Jana Kochanowskiego,

W 2005 r. rozpocząłem pracę w Katedrze Podstaw Nauk Medycznych Akademii Medycznej we Wrocławiu na stanowisku samodzielny technik. Do moich zadań po zatrudnieniu w Katedrze należała organizacja pracowni hodowli komórkowych opartej na liniach adherentnych niezbędnej do realizacji grantu KBN-094/P06/2003/25 dotyczącego aktywności chemoprewencyjnej soku z Aronii (brak tytułu projektu). Pracując w Katedrze realizowałem zadania badawcze przewidziane w projekcie. W 2005 roku odbyłem również **miesięczny staż** w Katedrze Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu w zakresie organizacji pracowni hodowli komórkowej, hodowli linii adherentnych, izolacji i hodowli linii pierwotnych. Kierownikiem stażu był prof. dr hab. Maciej Zabel.

W 2005 roku rozpocząłem również badania w współpracy z Katedrą Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu dotyczące izolacji i identyfikacji komórek macierzystych z poroża Jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*). Efektem badań była publikacja [P1] oraz cykl 5 doniesień zjazdowych.

Od 2007 r. rozpocząłem pracę na etacie naukowo - dydaktycznym, jako asystent.

W zakresie obowiązków dydaktycznych prowadziłem zajęcia dla studentów kierunku Analitika Medyczna i Farmacja z przedmiotów anatomia i fizjologia oraz patofizjologia.

Odpowiadałem również za redakcje i opracowanie graficzne Przewodników Dydaktycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu na lata 2005/2006, 2006/2007 i 2009/2010, 2010-2011.

Kontynuowałem prace badawcze z zakresu aktywności chemoprewencyjnej związków pochodzenia naturalnego, aktywności przeciwnowotworowej nowych związków syntetycznych oraz właściwości proregeneracyjnych nowych odmian lnu.

W 2010 rozpocząłem współpracę z prof. dr hab. Janem Szopą i zespołem Zakładu Biochemii Genetycznej, Uniwersytetu Wrocławskiego. Przedmiotem współpracy było badanie aktywności biologicznej opatrunków lnianych opartych na nowych odmianach lnu. Podjąłem także współpracę z dr hab. Ryszardem Jaszold-Howorko z Katedry i Zakładu Chemii Organicznej Akademii Medycznej we Wrocławiu w zakresie oceny aktywności nowych syntetycznych pochodnych oliwacyny.

W 2011 na prośbę JM Rektora Prof. dr hab. Marka Ziętka rozpocząłem tworzenie w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych laboratorium Medycyny Regeneracyjnej. Celem tego przedsięwzięcia było uzyskanie zdolności do wytwarzania komórek przeznaczonych

do regeneracji całkowitych uszkodzeń rdzenia kręgowego. W związku z posiadanym doświadczeniem uczestniczyłem w przygotowaniach do pionierskiego zabiegu podania komórek glejowych izolowanych z opuszki węchowej, które następnie zostały wszczepione do rdzenia kręgowego pacjenta. Do leczenia pacjenta zastosowano procedurę zmodyfikowaną zgodnie z moimi uwagami. W 2012 uczestniczyłem w zabiegu operacyjnym podczas którego, zespół pod kierunkiem prof. dr hab. Włodzimierza Jarmundowicza wszczepił komórki GWK pacjentowi. Operacja Pana Dariusza Fidyki zakończyła się sukcesem i jest on pierwszą osobą na świecie u której zastosowano skuteczną terapię całkowitego urazu rdzenia kręgowego.

Katedra i Zakład Podstaw Naum Medycznych, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Okres: 2012 – 2017, lokalizacja ul. Borowska

Zmiana lokalizacji Katedry, pozwoliła na rozwój współpracy z innymi jednostkami oraz realizacji projektów grantowych.

Pierwszym rozpoczęty projekt badawczym realizowanym w nowej lokalizacji był realizowany przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Uniwersytet Wrocławski i Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu (konsorcjum uczelni). Projekt pt. „Optymalizacja produktywności nowego lnu i jego zastosowanie jako źródła surowcowego preparatów biomedycznych” był realizowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR) [G2]. Celem badań było poznanie zdrowotności dwóch nowych odmian lnu włóknistego przeznaczonych na cele biomedyczne. Badania prowadzono m.in. na terenie Rolniczego Zakładu Doświadczalnego w Pawłowicach, należącego do Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Kierownikiem projektu był prof. dr hab. Andrzej Kotecki. Z pozyskanych roślin lnu były przygotowywane włókna bądź tkaniny i następnie przekazywane do oceny biologicznej na hodowlach komórkowych. Głównym celem badań *in vitro* było ocenienie potencjalnego wykorzystanie pozyskanych włókien/tkanin na gojenie się ran oraz opracowanie technologii produkcji tkaniny, dzięki której opatrunek lniany nie traciłaby właściwości biologicznych na etapie wytwarzania w porównaniu do pozyskiwanego włókna. W wyniku projektu powstały publikacje i doniesienia zjazdowe.

W okresie od 2012 roku kontynuowana była współpraca z Katedrą i Zakładem Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu w szczególności z dr Beatą Tylińską w zakresie oceny aktywności przeciwnowotworowej nowych pochodnych oliwacyny. Wynikiem współpracy były doniesienia zjazdowe, publikacja oraz patenty. Wynikiem współpracy z tą Katedrą były również badania, które zostały opisane w mojej pracy doktorskiej.

W okresie od 2012 roku kontynuowałem współpracę z Katedrą i Kliniką Neurochirurgii w szczególności z dr Pawłem Tabakowem i dr Wojciechem Fortuną. Przedmiotem współpracy były badania nad opracowaniem powtarzalnej metody izolacji i hodowli komórek glejowych izolowanych z opuszki węchowej. W wyniku współpracy uzyskano grant z programu Harmonia (NCN) na rozpoczęcie współpracy z Prof. Geoffrey Raismanem kierownikiem Katedry Neuroregeneracji University College London's Institute of Neurology, członkiem the Royal Society and the Academy of Medical Sciences. W wyniku realizacji projektu opracowano dokumentację wytwarzania komórek glejowych jako produktu inżynierii tkankowej, dokonano również zgłoszenia produktu do Europejskiej Agencji Medycznej (EMA). Zarejestrowany produkt był pierwszym tego typu produktem leczniczym zarejestrowanych przez EMA.

Kontynuowałem również współpracę z dr hab. Markiem Cegielskim z Zakładu Histologii i Embriologii, z Katedry Morfologii i Embriologii Człowieka na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu [WU1] dotyczącą zastosowania komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej.

Od roku 2016 współpracuje z Katedrą i Zakładem Chemii Leków Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu [WU2]. W ramach współpracy badam aktywność biologiczną nowych związków syntetyzowanych przez pracowników niniejszej Katedry.

5.1.2. Udział w projektach naukowo-badawczych przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

W okresie przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora uczestniczyłem w projektach badawczych związanych z różnymi zagadnieniami badawczymi.

Pierwszy projekt badawczy w którym uczestniczyłem był realizowany przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Uniwersytet Wrocławski i Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu (konsorcjum uczelni). Projekt pt. „Optymalizacja produktywności nowego lnu i jego zastosowanie jako źródła surowcowego preparatów biomedycznych” był realizowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR) [G1]. Celem badań projektu było poznanie zdrowotności dwóch typów lnu włóknistego przeznaczonych na cele biomedyczne. Badania prowadzono m.in. na terenie Rolniczego Zakładu Doświadczalnego w Pawłowicach, należącego do Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Kierownikiem projektu był prof. dr hab. Andrzej Kotecki. Z pozyskanych roślin lnu były przygotowywane włókna bądź tkaniny

i przekazywane do oceny biologicznej na hodowlach komórkowych. Głównym celem badań *in vitro* było ocenienie potencjalnego wykorzystania pozyskanych włókien/tkanin na gojenie się ran oraz opracowanie technologii produkcji tkaniny, dzięki której opatrunek lniany nie traciłby właściwości biologicznych na etapie wytwarzania w porównaniu do pozyskiwanego włókna.

W trakcie pracy przed doktoratem prowadziłem również działalność badawczą w innej uczelni niż Akademia Medyczna. W czasie realizacji projektu odbyłem 3 miesięczny staż z zakresu biotechnologii lnu. W ramach stażu w Zakładzie Biochemii Genetycznej, Wydziału Biotechnologii, Uniwersytetu Wrocławskiego ***prowadziłem prace badawcze projektu G1***, przygotowując hodowle komórkowe do badań genetycznych. Wynikiem badań są publikacje [PM3, P3, P4, P5].

Równocześnie do badań z zakresu aktywności biologicznej lnu prowadziłem także badania z zakresu medycyny regeneracyjnej realizując projekt wspólnie z Katedrą i Kliniką Neurochirurgii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, którego kierownikiem był dr Wojciech Fortuna [G4 i G6]. W wyniku realizacji projektu Harmonia nawiązana została współpraca z naukowcami z Wielkiej Brytanii a następnie rozpoczęto pracę w projekcie Wrocław Walk Again.

W całym okresie przed doktoratem prowadziłem również badania nad wykorzystaniem komórek macierzystych w medycynie regeneracyjnej. Badania były realizowane z projektów finansowanych z RPO i NCBiR [G2 i G5]. W wyniku realizacji projektów powstawały prototypy produktów leczniczych, które zostały zarejestrowane w EMA.

W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora zrealizowałem również projekt wewnętrzny [G3], pt. „Ocena właściwości cytotoksycznych i mechanizm działania przeciw nowotworowego nowych pochodnych oliwacyny”. Wyniki tych badań zostały wykorzystane w mojej pracy doktorskiej oraz zostały opublikowane.

■ **zestawienie projektów naukowo-badawczych:**

[G1] Wykonawca, grant NCBiR Nr: PBS1/A9/17/2012 „Optymalizacja produktywności nowego lnu i jego zastosowanie jako źródła surowcowego preparatów biomedycznych” zadanie 10 i 11. Projekt realizowany przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Uniwersytet Wrocławski i Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu (konsorcjum uczelni).

