

AUTOREFERAT

dr n. med. Tomasz Kloskowski

Katedra Urologii i Andrologii

Zakład Medycyny Regeneracyjnej, Wytwórnia ATMP

Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Bydgoszcz, 2023

1. IMIĘ I NAZWISKO

Tomasz Kloskowski

2. WYKAZ POSIADANYCH DYPLOMÓW STOPNI NAUKOWYCH/ ARTYSTYCZNYCH– Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

23 lipca 2007 r. ukończyłem studia licencjackie na kierunku biotechnologia, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu uzyskując **tytuł licencjata**. Pracę licencjacką pt.: „Mikrobiologiczna produkcja aminokwasów” wykonałem pod kierunkiem dr. hab. Marka Wójcika prof. UTP.

26 czerwca 2009 r. ukończyłem studia magisterskie na kierunku biotechnologia, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu uzyskując **tytuł magistra**. Pracę magisterską pt.: „Wpływ ciprofloksacyny na przeżywalność komórek niedrobnokomórkowego raka płuca linii A549” wykonałam pod kierunkiem prof. dr. hab. Tomasza Drewy.

18 czerwca 2014 r. uzyskałem **stopień naukowy doktora** nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu. Rozprawę doktorską pt.: „Próba regeneracji moczowodów z wykorzystaniem technik inżynierii tkankowej”, wykonałam pod kierunkiem prof. dr. hab. Tomasza Drewy.

06 marzec 2017 r. ukończyłem studia podyplomowe w zakresie Analityki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, dnia 17 sierpnia 2017 r. otrzymałem Prawo Wykonywania Zawodu Diagnosty Laboratoryjnego (nr 16397).

24 kwietnia 2022 r. ukończyłem studia podyplomowe w dla Osoby Wykwalifikowanej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH/ ARTYSTYCZNYCH

01 luty 2013 - 31 grudzień 2015, **technik** w Zakładzie Inżynierii Tkankowej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

01 styczeń 2015 - 30 wrzesień 2015, **asystent** w Zakładzie Inżynierii Tkankowej, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

01 października 2015 - nadal, **adiunkt** w Zakładzie Medycyny Regeneracyjnej, Katedrze Urologii i Andrologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

01 sierpnia 2022 - nadal, **Specjalista ds. Kontroli Jakości** w Wytwórni ATMP, Katedrze Urologii i Andrologii, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ.U. NR 65, POZ.595 ZE ZM.)

4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

„Eksperymentalne badania mające na celu wspomaganie leczenia nowotworów układu moczowego i płciowego” na podstawie cyklu 4 wybranych publikacji.

4.2. WYKAZ PUBLIKACJ WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Osiągnięcie zostało udokumentowane cyklem 4 przedstawionych poniżej prac opublikowanych w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o sumarycznym współczynniku oddziaływania (IF) równym 20.605

i sumarycznej liczbie punktów wg KBN/MEiN równej 480.000. Publikacje uszeregowano tematycznie, a nie chronologicznie z rokiem publikacji.

1. **Kloskowski T**, Frąckowiak S, Adamowicz J, Szeliski K, Rasmus M, Drewa T, Pokrywczyńska M. Quinolones as a potential drug in genitourinary cancer treatment – A literature review. Front Oncol 2022;12:890337. **IF= 4.700; MNiSW= 100.000**

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji pracy, zebraniu i analizie danych, przygotowaniu manuskryptu, tabel oraz rycin, korekcie ostatecznej wersji tekstu, prowadzeniu korespondencji z edytorem i odpowiedzi na recenzje.

2. **Kloskowski T**, Szeliski K, Fekner Z, Rasmus M, Dąbrowski P, Wolska A, Siedlecka N, Adamowicz J, Drewa T, Pokrywczyńska M. Ciprofloxacin and Levofloxacin as Potential Drugs in Genitourinary Cancer Treatment-The Effect of Dose-Response on 2D and 3D Cell Cultures. Int J Mol Sci 2021;22(21):11970. **IF=6.208; MNiSW=140.000**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, analizie piśmiennictwa, napisaniu manuskryptu i przygotowaniu rycin i tabel, korekcie ostatecznej wersji tekstu, prowadzeniu korespondencji z edytorem i odpowiedzi na recenzje.