[G2] Wykonawca, projekt pn. Pozyskiwanie farmaceutyków drogą analizy chemicznej i ich izolacji do badań podstawowych” (realizowanego we współpracy z Uniwersytetem Rzeszowskim, finansowanego w ramach osi priorytetowej I Konkurencyjna i innowacyjna

gospodarka, Działanie 1.3. Regionalny system innowacji, Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Podkarpackiego na lata 2007-2013) projekt realizowany we współpracy z firmą Stem Cells Spin S.A.

[G3] Kierownik grantu wewnętrznego nr: 56/Pbmn pt. „Ocena właściwości cytotoksycznych i mechanizm działania przeciw nowotworowego nowych pochodnych oliwacyny”

[G4] Wykonawca, grant NCN: Badania nad zastosowaniem glejowych komórek węchowych (GKW) w leczeniu całkowitych urazowych uszkodzeń rdzenia kręgowego u ludzi. GR-797/NCN/2013. W ramach tego projektu były prowadzone badania w zakresie opracowania metody izolacji i wykorzystania komórek glejowych z opuszki węchowej do zastosowania w produkcji zaawansowanej terapii komórkowej wyjątku szpitalnego (ATMP-HE) do regeneracji uszkodzeń rdzenia kręgowego. Grant ten był realizowany we współpracy z zespołem ze Spinal Repair Unit, Department of Brain Repair and Rehabilitation, UCL Institute of Neurology, Londyn (dr Daqing Li, prof. Ying Li).

[G5] Kierownik zadań, kierownik laboratorium badawczego: Projekt NCBiR: „Opracowanie prototypów wyrobów medycznych na bazie surowców otrzymanych z porożogennych komórek macierzystych. Projekt finansowany przez NCBiR w ramach Przedsięwzięcia pilotażowego Wsparcie badań naukowych i prac rozwojowych w skali demonstracyjnej Demonstrator +; projekt realizowany we współpracy z firmą Stem Cells Spin S.A.

[G6] Członek międzynarodowego zespołu, projekt Wrocław Walk Again jest międzynarodowym projektem badawczym finansowanym przez Nicholls Spinal Injury Foundation, a realizowanym przez kilka ośrodków w Polsce we współpracy z Instytutem Neurologii University College London <https://walk-again-project.org/>, Nicholls Spinal Injury Foundation <https://www.nsisf.org.uk/>.

5.1.3. Aktywność naukowa – wykaz publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora

Poniżej przedstawiam zestawienie publikacji, o których jest mowa w pkt 5.1.1 niniejszego autoreferatu, będące rezultatem moich działań naukowych – z podziałem na publikacje bez wskaźnika IF, publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR wszystkie z punktacją MEiN (dawniej MNiSW) oraz patenty.

■ publikacje bez wskaźnika IF (brak na liście JCR):

PM1. Tomasz Gębarowski, Helena Moreira, Anna Szyjka, Jan Oszmiański, i Kazimierz Gąsiorowski. 2015. „Aktywność antyoksydacyjna soku i polifenoli z jagód aronii w hodowlach

komórek linii V79”. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 48: 322–327

PM2. Helena Moreira, **Tomasz Gębarowski**, Anna Szyjka, Magda Flank, i Kazimierz Gąsiorowski. 2015. „Wpływ bajkaleiny i wogoniny na liczebność populacji bocznej w komórkach raka piersi i raka jelita grubego”. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 48: 467–472.

PM3. Katarzyna Skórkowska-Telichowska, Karolina Hasiewicz-Derkacz, **Tomasz Gębarowski**, Helena Moreira, Katarzyna Gębczak, Anna Kulma, i Kazimierz Gąsiorowski. 2015. „Prozdrowotne działania olejów z lnu. Wnioski z badań w hodowlach komórkowych”. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 48: 522–527.

■ **publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR:**

P1. Marek Cegielski, Ireneusz Całkosiński, Piotr Dzięgiel, **Tomasz Gębarowski**, Marzenna Podhorska-Okołów, Robert Skalik, i Maciej Zabel. 2006. „Search for Stem Cells in the Growing Antler Stag (*Cervus Elaphus*)”. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 50: 247–251.

P2. Ryszard Jasztold-Howorko, Beata Tylińska, Bogusława Biaduń, **Tomasz Gębarowski**, i Kazimierz Gąsiorowski. 2013. „New Pyridocarbazole Derivatives. Synthesis and Their in Vitro Anticancer Activity”. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 70: 823–832.

P3. Katarzyna Skórkowska-Telichowska, Karolina Hasiewicz-Derkacz, **Tomasz Gębarowski**, Anna Kulma, Helena Moreira, Kamil Kostyn, Katarzyna Gębczak, Anna Szyjka, Wioleta Wojtasik, i Kazimierz Gąsiorowski. 2016. „Emulsions Made of Oils from Seeds of GM Flax Protect V79 Cells Against Oxidative Stress”. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016: 1–12. <https://doi.org/10.1155/2016/7510759>.

P4. **Tomasz Gębarowski**, Helena Moreira, Anna Szyjka, Benita Wiatrak, Wioletta Wojtasik, Anna Kulma, Jan Szopa, Kazimierz Gąsiorowski. Impact of fabrics from transgenic flax plant on human dermal fibroblasts in vitro proliferation, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s. 642-652

P5. Tomasz Gębarowski, Katarzyna Gębczak, Benita Wiatrak, Anna Kulma, Katarzyna Pelc, Tadeusz Czuj, Jan Szopa, Kazimierz Gąsiorowski. Flax oil from transgenic linum usitatissimum selectively inhibits in vitro proliferation of human cancer cell lines, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2017, vol. 74, nr 2, s. 653-659

P6. Piotr Świątek, Małgorzata Strzelecka, Rafał Urniaz, Katarzyna Gębczak, **Tomasz Gębarowski**, Kazimierz Gąsiorowski, i Wiesław Malinka. 2017. „Synthesis, COX-1/2 Inhibition Activities and Molecular Docking Study of Isothiazolopyridine Derivatives”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 25: 316–326. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.10.036>

P7. Beata Tylińska, Stanisław Ryng, **Tomasz Gębarowski**, i Kazimierz Gąsiorowski. 2017. „Hypoxia - Selective Cytotoxicity of Olivacine Analogues. Synthesis and Biological Screening”. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 74: 1753–1759.

■ **Patenty:**

PT1. 1-Podstawiona pochodna pirydokarbazolu o nazwie chemicznej 9-metoksy-5,6-dimetylo-1-[(1,1-bis-hydroksymetylo-propyloamino)-metylo]-6H-pirydo[4,3-b]karbazol i sposób jej wytwarzania; Tylińska Beata, Gąsiorowski Kazimierz, **Gębarowski Tomasz**, Biaduń Bogusława, Wynalazek, Chroniony, Numer zgłoszenia: 393495, Numer patentu/prawa: Pat.215838, Data zgłoszenia: **30-12-2010**, Data udzielenia prawa: **21-03-2013**, Publikacja patentu/wzoru: [WUP 28-02-2014]

PT2. 1-Podstawiona pochodna pirydokarbazolu o nazwie chemicznej 9-hydroksy-1-hydroksymetylo-5,6-dimetylo-6H-pirydo[4,3-b] karbazol i sposób jej wytwarzania; Tylińska Beata, Gąsiorowski Kazimierz, **Gębarowski Tomasz**, Jasztold-Howorko Ryszard, Biaduń Mirosława, Wynalazek, Chroniony, Numer zgłoszenia: 393497, Numer patentu/prawa: Pat.215839, Data zgłoszenia: **30-12-2010**, Data udzielenia prawa: **21-03-2013**, Publikacja patentu/wzoru: [WUP 28-02-2014].

PT3. 1-Podstawiona pochodna pirydokarbazolu o nazwie chemicznej 9-hydroksy-5,6-dimetylo-1-[(2-hydroksy-1,1-dimetylo-etyloamino)-metylo]-6H-pirydo[4,3-b] karbazol i sposób jej wytwarzania; Tylińska Beata, Gąsiorowski Kazimierz, **Gębarowski Tomasz**, Jasztold-Haworko Ryszard, Biaduń Bogusława, Wynalazek, Chroniony, Numer zgłoszenia: 393499, Numer patentu/prawa: Pat.218330, Data zgłoszenia: **30-12-2010**, Data udzielenia prawa: **25-03-2014**, Publikacja patentu/wzoru: [WUP 28-11-2014].

PT4. 1-Podstawiona pochodna pirydokarbazolu o właściwościach przeciwnowotworowych i sposób jej wytwarzania, jej zastosowanie oraz kompozycja farmaceutyczna ją zawierająca; Tylińska Beata, Ryng Stanisław, Gąsiorowski Kazimierz, **Gębarowski Tomasz**, Wynalazek, Chroniony, Numer zgłoszenia: 418685, Numer patentu/prawa: Pat.235473, Data zgłoszenia: **13-09-2016**, Data udzielenia prawa: **10-03-2020**, Publikacja patentu/wzoru: [WUP 24-08-2020].

PT5. Zastosowanie 3-(4-bromofenetylo)-6-(tert-butylo)-3,4-dihydro-2H-benzo[1,3]oksazyny Gębarowska Elżbieta, Płaskowska Elżbieta, **Gębarowski Tomasz**, Ejfler Jolanta, Arendt-Pindel Agata, Szafert Sławomir, Wynalazek, Wygasły, Numer zgłoszenia: 420532, Numer patentu/prawa: Pat.233492, Data zgłoszenia: **14-02-2017**, Data udzielenia prawa: **04-07-2019**, Data wygaśnięcia: 06-12-2021, Publikacja patentu/wzoru: [WUP 31-10-2019].

5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia naukowego doktora realizowane w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu UCZELNIA NR 1 w latach 2017 – 2021.