3. **Kloskowski T**, Fekner F, Szeliski K, Paradowska M, Balcerczyk D, Rasmus M, Dąbrowski P, Kaźmierski Ł, Drewa T, Pokrywczyńska M. Effect of four fluoroquinolones on the viability of bladder cancer cells in 2D and 3D cultures. Front Oncol 2023;13:1222411. **IF=4.700; MNiSW=100.000**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, analizie piśmiennictwa, wykonaniu badań w hodowli 3D, napisaniu manuskryptu i przygotowaniu tabel, korekcie ostatecznej wersji tekstu, prowadzeniu korespondencji z edytorem i odpowiedzi na recenzje.

4. **Kloskowski T**, Szeliski K, Krzeszowiak K, Fekner Z, Kazimierski Ł, Jundziłł A, Drewa T, Pokrywczyńska M. Mumio (Shilajit) as a potential chemotherapeutic for the urinary bladder cancer treatment. Sci Rep 2021;11(1):22614. **IF=4.997; MNiSW=140.000**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji pracy, nadzorze merytorycznym, merytorycznej i statystycznej analizie danych, napisaniu manuskryptu i korekcie ostatecznej wersji tekstu.

4.3. OPIS MERYTORYCZNY OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDSTAWIONEGO DO OCENY

4.3.1. ISTNIEJĄCY STAN WIEDZY W ZAKRESIE TEMATU BADAŃ

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO – World Health Organization) nowotwory w 21-szym wieku będą główną przyczyną śmierci i największą przeszkodą w zwiększeniu średniej długości życia. Szacuje się, że w 2020 roku zanotowano ponad 19 milionów nowych przypadków zachorowalności na nowotwory oraz 10 milionów zgonów z tego powodu (Sung i wsp. 2019).

Rak pęcherza moczowego, biorąc pod uwagę obie płci, jest 10-tym co do częstości występowania nowotworem na świecie i 5-tym w Europie z szacowanym wzrostem o 55 tysięcy nowych przypadków rocznie (Richters i wsp. 2020; Saginala i wsp. 2020). Wśród populacji męskiej nowotwór ten zajmuje 7 miejsce. Częstość występowania jest większa u mężczyzn, częstotliwość zachorowalności wystandaryzowana dla wieku wynosi 9,5 dla mężczyzn i 2,4 dla kobiet na 100 tysięcy osób/rok. W Polsce rak pęcherza moczowego jest 4-ty u mężczyzn, a u kobiet 14-ty co do częstości występowania. Zachorowalność na raka pęcherza moczowego jest największa we wschodniej Azji oraz w Europie (Wojciechowska i wsp. 2020). U około 75% osób rak pęcherza moczowego jest ograniczony do nabłonka urotelialnego lub błony podśluzowej. U młodszych pacjentów, poniżej 40 roku życia, ten odsetek jest nawet większy (Gontero i wsp. 2023; Witjes i wsp. 2023). Leczenie raka pęcherza moczowego jest wieloetapowe i zależy od stopnia zaawansowania choroby. W przypadku nowotworu nienaciekającego błonę mięśniową (ang. Non-Muscle Invasive Bladder Cancer – NMIBC) wykonuje się zabieg chirurgiczny czyli przezcewkową resekcja guza (ang. TransUrethral Resection of Bladder Tumour – TURBT). Zabieg ten może być również łączony z chemioterapią (mitomycyna C) lub immunoterapią Bacillus Calmette-Guérin (BCG-terapia), leki te podaje się w postaci wlewk dopęcherzowych. W przypadku bardziej zaawansowanych stadiów nowotworu (guz naciekający błonę mięśniową, ang. Muscle Invasive Bladder Cancer – MIBC) metodą z wyboru jest cystektomia radykalna bez lub z towarzyszącą chemioterapią neoadjuwentową. Usunięcie pęcherza moczowego wiąże się z koniecznością nadpęcherzowego odprowadzenia moczu, czego konsekwencją jest znaczące pogorszenie jakości życia pacjentów (Drewa i Juszczak 2018).

Rak prostaty jest drugim co do częstości diagnozowanym nowotworem u mężczyzn na świecie, stanowi 15,5% wszystkich nowo rozpoznanych nowotworów. Szacunki na 2020 rok

wykazały 1,4 miliona nowych przypadków zachorowania na ten typ nowotworu. Częstość zachorowalności na raka prostaty poniżej 30 roku życia wynosi 5%, wskaźnik ten wzrasta do 59% u mężczyzn po 79 roku życia (Motted i wsp. 2023). W Polsce rak prostaty jest na pierwszym miejscu wśród zachorowalności na nowotwory u mężczyzn i na trzecim miejscu pod względem zgonów (Culp MB i wsp. 2020; Bell KJ i wsp. 2015). Leczenie raka prostaty zależy od takich czynników jak kliniczny stopień zaawansowania choroby i złośliwości komórkowej oraz od ogólnego stanu pacjenta i obecności chorób współistniejących. W przypadku nowotworu niskiego ryzyka wykonuje się prostatektomię radykalną bez limfadenektomii miedniczej lub stosuje się aktywny nadzór, czyli odroczenie leczenia radykalnego z intencją całkowitego wyleczenia w przypadku progresji choroby. Opcjonalnie można zastosować radioterapię bez hormonoterapii. W raku prostaty średniego i wysokiego ryzyka metodą z wyboru jest prostatektomia radykalna z limfadenektomią miedniczą oraz uzupełniającą radioterapią. Opcjonalnie stosuje się radioterapię z hormonoterapią (Drewa i Juszczak 2018).

Nadal poszukuje się nowych sposobów, które mogłyby zastąpić leczenie operacyjne. Jedną z metod poszukiwania nowych leków jest ich repozycjonowanie, czyli wykorzystywanie leków/substancji aktywnych dostępnych na rynku do nowych wskazań (Pushpakom i wsp. 2019). Koncepcja repozycjonowania leku wyklucza jego modyfikację strukturalną. Możliwe jest wykorzystanie leku w innej postaci farmakologicznej, innej dawce lub innej drogi podania. Pomimo kilku wad, metoda ta posiada wiele zalet, w tym między innymi zwiększenie powodzenia trudnego procesu jakim jest rejestracja nowych leków na rynku. Szacuje się, że proces wprowadzenia nowego leku na rynek wymaga 13-15 lat badań oraz nakładu 2,6 miliarda dolarów (Yadav i Talwar 2018). Repozycjonowanie znacząco ułatwia procedury regulacyjne wprowadzenia wcześniej już zarejestrowanych leków na rynek. W procedurze tej bierze się pod uwagę wcześniej zebrane dane, w szczególności dane dotyczące bezpieczeństwa leku i jego toksyczności, co pozwala na przyspieszenie początkowych faz badania, zmniejszenie kosztów (o nawet 80%) i zwiększa prawdopodobieństwo wprowadzenia leku do nowego wskazania (o 150% w porównaniu do nowego leku) (Jourdan i wsp. 2020). Skutki uboczne wywoływane przez repozycjonowany lek mogą być mniej akceptowalne dla chorób o łagodniejszym przebiegu w porównaniu do pierwotnego wskazania. Głównym wyzwaniem stojącym przed podmiotami zajmującymi się repozycjonowaniem leków jest słaba ochrona własności intelektualnej takich produktów leczniczych. Konsekwencją tego może być nieopłacalność całej procedury ze względu na

brak zwrotu z inwestycji, co z kolei może zniechęcać przedsiębiorstwa do opracowywania nowych wskazań dla już zarejestrowanych leków (Rastegar-Mojarad i wsp. 2015).