Po uzyskaniu tytułu doktora pracowałem jako adiunkt w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu **od 2017 do 2021 roku**. W czasie zatrudnienia kontynuowałem rozpoczęte wcześniej badania i współpracy, oraz rozpocząłem nowe szczególnie z zakresu medycyny regeneracyjnej. W okresie tym byłem autorem 19 publikacji, realizowałem dwa duże projekty grantowe oraz opowiadałem na za pracę Centrum Badawczo-Wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych jako pełnomocnik JM Rektora Uniwersytetu Medycznego. W tym okresie współpracę z prof. dr hab. Thomasem Gedrange z Uniwersytetu Technicznego w Dreźnie oraz z prof. dr hab. Marzeną Dominiak kierownikiem Katedry i Zakładu Chirurgii Stomatologicznej Wydziału Lekarsko-Stomatologiczny Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu oraz prezesem lek. stom. Sadri Rayad i dyrektorem lek. stom. Amadeuszem Kuźniarskim kierującymi Stomatologicznym Centrum Transferu Technologii. Współprace te trwają do dnia dzisiejszego.

W okresie od 2017 do 2021 prowadziłem również współpracę naukową w Katedrę Biostruktury i Fizjologii Zwierząt. Efektem tej współpracy było powstanie laboratorium hodowli komórkowych oraz wspólna publikacja. W okresie tym prowadziłem badania w nowo powstałym laboratorium.

■ **Współpraca międzynarodowa**

W1. Współpraca ze Spinal Repair Unit, Department of Brain Repair and Rehabilitation, **University College London (UCL) Institute of Neurology** (Prof. Geoffrey Raisman do 2017, dr Daqing Li, prof. Ying Li) wraz z Katedrą Neurochirurgii, Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr Wojciech Fortuna; dr hab. Paweł Tabakow, prof. UMW) przy zastosowaniu komórek izolowanych z opuszki węchowej do regeneracji uszkodzenia rdzenia kręgowego. Instytut Neurologii UCL Queen Square jest światowym liderem w dziedzinie neurologii. Współpraca rozpoczęła się w 2012 podczas przygotowania do zabiegu pierwszego pacjenta u którego zastosowano transplantacje komórek z opuszki węchowej. Pacjent u którego przeprowadzono zabieg jest pierwszym na świecie u którego zastosowano skuteczną terapię komórkami izolowanymi z opuszki węchowej.

Po śmierci Prof. Geoffrey Raisman Spinal Repair Unit, kierownikiem naukowym tego zespołu jest prof. Ying Li, która zajmuje się wykorzystywaniem technik chirurgicznych do korygowania problemów neurologicznych i opracowywaniem nowych sposobów naprawy urazów kręgosłupa. Realizuje, finansowany przez brytyjski SCF i NSIF, projekt badawczy „Naprawa uszkodzenia rdzenia kręgowego poprzez przeszczep komórek węchowych”. W ramach współpracy, średnio raz w roku odbywały się spotkania członków zespołu polskiego i brytyjskiego w Londynie lub we Wrocławiu. Efektem współpracy było zaprojektowanie badań *in vitro* a następnie przeprowadzenie ich w celu oceny i wyboru odczynników posiadających certyfikaty GMP (takie certyfikaty są niezbędne do wykorzystania danego odczynnika przy produkcji produktów zaawansowanej terapii komórkowej ATMP u ludzi).

W2. Współpraca z Katedrą Ortodoncji, Uniwersytetu Technicznego w Dreźnie, prof. Thomasem Gedrange

W ramach współpracy prowadzono wspólne badania dotyczące opracowania technik regeneracji ubytków tkanki kostnej ze szczególnym uwzględnieniem powikłań po leczeniu ortodontycznym pacjentów. Przedmiotem badań były metody decelaturyzacji kości, izolacji komórek macierzystych z miazgi zęba oraz badań *in vitro* (ocena cytotoksyczności) nowych materiałów do zastosowania w stomatologii. Badania były prowadzone zarówno w Polsce i w Dreźnie. Badania w Dreźnie były prowadzone w trakcie zazwyczaj krótkich, kilku dniowych wyjazdów. W wyniku współpracy realizowano projekt grantowy: „Opracowanie metody pozyskiwania i izolacji mezenchymatycznych komórek zrębu (MSCs) z zębów na potrzeby regeneracji ubytków kostnych w stomatologii”. Powstały również publikacje P26, P29, P30, P34, P35.

■ Współpraca krajowa

WK1. Współpraca z Instytutem Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. Włodzimierza Trzebiatowskiego **Polskiej Akademii Nauk**, Oddział Fizykochemii Biomedycznej (dr Paulina Sobierajska; prof. dr hab. Rafał Wiglusz). W ramach tej współpracy wykonywano ocenę biologiczną materiałów opartych na grafenie. Dotychczas została opublikowana z moim udziałem praca o potencjalnym działaniu nanohydroksyapatytu domieszkowanego litem i europem w neuroregeneracji nerwów uszkodzonych mechanicznie [P9]. Prace badawcze były prowadzone wspólnie w Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych, w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt i Uniwersytecie Medycznym. Uczestniczyłem w badaniach

we wszystkich 3 ośrodkach.

WK2. Współpraca z Zakładem Biogeochemii i Mikrobiologii Środowiskowej **Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu** (dr inż. Elżbieta Gębarowska). W ramach współpracy z dr inż. Elżbietą Gębarowską został opublikowany z moim udziałem artykuł na temat aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej *Solanum nigrum L.* [P10]. Badania oceniające aktywność przeciwnowotworową przeprowadzono z wykorzystaniem linii komórkowych pochodzenia nowotworowego.

WK3. Współpraca z Katedrą Biostruktury i Fizjologii Zwierząt **Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu** (prof. dr hab. Maciej Janeczek). W ramach współpracy badaliśmy włókna i tkaniny lniane w hodowlach komórkowych w ramach kontynuacji grantu [G1]. Badania te pozwoliły porównać trzy włókna lnu modyfikowane genetycznie (GMO) w porównaniu do włókna lnu tradycyjnego – Nike w kontekście potencjalnego zastosowania w gojeniu się ran. Efektem tej współpracy było powstanie laboratorium hodowli komórkowych. Wspólne badania były prowadzone również we współpracy z Instytutem Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych.

■ Współpraca wewnątrzuczelniana

WU1. Współpraca z **Katedrą Morfologii i Embriologii Człowieka, Zakład Histologii i Embriologii** Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr hab. Marek Cegielski).

Współpracę tę rozpocząłem jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora i ją kontynuowałem. Współpraca dotyczyła zastosowania komórek macierzystych izolowanych od jelenia jako surowca w medycynie regeneracyjnej. Aktualnie są w przygotowaniu 2 publikacje: pierwsza dotyczy właściwości neuroprotektoryjnych homogenatu z komórek izolowanych z rosnącego poroża jelenia oraz publikacja dotycząca komórek macierzystych izolowanych z jądra jelenia.

WU2. Współpraca z **Katedrą i Zakładem Chemii Leków** Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr hab. Piotr Świątek, prof. UMW; dr Dominika Szkatuła; dr Aleksandra Redzicka; dr Berenika Szczęśniak-Sięga; dr Łukasz Szczukowski; dr Jadwiga Maniewska; mgr Teresa Glomb). W ramach podziału zadań wykonywanych przez ww. zespół przeprowadzam badania aktywności biologicznej

nowosyntetyzowanych związków – przede wszystkim aktywności przeciwzapalnej, ale również przeciwnowotworowej w modelach *in vitro* [P10, P14, P16, P19].

WU3. Współpraca z **Katedrą i Zakładem Chemii Nieorganicznej** (obecnie **Katedra i Zakład Podstawowych Nauk Chemicznych**) Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr hab. Żaneta Czyżnikowska; dr inż. Aleksandra Marciniak; dr Aleksandra Kotynia; dr Edward Krzyżak). Współpraca ta zaowocowała wzbogaceniem badań biologicznych *in vitro* o badania *in silico* i modelowanie molekularne, których efekty są widoczne w publikacjach [P16, P17]. Jednocześnie dzięki współpracy tej, oprócz badań *in silico* i modelowania molekularnego, wzbogacono analizy o badania laboratoryjne z zakresu chemii nieorganicznej – oddziaływania związków z BSA.

WU4. Współpraca z **Katedrą i Zakładem Chemii Organicznej i Technologii Leków** Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr hab. Marcin Mączyński, prof. UMW; dr Beata Tylińska). Współpraca w zakresie za ocenę *in vitro* działania przeciwnowotworowego nowosyntetyzowanych pochodnych oksazolo[5,4-*d*]pirymidyny oraz pirydokarbazoli [P11, P15, P23].

WU5. Współpraca z **Katedrą i Zakładem Bromatologii i Dietetyki** (obecnie **Katedra i Zakład Dietetyki i Bromatologii**) Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr Magdalena Grajzer, dr hab. Anna Prescha). Moim zadaniem była aktywności biologicznej w modelach *in vitro* olejów tłoczonych na zimno i nadkrytycznie w kontekście działania chemoprewencyjnego, przeciwzapalnego oraz regeneracyjnego w gojeniu ran. Dotychczas zostały opublikowane dwie prace [P19, P20] na temat wykorzystania olejów z róży i maliny, których jestem współautorem.

5.2.2. Udział w projektach naukowo-badawczych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora uczestniczyłem w projektach naukowo-badawczych finansowanych ze środków Ministerstwa Edukacji i Nauki, Narodowego Centrum Nauki oraz ze środków własnych Uniwersytetu Medycznego.

Poniżej przedstawiam zestawienie oraz krótki opis projektów naukowo-badawczych, w których uczestniczyłam i/lub uczestniczę.