Chinolony jest to grupa chemioterapeutyków o szerokim spektrum działania przeciwko bakteriom Gram(+) i Gram(-). Pierwszy lek z tej grupy, kwas nalidyksowy, został opracowany przez Leschera w 1962 roku (Lescher i wsp. 1962). Niewystarczające właściwości kwasu nalidyksowego doprowadziły do powstania fluorochinolonów charakteryzujących się szerszym spektrum przeciwbakteryjnym i lepszymi właściwościami farmakokinetycznymi (Emmerson i Jones 2003). Mechanizm działania tej grupy leków polega na inhibicji kompleksu topoisomeraza II (gyraza) lub topoisomeraza IV z DNA, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórki bakteryjnej (Drlica 1999). Fluorochinolony są również skuteczne przeciwko eukariotycznym odpowiednikom topoisomeraż bakteryjnych. Antybiotyki te osiągają wysokie stężenia między innymi w moczu czy tkance prostaty, dlatego znalazły szerokie zastosowanie w leczeniu zakażeń układu moczowo-płciowego. Wiele fluorochinolonów, w szczególności ciprofloksacynę, badano pod względem właściwości przeciwnowotworowych *in vitro*, potwierdzając ich potencjał w onkologii. Do mechanizmu działania tej grupy leków zaliczyć można między innymi indukcję apoptozy, zatrzymanie cyklu komórkowego czy zaburzenie potencjału błony mitochondrialnej. Fluorochinolony należą do najczęściej przepisywanych antybiotyków w urologii. Amerykańska Agencja ds. Leków (ang. Food and Drug Agency – FDA), dopuściła do wykorzystania w urologii ciprofloksacynę, lewofloksacynę, ofloksacynę i norfloksaynę, z czego ciprofloksacyna i lewofloksacyna są najczęściej przepisywanymi antybiotykami w praktyce urologicznej na świecie (De Sousa 2005; Kabbani i wsp. 2018; Mandel i Tillotson 2002). Ze względu na właściwości tej grupy leków, fluorochinolony wydają się być idealnymi kandydatami do repozycjonowania w terapiach przeciwnowotworowych układu moczowo-płciowego.

Kolejną grupą związków, które potencjalnie mogłyby zostać wykorzystane we wspomagającej terapii leczenia nowotworów są związki naturalne. W dziedzinie chemii medycznej termin substancje naturalne odnosi się do oczyszczonych związków organicznych izolowanych ze źródeł naturalnych. Związki naturalne mogą być przygotowane poprzez syntezę chemiczną, obecne są w suplementach diety oraz produktach żywnościowych pochodzących z naturalnych źródeł (Wang i wsp. 2018). Substancje te zaczęły być rozważane jako potencjalne związki możliwe do wykorzystania w onkologii ze względu na znaczącą liczbę badań *in vitro*, które potwierdziły ich skuteczność wobec wielu typów nowotworów (Wang i wsp. 2020). Do 2010 roku ponad 60% leków przeciwnowotworowych częściowo lub

w całości otrzymano ze źródeł naturalnych (np. paklitaksel, topotekan, winkrystyna, winblastyna) (Sauter ER 2020). Zaletą substancji naturalnych jest niski profil toksyczności, są dobrze tolerowane przez pacjentów onkologicznych, jednakże ze względu na ich małą biodostępność charakteryzują się ograniczoną skutecznością (Wang i wsp. 2020). Związki naturalne mogłyby być stosowane w terapii skojarzonej ze standardowo wykorzystywanymi chemioterapeutykami obniżając ich toksyczność (mniejsze dawki leku) i jednocześnie zwiększając skuteczność terapii. Środki pochodzenia naturalnego są przedmiotem rosnącego zainteresowania, niektóre z nich zostały zaakceptowane przez FDA oraz Europejską Agencję Leków (ang. European Medicines Agency – EMA) do stosowania w leczeniu niektórych form nowotworów (Sauter ER 2020).

Mumio jest związkiem który jest wykorzystywany w medycynie naturalnej od ponad 4000 lat. Jest to substancja przypominająca konsystencją smołę o barwie od blado- do czarno-brązowej, która powstaje ze skał mineralnych i szczątków roślinnych w wieloletnim procesie. Surowe mumio można znaleźć 1000 m pod poziomem morza w jaskiniach, szczelinach i ubytkach skalnych w postaci nacieków lub skupisk soli w miejscach suchych, odsłoniętych od wiatru i słońca (Carrasco-Gallardo i wsp. 2012). Mumio badano w kierunku jego wykorzystania w dermatologii, ortopedii, neurologii, diabetologii, pulmonologii oraz, ze względu na dużą zawartość żelaza oraz właściwości antyoksydacyjne, w leczeniu anemii (Agarwal i wsp. 2007; Cornejo i wsp. 2011; Ghosal i wsp. 1988; Ghosal i wsp. 1991; Schepetkin i wsp. 2002). Do najbardziej aktywnych składników Mumio zalicza się dibenzo-alfa-pirony, kwas humusowy oraz kwas fulwowy (Ghosal i wsp. 1988). Substancje te pośredniczą w silnym działaniu przeciwutleniającym. Ze względu na swoje właściwości mumio może posłużyć jako substancja wspomagająca leczenie nowotworów układu moczowo-płciowego, w szczególności raka pęcherza moczowego (Kloskowski i wsp. 2021).

4.3.2. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

Celami przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego opartego na cyklu prac były:

- 1) analiza potencjału chinolonów w terapii raka pęcherza moczowego i raka prostaty (praca 1),
- 2) ocena wspomagających właściwości ciprofloksacyny i lewofloksacyny w leczeniu raka pęcherza moczowego i raka prostaty (praca 2),

- 3) ocena wspomagających właściwości norfloksacyny, ofloksacyny, moksifloksacyny i enrofloksacyny w leczeniu raka pęcherza moczowego (praca 3),
- 4) ocena właściwości Mumio jako potencjalnej substancji wspomagającej leczenie raka pęcherza moczowego (praca 4).

Praca nr 1

Wstęp do cyklu prac oparto na artykule poglądowym. Przenalizowano stężenia, jakie są w stanie osiągnąć chinolony w moczu oraz gruczole prostaty. Wykonano również analizę porównawczą, której poddano chinolony wykorzystywane w badaniach eksperymentalnych prowadzonych na liniach nowotworowych. Szczególną uwagę zwrócono na prace, w których wykorzystano komórki nowotworowe raka pęcherza moczowego i raka prostaty. Analizę oparto na pracach opublikowanych do lipca 2021 roku. Spośród 17 analizowanych chinolonów aktywność przeciwnowotworową oceniono dla 15 z nich, nie znaleziono danych dla grepafloksacyny i finafloksacyny. Dla pozostałych 15 chinolonów, w celu analizy właściwości przeciwnowotworowych, znaleziono 54 artykuły pełnotekstowe. Większość chinolonów osiąga wysokie stężenia w moczu, jedynie grepafloksacyna, sparfloksacyna, trowafloksacyna i gemifloksacyna wykazywały marginalne wartości, co wyklucza je z możliwości wykorzystania w terapiach raka pęcherza moczowego. Ciprofloksacyna, ofloksacyna, fleroksacyna, enoksacyna, norfloksacyna i lewofloksacyna to jedyne chinolony, które do tej pory zostały przebadane na komórkach raka pęcherza moczowego, głównie w badaniach *in vitro*. Z przeanalizowanych danych, wynika, że ciprofloksacyna ma najbardziej obiecujące właściwości na tym polu ze względu na najniższe obliczone wartości stężeń obniżające żywotność komórek o 50%. W przypadku stężeń jakie są w stanie osiągnąć chinolony w tkance prostaty nie znaleziono danych dla kwasu nalidyksowego, kwasu pipemidynowego, grepafloksacyny, sparfloksacyny, gemifloksacyny i finafloksacyny. Stężenia w tkance prostaty były ponad 2-krotnie wyższe niż te osiągalne w surowicy, jednakże dużo niższe w porównaniu do stężeń osiągalnych w moczu. Uzyskane wyniki wskazują na ograniczone wykorzystanie tej grupy leków w terapii raka prostaty. Tylko 5 chinolonów (ciprofloksacyna, lewofloksacyna, enoksacyna, norfloksacyna i gatifloksacyna) analizowano do tej pory na komórkach nowotworowych prostaty *in vitro*. Podobnie jak w przypadku komórek raka pęcherza moczowego, również ciprofloksacyna była najskuteczniejsza wobec komórek raka prostaty. Jednakże obliczone stężenia powodujące obniżenie żywotności komórek o 50% były dużo wyżej od stężeń, które są osiągalne w tkance prostaty. Analizując mechanizm działania chinolonów na poziomie molekularnym,

uwzględniając ich działania wobec wszystkich przebadanych komórek nowotworowych, wykazano, że dochodzi do zahamowania szlaków przyżyciowych poprzez obniżenie ekspresji genów takich jak IL-1 β , I κ B, NF- κ B, IL-8, TNF- α , co w konsekwencji prowadzi do indukcji apoptozy poprzez obniżenie aktywności genów anty-apoptotycznych (Bcl-XL, Bcl-2) i wzrost ekspresji genów pro-apoptotycznych (Bid, Bax, Bak) oraz aktywację kaspaz. Obniżenie aktywności topoizomerazy, ekspresji białka p53 oraz wzrost ekspresji TGF- β 1 prowadzi do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie S lub G2/M, co w konsekwencji również prowadzi do śmierci komórki na drodze apoptozy. Przeprowadzone badania wskazują, że połączone działanie chinolonów ze standardowymi chemioterapeutykami, lub wykorzystanie zmodyfikowanych chinolonów (kompleksy z metalami) pozwala na uzyskanie lepszych właściwości cytotoksycznych.