■ **projekty naukowo-badawcze:**

G7. Zastępca kierownika B+R zadań w projekcie pn. „Opracowanie metody pozyskiwania i izolacji mezenchymatycznych komórek zrębu (MSCs) z zębów na potrzeby regeneracji ubytków kostnych w stomatologii” realizowanych w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, nr projektu POIR.04.01.01-00-0006/19. W ramach ww. grantu odpowiadałem za prawidłową realizację projektu, prawidłowe zaplanowanie badań, zakup niezbędnych materiałów i odczynników do projektu, nadzór nad prowadzonymi przez zespół pracami badawczymi. W wyniku projektu zostało opracowane zgłoszenie do EMA, obecnie w trakcie przygotowania jest zgłoszenie patentowe. W ciągu roku planowane jest opublikowanie wyników projektu w postaci minimum 2 publikacji (publikacje są obecnie przygotowywane). W ciągu 2 lat planowane jest rozpoczęcie również badań klinicznych we współpracy z nowo powstałą firmą biotechnologiczną Biolabic. W przypadku kontumacji projektu będę odpowiadał za wytwarzanie opracowanych w projekcie produktów leczniczych terapii zaawansowanej.

G8. Kierownik obszaru strategicznego Nr 1 „Utworzenie i funkcjonowanie Centrum Badawczo-Wdrożeniowego Zaawansowanych Terapii Komórkowych” w projekcie pn. „Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu jako Regionalny Ośrodek Doskonałości w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu” realizowanym w ramach środków przyznanych przez Ministerstwo Edukacji i Nauki w programie „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” (RID) – nr umowy 016/RID/2018/19. Projekt miał przyczynić się do rozwoju badań naukowych i prac rozwojowych na Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu – podniesienia poziomu prowadzonych badań oraz zwiększenia ich znaczenia w środowisku międzynarodowym i wpływu na funkcjonowanie otoczenia społeczno-gospodarczego. Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, w celu osiągnięcia dobrego wyniku podczas procesu ewaluacji działalności naukowej, planuje m.in. zwiększenie liczby publikacji w międzynarodowych czasopismach z IF. Spośród prac opublikowanych w ramach niniejszego projektu, jestem współautorem 5 prac oryginalnych.

S1. Wykonawca zadań w projekcie pn. „Bioaktywność oleju z poziomki (*Fragaria vesca* L.) tłoczonego na zimno i ekstrahowanego nadkrytycznym dwutlenkiem węgla” – projekt nr SUBK.D040.22.030 finansowany z subwencji przyznanej Uniwersytetowi Medycznemu we Wrocławiu.

5.2.3. Aktywność naukowa – wykaz publikacji

Poniżej przedstawiam zestawienie publikacji i monografii, o których jest mowa w pkt 5.2. niniejszego autoreferatu, będące rezultatem moich działań naukowych. Są to publikacje, które nie wchodzą w skład cyklu prac zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego. W zestawieniu tym zostały także uwzględnione zgłoszenia patentowe z moim udziałem.

■ publikacje bez wskaźnika IF (brak na liście JCR):

PM4. Barbara Szczepankiewicz, Urszula Paślawska, Piotr Sławuta, Jan Madej, Marcin Nowak, Remigiusz Bąchor, Krzysztof Marycz, **Tomasz Gębarowski**, Agnieszka Czyżewska-Buczyńska, i Zbigniew Szewczuk. 2019. „Podocyturia jako nowy marker w diagnostyce uszkodzeń ciałek nerkowych w medycynie weterynaryjnej”. *Życie Weterynaryjne* 94: 684–687.

■ publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR

P8. Barbara Bażanów , Agnieszka Frącka, Natalia Jackulak, Ewa Romuk, **Tomasz Gębarowski**, Aleksander Owczarek, i Dominika Stygar. 2018. „Viral, Serological, and Antioxidant Investigations of Equine Rhinitis A Virus in Serum and Nasal Swabs of Commercially Used Horses in Poland”. *BioMed Research International* 2018: 1–6.

P9. Katarzyna Skórkowska-Telichowska, Anna Kulma, **Tomasz Gębarowski**, Wioleta Wojtasik, Kamil Kostyn, Helena Moreira, Anna Szyjka, i in. 2018. „V79 Fibroblasts Are Protected Against Reactive Oxygen Species by Flax Fabric”. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 184: 366–385.

P10. Berenika Szczęśniak-Sięga, Katarzyna Gębczak, **Tomasz Gębarowski**, i Jadwiga Maniewska. 2018. „Synthesis, COX-1/2 Inhibition and Antioxidant Activities of New Oxicam Analogues Designed as Potential Chemopreventive Agents”. *Acta Biochimica Polonica* 65: 199–207.

P11. Beata Tylińska, Ryszard Jasztold-Howorko, Karina Kowalczevska, Katarzyna Szczauraska-Nowak, Tomasz Gębarowski, i Joanna Wietrzyk. 2018. „Design, Synthesis and Analysis of Anticancer Activity of New SAR-Based S16020 Derivatives”. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 75: 1313–1320.

P12. Agata Arendt-Pindel, Aleksandra Marszałek-Harych, Elżbieta Gębarowska, **Tomasz Gębarowski**, Dawid Jędrzkiewicz, Elżbieta Płaskowska, Dariusz Zalewski, Nurbey Gulia,

Sławomir Szaferta, i Jolanta Ejfler. 2019. „Design and Functionalization of Bioactive Benzoxazines. an Unexpected Ortho-Substitution Effect”. *New Journal of Chemistry* 43: 12042–12053

P13. Barbara Szczepankiewicz, Urszula Paśławska, Robert Paśławski, **Tomasz Gębarowski**, W. Zasada, Marcin Michałek, i Agnieszka Noszczyk-Nowak. 2019. „The Urine Podocin/creatinine Ratio as a Novel Biomarker of Cardiorenal Syndrome in Dogs Due to Degenerative Mitral Valve Disease”. *Journal of Physiology and Pharmacology* 70: 229–238.

P14. Świątek, Piotr, Katarzyna Gębczak, **Tomasz Gębarowski**, i Rafał Urniaz. 2019. „Biological Evaluation and Molecular Docking Studies of Dimethylpyridine Derivatives”. *Molecules* 24: 1–13.

P15. **Tomasz Gębarowski**, Benita Wiatrak, Katarzyna Gębczak, Beata Tylińska, i Kazimierz Gąsiorowski. 2020. „Effect of New Olivacine Derivatives on P53 Protein Level”. *Pharmacological Reports* 72: 214–224.

P16. Teresa Glomb, Benita Wiatrak, Katarzyna Gębczak, **Tomasz Gębarowski**, Dorota Bodetko, Żaneta Czyżnikowska i Piotr Świątek. 2020. „New 1,3,4-Oxadiazole Derivatives of Pyridothiazine-1,1-Dioxide with Anti-Inflammatory Activity”. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 1–22.

P17. Edward Krzyżak, Dominika Szkatuła, Benita Wiatrak, **Tomasz Gębarowski** i Aleksandra Marciniak. 2020. „Synthesis, Cyclooxygenases Inhibition Activities and Interactions with BSA of N-Substituted 1H-Pyrrolo[3,4-C]pyridine-1,3(2H)-Diones Derivatives”. *Molecules* 25: 1–22

P18. Janusz Piasny, Benita Wiatrak, Agnieszka Dobosz, Beata Tylińska, i **Tomasz Gębarowski**. 2020. „Antitumor Activity of New Olivacine Derivatives”. *Molecules* 25: 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules25112512>.

P19. Szczukowski, Łukasz, Aleksandra Redzicka, Benita Wiatrak, Edward Krzyżak, Aleksandra Marciniak, Katarzyna Gębczak, **Tomasz Gębarowski** i Piotr Świątek. 2020. „Design, Synthesis, Biological Evaluation and in Silico Studies of Novel Pyrrolo[3,4-D]pyridazinone Derivatives with Promising Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity”. *Bioorganic Chemistry* 102: 1–20

P20. Barbara Bażanów, Janusz Pawęska, Aleksandra Pogorzelska, Magdalena Florek, Agnieszka Frącka, **Tomasz Gębarowski**, Wojciech Chwirot, i Dominika Stygar. 2021. „Serological Evidence of Common Equine Viral Infections in a Semi-Isolated, Unvaccinated Population of Hucul Horses”. *Animals* 11: 1–10.

P21. Magdalena Grajzer, Benita Wiatrak, **Tomasz Gębarowski**, Aleksandra Boba, Edward Rój, Daiva Gorczyca, i Anna Prescha. 2021. „Bioactive Compounds of Raspberry Oil Emulsions Induced Oxidative Stress via Stimulating the Accumulation of Reactive Oxygen Species and NO in Cancer Cells”. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2021: 1–16.

P22. Magdalena Grajzer, Benita Wiatrak, **Tomasz Gębarowski**, Adam Matkowski, Halina Grajeta, Edward Rój, Anna Kulma, i Anna Prescha. 2021. „Chemistry, Oxidative Stability and Bioactivity of Oil Extracted from *Rosa Rugosa* (Thunb.) Seeds by Supercritical Carbon Dioxide”. *Food Chemistry* 335: 1–9.

P23. Katarzyna Skórkowska-Telichowska, Justyna Mierziak-Darecka, Magdalena Wróbel-Kwiatkowska, **Tomasz Gębarowski**, Jan Szopa, i Magdalena Zuk. 2021. „Wound Coverage by the Linen Dressing Accelerates Ulcer Healing”. *Postępy Dermatologii i Alergologii* 38: 827–841

P24. Dominika Stygar, Aleksandra Pogorzelska, Elżbieta Chelmecka, Bronisława Skrzep-Poloczek, Barbara Bażanów, **Tomasz Gębarowski** Jerzy Jochem, i Jiri Henych. 2021. „Graphene Oxide Normal (GO + Mn²⁺) and Ultrapure: Short-Term Impact on Selected Antioxidant Stress Markers and Cytokines in NHDF and A549 Cell Lines”. *Antioxidants* 10: 1–18

P25. Beata Tylińska, Agnieszka Dobosz, Jan Spychała, Łucja Cwynar-Zajac, Żaneta Czyżnikowska, Amadeusz Kuźniarski i **Tomasz Gębarowski**. 2021. „Evaluation of Interactions of Selected Olivacine Derivatives with DNA and Topoisomerase II”. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 1–29.