Podsumowując, chinolony posiadają obiecujące właściwości do wykorzystania w terapii wspomagającej leczenie raka pęcherza moczowego, głównie ze względu na ich skuteczność wobec komórek tego nowotworu oraz wysokie stężenia jakie osiągają w moczu. Leki te mogły by zostać podane bezpośrednio po zabiegu przezcewkowej resekcji guza pęcherza moczowego (ang. transurethral resection of bladder tumor – TURBT), który charakteryzuje się dużym odsetkiem nawrotów. Niewielka liczba komórek, które pozostały w pęcherzu moczowym po zabiegu, odpowiadają prawdopodobnie za wznowy. Wykorzystanie chinolonów jako terapii dopęcherzowej bezpośrednio po zabiegu TURBT oraz dożylnie/doustnie przez kilka tygodni po zabiegu pozwoliło by na uśmiercenie komórek nowotworowych, których nie udało się usunąć podczas zabiegu TURBT, redukując tym samym ryzyko wznowy nowotworu. W przypadku raka prostaty wykorzystanie chinolonów jest ograniczone ze względu na niewystarczające stężenia tych leków osiągalne w tkance prostaty. Coraz więcej danych wskazuje, że infekcje bakteryjne mogą przyczynić się do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego prostaty, a to z kolei w przyszłości może doprowadzić do rozwoju raka. Wykorzystanie chinolonów w profilaktyce przeciwbakteryjnej spowoduje hamowanie procesu zapalnego, jednocześnie ze względu na właściwości przeciwnowotworowe może indukować ich śmierć na wczesnym etapie nowotworzenia (tak zwana hipoteza „dwóch uderzeń”).

Praca nr 2

Celem pracy nr 2 była ocena skuteczności ciprofloksacyny i lewofloksacyny wobec komórek raka pęcherza moczowego i raka prostaty. Analizę przeprowadzono na 4 liniach komórkowych, dwóch nowotworowych: rak pęcherza moczowego (T24), rak prostaty (DU-

145) oraz dwóch prawidłowych: nabłonek urotelialny (SV-HUC-1) oraz nabłonek prostaty (RWPE-1). Leki badano w zakresie stężeń 25 – 800 µg/ml, komórki inkubowano z fluorochinolonami przez 24 i 48 godzin. Ciprofloksacyna i lewofloksacyna obniżały żywotność badanych komórek w sposób zależny od dawki leku oraz czasu inkubacji. Na podstawie uzyskanych danych obliczono stężenia obniżające żywotność o 10, 50 i 90% (LC10, LC50, LC90). Oba leki wykazywały większą skuteczność wobec komórek nowotworowych wyłącznie w przypadku komórek nabłonka urotelialnego. Oba fluorochinolony miały nieznaczny wpływ na rozkład populacji komórek w poszczególnych fazach cyklu komórkowego. Jedynie w przypadku ciprofloksacyny i komórek linii T24 traktowanych najwyższym stężeniem (LC90) leku obserwowano istotnie statystyczne obniżenie liczby komórek w fazie G0/G1. Odnotowano również znaczący, choć nieistotny statystycznie, wzrost populacji komórek w fazie S, co może sugerować zatrzymanie cyklu komórkowego w tej fazie pod wpływem działania leku. Analiza procesu śmierci komórkowej za pomocą cytometrii przepływowej wykazała wzrost liczby komórek dodatnich pod względem aneksyny V (AnV+) i jodku propidyny (PI+) dla obu leków w stężeniu LC90 oraz dodatkowo samego jodku propidyny dla ciprofloksacyny w komórkach raka pęcherza moczowego. Obserwacje te wskazują prawdopodobnie na zaawansowany proces apoptozy. Efektu tego nie obserwowano w przypadku prawidłowych komórek nabłonka urotelialnego, natomiast w przypadku komórek prostaty wzrost ilości populacji AnV+/PI+ obserwowano zarówno dla komórek prawidłowych jak i nowotworowych. Analiza molekularna wykazała różne profile ekspresji genów (*BAX*, *BCL2*, *TOP2A*, *TOP2B*, *CDKN1*, *TP53*) zależne od leku, dawki oraz linii komórkowej. W przypadku niższych dawek leku (LC50) obserwowano aktywację szlaków kierujących komórki na drogę przeżycia, natomiast w wyższych dawkach (LC90) obserwowano aktywację/obniżenie ekspresji genów zaangażowanych w indukcję śmierci komórkowej. Ze względu na lepsze wyniki uzyskane dla komórek raka pęcherza moczowego, na komórkach linii T24 oraz SV-HUC-1 kontynuowano badanie z wykorzystaniem hodowli 3D (sferoidy). W analizie wykorzystano stężenia LC obliczone dla komórek w hodowli 2D. Obniżenie żywotności komórek nowotworowych obserwowano jedynie w najwyższym badanym stężeniu (LC90), czemu towarzyszył wzrost wielkości sferoidów oraz wzrost aktywności kaspaz 3/7. Ciprofloksacyna nie wykazywała efektu cytotoksycznego wobec komórek prawidłowych nabłonka urotelialnego, natomiast w przypadku lewofloksacyny efekt ten był mniejszy w porównaniu do komórek nowotworowych.