■ **patenty:**

RT6. 6-(tert-butylo)-3-dodecylo-3,4-dihydro-2H-benzo[e][1,3]oksazyna i sposób otrzymania 6-(tert-butylo)-3-dodecylo-3,4-dihydro-2H-benzo[e][1,3]oksazyny Gębarowska Elżbieta, Eifler Jolanta, Płaskowska Elżbieta, **Gębarowski Tomasz**, Marszałek-Harych Aleksandra,

Wynalazek, Chroniony, Numer zgłoszenia: 424209, Numer patentu/prawa: Pat.238784, Data zgłoszenia: **05-01-2018**, Data udzielenia prawa: **15-06-2021**, Publikacja patentu/wzoru: [WUP 04-10-2021]

5.3. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia naukowego doktora realizowane w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu UCZELNIA NR 2

W 2021 r. rozpocząłem pracę w Katedrze Biostruktury i Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Jest to druga, wymagana jednostka naukowa w której pracowałem po uzyskaniu stopnia doktora. W czasie zatrudnienia kontynuowałem rozpoczęte wcześniej badania i współpracę, oraz rozpocząłem nowe z związane z badaniami z zakresu anatomii gadów. Pracując w nowym miejscu zostałem powołany na kierownika Laboratorium Hodowli Komórkowych i Terapii Zaawansowanych oraz utworzyłem biobank, który jest członkiem Polskiej Sieci Biobanków. Należy zaznaczyć, że jest to pierwszy biobank weterynaryjny.

Powrót na *Alma Mater* pozwolił mi wykorzystać swoją wiedzę i doświadczenie na nowej uczelni. Wiedza z zakresu medycyny regeneracyjnej, badań biomateriałów, właściwości proregeneracyjnych pozwala mi na nowy etap pracy naukowej i rozwoju badawczego.

■ **Współpraca międzynarodowa**

W1. Współpraca z Spinal Repair Unit, Department of Brain Repair and Rehabilitation, **University College London (UCL) Institute of Neurology** (Prof. Geoffrey Raisman do 2017, dr Daqing Li, prof. Ying Li) jest kontynuowana. W styczniu 2022 w naszym laboratorium gościli prof. Ying Li i Dr Daqing Li. Efektem wizyty była wspólna praca w laboratorium połączona z wymianą doświadczeń z hodowlą komórek izolowanych z ludzkiej opuszki węchowej.

W2. Współpraca z Katedrą Ortodoncji, Uniwersytetu Technicznego w Dreźnie, prof. Thomasem Gedrange W ramach współpracy prowadzono dalsze badania dotyczące opracowania technik regeneracji ubytków tkanki kostnej ze szczególnym uwzględnieniem powikłań po leczeniu ortodontycznym pacjentów. Efektem współpracy są publikacje [P26, P29, P30]. Badania były prowadzone w Polsce i Dreźnie z ramach kilku dniowych wyjazdów badawczych.

W3. Współpraca w Prof. Oleg Melnyk z Narodowego Uniwersytetu Przyrodniczego i Nauk o

Środowisku Ukrainy. Ze względu na wojnę prace badawcze obu zespołów prowadzone są w Polsce (doniesienie zjazdowe: Oleksii Melnyk, Jęškowiak-Kossakowska Izabela, Nowotarska Paulina, Wiatrak Benita, Gębarowski Tomasz: Investigating the effect of stem cell post-culture supernatant in its potential use as a neural cell regenerative agent , 68-69 s., 2023, Pathomorphology today: International scientific conference dedicated to the 125th anniversary of the creation of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine 2023). W ramach współpracy odbyły się już 3 miesięczne przyjazdy badaczy z Ukrainy.

■ Współpraca krajowa

WK-UPWR 1. Współpraca z Instytutem Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych im. Włodzimierza Trzebiatowskiego **Polskiej Akademii Nauk**, Oddział Fizykochemii Biomedycznej (mgr Nikol Nowak, lek. Anna Han, prof. dr hab. Rafał Wiglusz). W ramach kontynuacji prowadzono dalsze badania dotyczące nowych syntetycznych nanomateriałów fluoroapatytowych zawierających jony rubidu(I) i europu(III) o wysokiej kompatybilności cytologicznej i immunologicznej których efektem była kolejna publikacja. [P36]. W ramach współpracy prowadzono wspólne badania. W zakresie badań strukturalnych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej prace badawcze prowadziłem w Instytucie Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych wspólnie z mgr Nikol Nowak.

WK-UPWR 2. Kontynuowana jest współpraca z **Katedrą i Zakładem Chemii Leków** Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu pod kierownictwem dr hab. Piotr Świątek, prof. UMW oraz **WK-UPWR 3.** współpraca z **Katedrą i Zakładem Chemii Organicznej i Technologii Leków** Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr Beata Tylińska).

W-UPWR 4. Współpraca **Katedrą i Zakładem Dietetyki i Bromatologii**) Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (dr Magdalena Grajzer, dr hab. Anna Prescha) przyczyniła się do powstania publikacji ujętej w cyklu [H5] a dotyczącej chemoprewencyjnej aktywności olejów lnianych.

■ **Współpraca wewnątrzuczelniana**

WU-UPWR 1. Współpraca z dr hab. Barbara Bażanów, profesor Uczelni z Katedry Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w zakresie oceny aktywności biologicznej na modelu hodowli komórkowych [P8, P22, P24].

WU-UPWR 2. Współpraca z prof. dr hab. inż. Antonim Szumnym, Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności. Współpraca obejmuje ocenę aktywności biologicznej olejków izolowanych z różnych roślin. W ramach współpracy prowadzone są również badania z zespołami z Algierii i Iranu. W ramach współpracy powstała publikacja P31.

5.3.2. Udział w projektach naukowo-badawczych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

■ **projekty naukowo-badawcze:**

P-UPWR1. Opracowanie prototypu inowacyjnego produktu leczniczego nowej terapii do zastosowania w leczeniu urazów rdzenia kręgowego u psów [N060/0011/23]

5.3.3. Aktywność naukowa – wykaz publikacji

Poniżej przedstawiam zestawienie publikacji i monografii, o których jest mowa w pkt 5.3. niniejszego autoreferatu, będące rezultatem moich działań naukowych. Są to publikacje, które nie wchodzą w skład cyklu prac zgłoszonego do postępowania habilitacyjnego. W zestawieniu tym zostały także uwzględnione zgłoszenia patentowe z moim udziałem.

■ **publikacje bez wskaźnika IF (brak na liście JCR):**

PM5 Anna Tomańska, Maciej Janeczek, Maciej Sroczyński, i **Tomasz Gębarowski**. 2023. „Nowatorskie produkty inżynierii tkankowej z wykorzystaniem pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, aktualny trend rozwoju stomatologii weterynaryjnej”. Życie Weterynaryjne 98: 718–724.

PM6 Nicole Nowak, Dominika Czekanowska, **Tomasz Gębarowski**, i Rafał J. Wiglusz. 2024. „Highly Cyto- and Immune Compatible New Synthetic Fluorapatite Nanomaterials Co-Doped with rubidium(I) and europium(III) Ions”. Biomaterials Advances 156: 1–13.

<https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213709>.

■ **publikacje w czasopismach znajdujących się na liście JCR**

P26. Piotr Kuropka, Maciej Dobrzyński, Barbara Bażanów, Dominika Stygar, **Tomasz Gębarowski**, Anna Leśków, Małgorzata Tarnowska, i in. 2021. „A Study of the Impact of Graphene Oxide on Viral Infection Related to A549 and TC28a2 Human Cell Lines”. *Materials* 14: 1–15. <https://doi.org/10.3390/ma14247788>.

P27. Elżbieta Gębarowska, Jacek Łyczko, Maciej Rdzanek, Benita Wiatrak, Elżbieta Płaskowska, Hanna Gołębiowska, Amadeusz Kuźniarski i **Tomasz Gębarowski**. 2022. „Evaluation of Antimicrobial and Chemopreventive Properties and Phytochemical Analysis of *Solanum Nigrum* L. Aerial Parts and Root Extracts”. *Applied Sciences-Basel* 12: 1–19.

P28. Jakub Hadzik, Paweł Kubasiewicz-Ross, Wojciech Simka, **Tomasz Gębarowski**, Ewa Barg, Aneta Cieśla-Niechwiadowicz, Anna Szajna-Trzcionka, i in. 2022. „Fractal Dimension and Texture Analysis in the Assessment of Experimental Laser-Induced Periodic Surface Structures (LIPSS) Dental Implant Surface—in Vitro Study Preliminary Report”. *Materials* 15: 1–14.

P29. Piotr Świątek, Teresa Glomb, Agnieszka Dobosz, **Tomasz Gębarowski**, Kamil Wojtkowiak, Aneta Jezierska, Jarosław J. Panek, Małgorzata Świątek, i Małgorzata Strzelecka. 2022. „Biological Evaluation and Molecular Docking Studies of Novel 1,3,4-Oxadiazole Derivatives of 4,6-Dimethyl-2-Sulfanylpiperidine-3-Carboxamide”. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 1–25.

P30. Benita Wiatrak, **Tomasz Gębarowski**, Eddie Czwojdziniński, Kazimierz Gąsiorowski, i Beata Tylińska. 2022. „Lysosomal Exocytosis of Olivacine on the Way to Explain Drug Resistance in Cancer Cells”. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms23116119>.

P31. Jakub Hadzik, Kamil Jurczyszyn, **Tomasz Gębarowski**, Andrzej Trytek, Tomasz Gedrange, Marcin Kozakiewicz, Marzena Dominiak, Paweł Kubasiewicz-Ross, Anna Trzcionka-Szajna, Ernest Szajna i Wojciech Simka. 2023. „An Experimental Anodized and Low-Pressure Oxygen Plasma-Treated Titanium Dental Implant Surface—Preliminary Report”. *International Journal of Molecular Sciences* 24: 1–17.