Podsumowując, praca 2 wykazała, że zarówno ciprofloksacyna jak i lewofloksacyna mogłyby być stosowane w terapii wspomagającej leczenie raka pęcherza moczowego. Za hipotezą tą przemawiają takie właściwości jak wysokie stężenia leków możliwe do osiągnięcia w moczu po podaniu dożylnym lub doustnym, oraz mniejsza cytotoksyczność wobec komórek prawidłowych nabłonka urotelialnego. Porównując bezpośrednio oba badane leki, ciprofloksacyna charakteryzowała się lepszą skutecznością od lewofloksacyny. W przypadku raka prostaty wykazano mniejszy potencjał obu fluorochinolonów w leczeniu tego nowotworu, ze względu na: brak różnic w skuteczności badanych leków pomiędzy komórkami prawidłowymi i nowotworowymi; obliczone wartości LC przekraczają stężenia tych leków możliwe do osiągnięcia w tkance prostaty.

Praca nr 3

W pracy 3, oceniono skuteczność 4 fluorochinolonów: norfloksacyny, ofloksacyny, moksifloksacyny oraz enrofloksacyny, wobec komórek raka pęcherza moczowego (T24) oraz prawidłowego nabłonka urotelialnego (SV-HUC-1). Leki, podobnie jak w pracy 2, badano w zakresie stężeń 25 – 800 µg/ml, komórki inkubowano z fluorochinolonami przez 24 i 48 godzin. Badane leki obniżały żywotność komórek w sposób zależny od dawki leku oraz czasu inkubacji. Na podstawie uzyskanych danych obliczono stężenia obniżające żywotność o 10, 50 i 90% (LC10, LC50, LC90). Norfloksacyna i enrofloksacyna wykazywały największą skuteczność wobec komórek nowotworowych z jednocześnie mniejszym efektem cytotoksycznym wobec komórek prawidłowych. Ofloksacyna wykazywała najmniejszą skuteczność, jednakże zasługuje na uwagę ze względu na dużo słabszy efekt cytotoksyczny wobec komórek linii SV-HUC-1. Badane fluorochinolony powodowały obniżenie liczby komórek nowotworowych w fazie G0/G1, obserwowano również towarzyszący wzrost populacji w fazie G2/M, co może sugerować zatrzymanie cyklu komórkowego w tej fazie pod wpływem działania leków. Jedynie w przypadku norfloksacyny nie uzyskano istotności statystycznej. W przypadku komórek prawidłowych, jedynie enrofloksacyna powodowała wzrost populacji komórek w fazie S po inkubacji z najwyższym stężeniem leku. Analiza procesu śmierci komórkowej za pomocą cytometrii przepływowej wykazała wzrost liczby komórek dodatnich pod względem aneksyny V (AnV+) i jodku propidyny (PI+) dla wszystkich leków w stężeniu LC90 w komórkach raka pęcherza moczowego. Obserwacje te wskazują prawdopodobnie na zaawansowany proces apoptozy. Efekt ten obserwowano również w przypadku prawidłowych komórek nabłonka urotelialnego. Po inkubacji ze stężeniami LC50 leków obserwowano aktywację kaspaz 3/7 w komórkach nowotworowych,