P32. Hadzik, Jakub, Paweł Kubasiewicz-Ross, **Tomasz Gębarowski**, Natalia Waloszczyk,

Artur Maciej, Agnieszka Stolarczyk, Tomasz Gedrange, Marzena Dominiak, Ernest Szajna, i Wojciech Simka. 2023. „An Experimental Anodized Titanium Surface for Transgingival Dental Implant Elements—Preliminary Report”. *Journal of Functional Biomaterials* 14: 1–25.

P33. Hubert Iwiński, Henryk Róžański, Natalia Pachura, Aleksandra Wojciechowska, **Tomasz Gębarowski** i Antoni Szumny. 2023. „In Vitro Evaluation of Antiprotozoal Properties, Cytotoxicity Effect and Anticancer Activity of New Essential-Oil Based Phytoncide Mixtures”. *Molecules* 28: 1–20.

P34. Michał Kępa, Anna Tomańska, Joanna Staszewska, Małgorzata Tarnowska, Joanna Klećkowska-Nawrot, Karolina Goździewska-Harłajczuk, Amadeusz Kuźniarski, **Tomasz Gębarowski** i Maciej Janeczek. 2023. „Functional Anatomy of the Thoracic Limb of the Komodo Dragon (*Varanus Komodoensis*)”. *Animals* 13: 1–25.

P35. Jakub Mikus, Piotr Świątek, Patrycja Przybyła, Edward Krzyżak, Aleksandra Marciniak, Kotynia Aleksandra, Aleksandra Redzicka, Benita Wiatrak, Paulina Jawień, **Tomasz Gębarowski**, Łukasz Szczukowski. 2023. „Synthesis, Biological, Spectroscopic and Computational Investigations of Novel N-Acylhydrazone Derivatives of Pyrrolo[3,4-D]pyridazinone as Dual COX/LOX Inhibitors”. *Molecules* 28: 1–35.

P36. Sadri Rayad, Maciej Dobrzyński, Amadeusz Kuźniarski, Marzena Styczyńska, Dorota Diakowska, Tomasz Gedrange, Sylwia Klimas, **Tomasz Gębarowski** i Marzena Dominiak. 2023. „An In-Vitro Evaluation of Toxic Metals Concentration in the Third Molars from Residents of the Legnica-Głogów Copper Area and Risk Factors Determining the Accumulation of Those Metals: A Pilot Study”. *Applied Sciences-Basel* 13: 1–15.

P37. Rayad Sadri, Maciej Dobrzyński, Amadeusz Kuźniarski, Marzena Styczyńska, Dorota Diakowska, Tomasz Gedrange, Sylwia Klimas, **Tomasz Gębarowski** i Marzena Dominiak. 2023. „Mercury Content in Impacted Wisdom Teeth from Patients of the Legnica–Głogów Copper Area—an in Vitro Pilot Study”. *Journal of Xenobiotics* 13: 463–478.

5.4. Staże i szkolenia

■ Szkolenia odbyte przed uzyskaniem stopnia doktora:

- **27 listopada 2013:** Opracowanie i wdrożenie systemów jakości do hodowli GKW dla Katedry i Zakładu Podstaw Nauk Medycznych – szkolenie wstępne, Labkonsulting, trener Beata Borucka
- **20 lutego 2014:** System jakości GLP – Dobra Praktyka Laboratoryjna, Labkonsulting, trener Beata Borucka
- **19 lutego 2014:** System Jakości GMP – Dobra Praktyka Wytwarzania, Labkonsulting, trener Beata Borucka
- **1-2 grudnia 2015 r.:** GMP – Dobre Praktyki; TUV NORD Polska Sp. z o.o.
- **9 grudnia 2015r.:** Wymagania Dyrektywy medycznej 93/42/EEC oraz ustawy o wyrobach medycznych i wymagania prawne dotyczące niezbędnej dokumentacji technicznej wyrobu medycznego; TUV NORD Polska Sp. z o.o.
- **10 grudnia 2015 r.:** Analiza ryzyka i zarządzanie ryzykiem – wyroby medyczne na bazie normy PN-EN ISO 14971:2012; TUV NORD Polska Sp. z o.o.
- **20-22 grudnia 2015 r.:** Przepisy prawne, zasady pracy oraz higieny w pomieszczeniach typu clean room zgodnie z nowymi normami PN-EN ISO 14644-1:2016-03 i PN-EN ISO 14644-2:2016-03 oraz GMP; Labkonsulting, trener Patrycja Sitek
- **9-11 marca 2016:** Audytor wewnętrzny systemu zarządzania jakością wg ISO 9001 oraz PN-EN ISO 13485, TUV NORD Polska Sp. z o.o.
- **27-28 czerwca 2016:** Nowe GLP/GMP wraz z wymaganiami dla prowadzenia działalności banku tkanek do wytwarzania produktów leczniczych terapii zaawansowanej (HE ATMP) Labkonsulting, trener Beata Borucka

■ Szkolenia odbyte po uzyskaniu stopnia doktora:

- **17 czerwca 2019:** - Wymagania prawne dla produktów ATMP Helplab, trener Beata Borucka,
- **17 – 18 czerwca 2019:** Produkty lecznicze terapii zaawansowanej – wymagania GMP Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products; Helplab, trener Beata Borucka,
- **30-31 października 2019 r.** System jakości GLP – regulacje prawne i podstawowe wymagania; warsztaty; Helplab, wykładowca Beata Borucka

- **4 grudnia 2019 r.** System komputerowy GxP Lab LIMS – Praktyczne zastosowanie, GxP Lab, Trener: Marcin Wiatrak,
- **13 grudnia 2019:** Audytor wewnętrzny GMP – jak skutecznie przeprowadzić, przygotować i udokumentować audyt, Labconsulting, Trener Anna Słomkowska,
- **16 grudnia 2019:** Zasady pracy oraz higieny w pomieszczeniach typu Clean Room zgodnie z normami PN-EN ISO 14644-1:2016-03 i PN-EN ISO 14644-2:2016-03 oraz GMP, Labconsulting,
- **17-19 grudnia 2019:** Warsztaty PCR, Labconsulting
- **20 – 21 grudnia 2019** Cytometria przepływowa w ocenie proliferacji komórek, śmierci komórek i cyklu komórkowego. Aspekty praktyczne i dobre praktyki cytometryczne, Eksperti: Michał Maj i Lidia Gackowska

- **Stáže/spotkania naukowe:**

- **2005** roku miesięczny staż w Katedrze Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu w zakresie organizacji pracowni hodowli komórkowej, hodowli linii adherentnych, izolacji i hodowli linii pierwotnych. Kierownikiem stażu był prof. dr hab. Maciej Zabel
- Uniwersytet Wrocławski, Wydział Biotechnologii, Zakład Biochemii Genetycznej – w okresie od 2013 do 2016 staż z zakresu biotechnologii lnu, w łącznym wymiarze 15 tygodni
- International Implant Foundation, München, w okresie od 1.06.2017 do 27.08.2017, z zakresu prac badawczo-rozwojowych mających na celu optymalizację metod implantologii stomatologicznej
- 25–29.10.2021 r. – spotkanie naukowe z prof. Ying Li i dr Daqing Li z UCL Institute of Neurology we Wrocławiu w celu kontynuacji dyskusji na temat pracy z komórkami glejowymi.

5.5. Członkostwo w Towarzystwach Naukowych

Od roku 2022 jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych – Oddział Wrocławski, w marcu 2023 zostałem wybrany do zarządu Oddziału we Wrocławiu jako członek zarządu.

W dniu 7.03.2019 r. na posiedzeniu wrocławskiego oddziału Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego wygłosiłem dla członków wykład pt.: „Produkty lecznicze terapii zaawansowanej – kwalifikacja, wytwarzanie i możliwości zastosowania we współczesnej medycynie”

5.6. Udział w konferencjach

Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora współprzygotowałem **23** doniesień zjazdowych zaprezentowanych na konferencjach naukowych, w tym **6** doniesień na konferencjach międzynarodowych, zarówno w formie prezentacji ustnych jak i w formie posterów (*wszystkie ww. konferencje wymienione są w „Wykazie osiągnięć naukowych ...”, stanowiącym załącznik nr 4*).

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora wyniki moich badań były prezentowane zarówno przeze mnie, jak i przez innych współautorów publikacji, w **11** doniesieniach zjazdowych na konferencjach naukowych, w tym **7** doniesieniach na konferencjach międzynarodowych – 4 konferencje w trakcie zatrudnienia na Uniwersytecie Medycznych i 7 na Uniwersytecie Przyrodniczym (*wszystkie ww. konferencje wymienione są w „Wykazie osiągnięć naukowych ...”, stanowiącym załącznik nr 4*).

5.7. Recenzowanie prac oryginalnych i przeglądowych

Wykonałem recenzje 93 prac w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w tym 92 ze wskaźnikiem IF (*Tabela 3. Recenzje prac naukowych*).

Tabela 3. Recenzje prac naukowych.

Lp.	Nazwa czasopisma	Wskaźnik wpływu IF*	Liczba manuskryptów
1	Cells	6.0	3
2	Pharmaceutics	5.4	2
3	International Journal of Molecular Sciences	5.6	38
4	Genes	3.5	1
5	Biomedicines	4.7	4
6	Journal of Clinical Medicine	3.9	2
7	Molecules	4.6	18
8	Medicina	2.6	1

9	Coatings	3.4	1
10	Surgical Techniques Development	0.1	1
11	Plants	4.5	1
12	Life	3.2	3
13	Biomolecules	5.5	1
14	Journal of Functional Biomaterials	4.8	1
15	Nutrients	5.9	5
16	Materials	3.4	1
17	Antibiotics	4.8	1
18	Cosmetics	3.3	1
19	International Journal of Environmental Research and Public Health	--	1
20	Applied Sciences	2.7	1
21	Pharmaceuticals	4.6	3
22	Catalysts	3.9	1
23	Fitoterapia	3.4	1
24	Current Issues in Molecular Biology	3.1	1
			93

**IF 2022*

5.8. Kwalifikacja produktów leczniczych terapii zaawansowanej (CAT – EMA)

1. Glial Neuropatch: (**product ref.: H0005197**): Cultured human olfactory ensheathing cells and olfactory nerve fibroblasts, Intended for the treatment of complete spinal cord injuries, Tissue engineered product
2. Biocervin Neuroprotective Matrix (**product ref.: H0005051**) Tissue engineered product
3. Pulmocervin (**product ref.: H0005710**) Tissue engineered product

5.9. Udział w kształceniu młodej kadry naukowej

Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim lekarza – lek. wet. Pawła Stefanowicza. Tematem realizowanej przez niego pracy jest „*Izolacja, hodowla i charakterystyka mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych z rąbka rogówki i ich potencjalne zastosowanie w okulistyce weterynaryjnej*”. Praca jest realizowana eksternistycznie na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Praca doktorska została obroniona w 2024 z wyróżnieniem. Promotorem pracy był prof. dr hab. Maciej Janeczek.

6. Informacje o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

6.1. Dydaktyka.

W chwili rozpoczęcia pracy uniwersyteckiej aktywnie uczestniczyłem w tworzeniu procesu dydaktycznego. W 2005 roku, pracując na stanowisku technicznym do moich zadań w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych należała transformacja procesu dydaktycznego z rzutnika folii na nowoczesną w 2005 r. formę prezentacji komputerowej. W tym zakresie odpowiadałem za zakup odpowiednich komputerów i oprogramowania, przeprowadzenie szkoleń z obsługi programu PowerPoint, pomoc w przygotowaniu materiałów dydaktycznych (prezentacji do ćwiczeń i wykładów) w nowoczesnej formie. Zadanie to udało się zrealizować w kilka miesięcy do października 2005 r.

Od 2007 roku prowadziłem zajęcia dydaktyczne w Akademii Medycznej, później w Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu:

- w latach 2007 – 2021 prowadziłem zajęcia dla studentów I roku Wydziału Farmaceutycznego (kierunek farmacja) z Fizjologii (ćwiczenia) i Anatomii (ćwiczenia), dla studentów II roku Wydziału Farmaceutycznego (kierunek analityka medyczna) z Fizjologii (ćwiczenia) i Patofizjologii (ćwiczenia i seminaria) oraz dla studentów III i IV roku Wydziału Farmaceutycznego (kierunek farmacja) z Patofizjologii (ćwiczenia);
- redakcja i opracowanie graficzne Przewodników Dydaktycznych Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu na lata 2005/2006, 2006/2007 i 2009/2010, 2010-2011
- W latach 2013 – 2021 odpowiadałem całościowo za proces dydaktyczny przedmiotu Patofizjologia jako Adiunkt Dydaktyczny, Katedry i Zakładu Podstaw Nauk

Medycznych

- Latach 2008 – 2010 prowadziłem zajęcia z zakresu Patofizjologii dla studentów Studiów Podyplomowych Analityki Medycznej (3 cykle)
- w roku akademickim 2020/2021 prowadziłem zajęcia z zakresu prowadzenia badań klinicznych Produktów Leczniczych Terapii Zaawansowanej na studiach podyplomowych „Studia uzupełniające dla Osób Wykwalifikowanych”,
- w latach 2019 - 2021 prowadziłem dla studentów IV i V roku Wydziału Farmaceutycznego (kierunek farmacja) zajęcia fakultatywne „Produkty lecznicze terapii zaawansowanej”,
- od roku akademickiego 2021/2022 prowadzę dla studentów I roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej przedmiot Anatomia Zwierząt.

■ **Promotor prac magisterskich:**

W latach 2018 – 2021 byłem promotorem czterech prac magisterskich doświadczalnych w Katedrze i Zakładzie Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego. Podstawą obrony jednej pracy magisterskiej była publikacja naukowa. Pozostałe 3 były w postaci monografii. Wszystkie prace zostały ocenione na ocenę bardzo dobry.

■ **Opieka nad Studenckim Kołem Naukowym:**

Od roku 2022 jestem opiekunem Studenckiego Koła Naukowego „Refectio”, w ramach którego dla studenci kierunku Medycyna Weterynaryjna prowadzą badania z zakresu biotechnologii weterynaryjnej i medycznej. Studenci Koła Naukowego brali licznie udział w sejmikach naukowych oraz konferencjach krajowych i międzynarodowych. W 2023 ukazał się pierwsza publikacja, które pierwszym autorem jest student, członek koła naukowego Refectio. W ramach działalności koła prowadzony był cykl wykładów pod tytułem Szkoła Biotechnologii Weterynaryjnej.

■ **Udział w Dolnośląskim Festiwalu Nauki:**

Dolnośląski Festiwal Nauki to coroczna impreza odbywająca się na przełomie września i października na Dolnym Śląsku, mająca za cel popularyzację nauki:

- W 2015 roku współprowadziłem warsztaty pn.: „Krew źródłem życia” oraz „Tłuszcz wrogiem organizmu”
- w 2016 roku współprowadziłem warsztaty pn.: „Młodzieńczy zespół metaboliczny. Jak rozpoznać zagrożenie i jak zapobiegać.” oraz „Przewlekły niskonapięciowy odczyn zapalny jako siła napędowa w chorobach cywilizacyjnych – rozpoznanie, leczenie i zapobieganie.”
- w 2017 roku współprowadziłem warsztaty pn.: „Tajemnice komórek” oraz „Tajemnice krwi”

■ **Udział w Festiwalu Nauki w ramach Światowego Tygodnia Mózgu:**

W dniu 16 marca 2016 r. współprowadziłem warsztaty organizowane przez Młodą Farmację w cyklu Dni Otwartych w ramach Światowego Tygodnia Mózgu – corocznej akcji edukacyjnej mającej na celu popularyzację wiedzy o funkcjonowaniu mózgu.

6.2. Działalność organizacyjna

- **2006** – pomoc w organizacji obchodów 60 – lecia Wydziału Far, uczestnictwo w organizacji obchodów jubileuszu, opracowanie materiałów informacyjnych, zaprojektowanie loga graficznego obchodów jubileuszu oraz organizacja uroczystości (przygotowanie obsługi multimedialnej, zamówień na usługi zewnątrz, koordynacja uroczystości, kontakty techniczne z Urzędem Wojewódzkim, Biurem Ochrony Rządu). Obchody zakończyły się sukcesem, na uroczystościach 26 października 2006 był obecny **prezydent Lech Kaczyński**. Dzięki wsparciu Pana Prezydenta Lecha Kaczyńskiego udało się otrzymać finansowanie na budowę Nowego Wydziału Farmaceutycznego przy ul. Borowskiej we Wrocławiu. Po uroczystościach zaprojektowałem logo Wydziału Farmaceutycznego, które jest wykorzystywane do dnia dzisiejszego.
- **2007 – 2012** moim najważniejszym zadaniem było uczestnictwo w projektach związanych z powstaniem Nowej Farmacji tj. budowa i wyposażenie Ośrodka Badawczo-Naukowo-Dydaktycznego Dolnośląskiej Farmacji we Wrocławiu Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Dolnośląskiego na lata 2007-2013 wartość projektu - 71.035.194,13 PLN oraz Budowa i Wyposażenie Zintegrowanego Centrum Edukacji i Innowacji Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, Projekt współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego

Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Infrastruktura i Środowisko Wartość projektu: 101.007.442,45 PLN. W ramach realizacji projektów do moich obowiązków należał udział w projektowaniu inwestycji w zakresie infrastruktury dydaktycznej, badawczej w zakresie ogólnym i związanym z infrastrukturą Katedry.

- **2007** uczestnictwo w przygotowaniu uroczystości nadania aktu nadania Aktu Lokacyjnego nowej siedziby wrocławskiej akademickiej farmacji 20 grudnia 2007 r.
- **2009** przygotowanie zaproszeń, plakatów, kapsuły czasu, projektu aktu erekcyjnego dla uroczystego wmurowania Kamienia Węgielnego Nowej Siedziby Wydziału Farmaceutycznego w dniu 29 października 2009 roku
- **2010** przygotowanie zaproszeń, plakatów, kapsuły czasu, projektu aktu erekcyjnego dla uroczystego wmurowania Kamienia Węgielnego uwieczniającego początek budowy Zintegrowanego Centrum Edukacji i Innowacji wrocławskiej akademickiej farmacji w dniu 1 lipca 2010
- **2011** na prośbę JM Rektora Akademii Medycznej we Wrocławiu Prof. Marka Ziętka utworzenie w Katedrze laboratorium Medycyny Regeneracyjnej
- **2012** organizacja laboratoriów w nowej siedzibie Katedry Podstaw Nauk Medycznych Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przy ul. Borowskiej
- **2018 - 2021** Pełnomocnik Rektora ds. Wdrażania Zaawansowanych Terapii Komórkowych
- **2021** – organizacja Laboratorium Hodowli Komórkowych i Terapii Zaawansowanych i otrzymanie powołania na kierownika Laboratorium przez JM Rektora UPWr
- **2022** – utworzenie Biobanku, zrzeszonego w Polskiej Sieci Biobanków

6.3. Współpraca z otoczeniem społecznym i gospodarczym

■ **Warsztaty dla uczniów szkół ponadpodstawowych**

W roku 2020 przygotowałem i prowadziłem zajęcia dla uczniów klasy patronackiej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, w Liceum Ogólnokształcącym nr VII im. K. K. Baczyńskiego we Wrocławiu.

■ **Współpraca z otoczeniem gospodarczym**

- Współpraca z firmą **Stem Cells Spin S.A.; BIO INVENTIONS S.A., oraz Medcervin Sp z o.o.** Od 2007 roku współpracuje ze spółkami specjalizującą się w komercjalizacji innowacyjnych odkryć związanych z komórkami macierzystymi o symbolu MIC-1 w

zakresie hodowli, wyprowadzania i zastosowania komórek macierzystych o symbolu MIC-1 oraz substancji pochodnych. Podstawowy zakres działalności Spółki obejmuje: Hodowlę komórek macierzystych MIC-1; Wytwarzanie substancji będących pochodnymi komórek MIC-1; Prace badawczo – rozwojowe nad technologią hodowli MIC-1 i wytwarzanych na ich bazie substancji; Badanie właściwości oraz potencjalnych pól zastosowań dla produkowanych substancji biotechnologicznych; Opracowywanie produktów oraz proces ich badań aplikacyjnych i rejestracji; Sprzedaż produkowanych produktów i substancji biotechnologicznych. Podstawą ww. działań jest hodowla (produkcja) komórek macierzystych MIC-1, zaś finalnym efektem sprzedaż produktów wykorzystujących substancje aktywne z nich wyprowadzone. W trakcie współpracy opracowano i wdrożono na rynek linię kosmetyków Revitacell. Czasowo były również dostępne w sprzedaży kosmetyki weterynaryjne oraz opracowano prototypy kilku wyrobów medycznych. Aktualnie spółka skupia się na izolacji i hodowli komórek izolowanych od ludzi i zwierząt (pies, koń) tak aby opracować produkty oparte na wyizolowanych mikropęcherzykach.

W trakcie współpracy realizowałem następujące projekty:

1. „Badania w celu zwiększenia produktywności hodowli komórek macierzystych MIC-1 oraz badania ich wykorzystania w kosmetologii”, realizowany we współpracy z Wrocławskim Parkiem Technologicznym S.A. Realizowany latach 2010-2012 Rola w projekcie: wykonawca
2. „Pozyskiwanie farmaceutyków drogą analizy chemicznej i ich izolacji do badań podstawowych”, realizowany we współpracy z Uniwersytetem Rzeszowskim, finansowany w ramach osi priorytetowej I Konkurencyjna i innowacyjna gospodarka, Działanie 1.3. Regionalny system innowacji, Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Podkarpackiego na lata 2007-2013 Wartość projektu - 3 352 917,30 zł Realizowany latach 2013 -2015 Rola w projekcie: kierownik zadania
3. ”Opracowanie prototypów wyrobów medycznych na bazie surowców otrzymanych z porożogennych komórek macierzystych”- współfinansowany przez NCBR w ramach Przedsięwzięcia pilotażowego Wsparcie badań naukowych i prac rozwojowych w skali demonstracyjnej Demonstrator+ oraz ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka Wartość projektu - 64 939 002,00 zł

Realizowany latach 2013 -2016; Rola w projekcie: kierownik zadania 3 „Badania homogenatu zamrożonego, rozmrożonego i liofilizowanego”, zadania 15 „Wyprowadzenie linii poróżogennych komórek macierzystych jelenia szlachetnego”, zadania 16 „Hodowla i selekcja poróżogennych komórek macierzystych oraz opracowanie techniki hodowli komórek na dużą skalę”

4. "Opracowanie hydrożelu z zawartością homogenatu poróżogennych komórek macierzystych o działaniu neuroprotekcijnym dla tkanki rdzenia kręgowego" - projekt dofinansowany w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Dolnośląskiego 2014-2020 (Oś priorytetowa 1 Przedsiębiorstwa i innowacje, działania 1.2 Innowacyjne przedsiębiorstwa, Poddziałanie nr 1.2.2 Innowacyjne przedsiębiorstwa – ZIT WrOF). Całkowita wartość projektu wyniosła 2 887 211,92 zł a kwota dofinansowania 2 001 439,07 zł. Okres realizacji: 1 stycznia 2020 r. - 31 marca 2022 r. Rola w projekcie: biotechnolog
 5. „Zlecenie usługi opracowania innowacyjnej technologii pozyskiwania komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej” w ramach „Bonu na Innowacje. Innowacyjność=Konkurencyjność. II edycja. Bony na innowacje procesowe i produktowe dla Dolnośląskich Przedsiębiorstw". Całkowita wartość projektu - 234 500,00 zł Okres realizacji: 2022-2023 Rola w projekcie: nadzór nad wykonaniem projektu
 6. „Zlecenie usługi opracowania prototypu produktu inżynierii tkankowej opartego o hodowlę MSC pozyskiwanych od koni” dofinansowane z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, w ramach Projektu pn.: „Bon na Innowacje 2022-2023 Okres realizacji: 2023 Wartość przedsięwzięcia: 194 340,00 zł Rola w projekcie: nadzór nad wykonaniem projektu
- **BIOSAGITTA RESEARCH sp. z o.o. i Oncoturn sp. z o.o.** Współpraca w zakresie oceny aktywności biologicznej i przeciwnowotworowej estrów oleju lnianego.
 - **POL-EKO sp.k.** ul. Kokoszycka 172C, 44-300 Wodzisław Śląski doradztwo w zakresie jak powinien wyglądać i pracować idealny inkubator CO₂. W wyniku współpracy powstał pierwszy polski inkubator CO₂: ILC 180, sprzedawany w Polsce jak i na świecie przez firmę Avantor. Inkubator mimo atrakcyjnej ceny jest jednym z lepszych dostępnych obecnie na rynku.

- **Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Okoniewscy sp. z o.o.** badania wstępne nad zastosowaniem nowych surowców farmaceutycznych w produkowanych przez firmę produktach leczniczych oraz opracowanie prototypów produktów leczniczych nowej terapii (GID BIO)
- **Klinika Duo – MED.**, ul. Inowrocławska 21a, 53-653 Wrocław. Opracowanie metod decelaluryzacji kości ludzkiej do zastosowania w leczeniu ubytków kostnych w stomatologii, wniosek projektowy w trakcie przygotowania.
- **HASCO – LEK S.A/NOVASOME** – umowa o współpracy, wsparcie merytoryczne w obszarze prowadzonych badań rozwojowych. Prace badawcze dotyczyły opracowania prototypu roduktu leczniczego terapii zaawansowanej (kombinowanego) łączącego komórki macierzyste i wydruki złożone z PLLA, hydroksyapatytu i leku przeciwzapalnego.
- **Medyczne Centrum Innowacji Wrocław Sp. z o.o.** zastosowanie komórek macierzystych miazgi zęba w stomatologii regeneracyjnej, projekt: Projekt pn. Opracowanie metody pozyskiwania i izolacji mezenchymatycznych komórek zrębu (MSCs) z zębów na potrzeby regeneracji ubytków kostnych w stomatologii realizowany w ramach Poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, Nr umowy: POIR.04.01.01-00-0006/19-00, <https://ucs.dental/projekty/ncbir>

7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej, niewymienione w pkt 1-6.

7.1. Nagrody i wyróżnienia

- **2018** - Nagroda zespołowa II stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej w **2017 r.**
- **2019** - Nagroda zespołowa I stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy organizacyjnej w **2018 r.**
- **2019** – Nagroda specjalna Rektora Uniwersytetu Medycznego za wybitne osiągnięcia w **2018 r.**
- **2020** - Nagroda zespołowa II stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej w **2019 r.**

- **2020** - Nagroda indywidualna II stopnia Rektora Uniwersytetu Medycznego za ważne i twórcze osiągnięcia w pracy naukowej w **2019 r.**
- **2021** - Nagroda Zespołowa Stopnia I Rektora Uniwersytetu Medycznego za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2021** - Nagroda Zespołowa Stopnia I za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2021** - Nagroda Zespołowa Rektora Uniwersytetu Medycznego Stopnia II za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2021** - Nagroda Zespołowa Stopnia II Rektora Uniwersytetu Medycznego za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2021** - Nagroda Zespołowa Stopnia II Rektora Uniwersytetu Medycznego za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2021** - Nagroda Zespołowa Stopnia II Rektora Uniwersytetu Medycznego za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2021** - Nagroda Zespołowa Stopnia I Rektora Uniwersytetu Medycznego za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2022** - Nagroda Zespołową za cykl publikacji Rektora Uniwersytetu Medycznego
- **2022** - Nagroda Zespołowa Stopnia I Rektora Uniwersytetu Medycznego za publikacje w czasopiśmie umieszczonych w bazie Journal Citation Reports
- **2022** - Nagroda Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu dla nauczycieli akademickich za osiągnięcia naukowe
- **2023** - Nagroda Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu dla nauczycieli akademickich za osiągnięcia naukowe

7.2. Sumaryczne zestawienie dorobku naukowego habilitanta

Mój dorobek naukowy według stanu na dzień 29 luty 2024 roku obejmuje:

- 42 prace oryginalne w czasopiśmie znajdujących się na liście Journal Citation Reports (JCR).
- 46 streszczeń z prezentowanych doniesień na konferencjach naukowych.
- udział w projektach badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (NCN), Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (NCBiR), Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego i Ministerstwo Edukacji i Nauki (MEiN) oraz 3 projektach finansowanych przez Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu i jednym projekcie finansowanym przez Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

- sumaryczny wskaźnik *Impact Factor* według listy JCR zgodnie z rokiem opublikowania wynosi w tym:
 - za okres przed uzyskaniem stopnia doktora wynosi **10.162**
 - za okres po uzyskaniu stopnia doktora wynosi **148,431**
- łączna punktacja MNiSW / MEiN wynosi **3800** punktów, w tym:
 - za okres do 2018 r. wynosi **228** punktów,
 - za okres po 2019 r. wynosi **3572** punktów,
- liczba cytowań publikacji (*wg Web of Science Core Collection*):
 - liczba wszystkich cytowań **249**,
 - liczba cytowań bez autocytowań **199**,
- indeks Hirscha (*wg Web of Science Core Collection*):
 - *h*-index = 10.