oraz w przypadku norfloksacyny, również w prawidłowych. Analiza molekularna wykazała hamowanie ekspresji genów topiomerazy II (*TOP2A* i *TOP2B*) za wyjątkiem ofloksacyny. W przypadku genu *CDKN1*, kodującego białko p21, w niższych stężeniach (LC50) obserwowano wzrost ekspresji, co może sugerować o aktywacji szlaków kierujących komórki na drogę przeżycia, natomiast w wyższych (LC90) obniżenie ekspresji, co może świadczyć o kierowaniu komórek na drogę apoptozy. Analizując sferoidy wykorzystano stężenia LC obliczone dla komórek w hodowli 2D. Obniżenie żywotności komórek nowotworowych obserwowano w większości przypadków w najwyższym badanym stężeniu (LC90), czemu towarzyszył wzrost wielkości sferoidów oraz wzrost aktywności kaspaz 3/7. W przypadku komórek prawidłowych obniżenie żywotności obserwowano jedynie w przypadku stężenia LC90 moksifloksacyny po 24 godzinach inkubacji oraz LC90 ofloksacyny po 48 godzinach inkubacji. Badane leki, w najwyższym stężeniu, wpływały na integralność struktury sferoidów oraz zmiany w cytoszkielecie F-aktynowym. Największe zmiany w budowie cytoszkieletu, zarówno dla komórek prawidłowych jak i nowotworowych, obserwowano po inkubacji z moksifloksacyną.

Podsumowując, wszystkie 4 fluorochinolony obniżały żywotność badanych komórek. Biorąc pod uwagę bezpośrednią skuteczność, najbardziej obiecujące właściwości posiadają norfloksacyna oraz enrofloksacyna. Te dwa fluorochinolony wykazywały najsilniejszy efekt cytotoksyczny wobec obu badanych linii komórkowych. W przypadku norfloksacyny prawie wszystkie obliczone wartości LC są osiągalne w moczu. Zastosowanie wyższych stężeń leku, lub wydłużone jego działanie może przyczynić się do otrzymania efektywnych, wobec komórek nowotworowych, stężeń w moczu. Analizując cytotoksyczny wpływ norfloksacyny obserwowano, podobnie jak w przypadku ciprofloksacyny, tworzenie się kryształów w pożywce hodowlanej. Tworzące się kryształy mogą prowadzić zmiany w nerkach, takie jak śródmiąższowe zapalenie nerek, jednakże w przypadku norfloksacyny do uszkodzenia nerek dochodzi bardzo rzadko. Enrofloksacyna posiad również obiecujące właściwości cytotoksyczne, dodatkowo lek ten jest metabolizowany do ciprofloksacyny, która wykazała silne działanie cytotoksyczne wobec komórek raka pęcherza moczowego. Jednakże ze względu na to, iż jest to lek weterynaryjny konieczne jest przeprowadzenie badań klinicznych w celu oceny farmakokinetycznej oraz stopnia konwersji do ciprofloksacyny, co pozwoli na ocenę jego potencjału do zastosowania w leczeniu raka pęcherza moczowego. Wykorzystanie ofloksacyny oraz moksifloksacyny jest ograniczone ze względu na niskie stężenia jakie te leki są w stanie osiągnąć w moczu oraz ze względu na efekt cytotoksyczny względem komórek prawidłowych, który wykazano w badaniu z wykorzystaniem hodowli 3D, a co nie

było widoczne w przypadku norfloksacyny i enrofloksycyny. Zaletą ofloksacyny i moksifloksacyny jest brak tworzenia kryształów w pożywce hodowlanej.

Praca nr 4

W pracy 4, oceniono skuteczność Mumio wobec dwóch linii komórkowych raka pęcherza moczowego (T24 i 5637) oraz linii prawidłowego nabłonka urotelialnego (SV-HUC-1). Mumio badano w zakresie stężeń 200 – 1000 $\mu\text{g/ml}$, komórki inkubowano przez 24, 48 i 72 godziny. Mumio obniżało żywotność komórek w sposób zależny od dawki leku oraz czasu inkubacji. Najbardziej skuteczny efekt obserwowano wobec komórek linii T24, w przypadku pozostałych dwóch linii komórkowych efekt był porównywalny. Na podstawie uzyskanych danych obliczono stężenia obniżające żywotność o 10, 50 i 90% (LC10, LC50, LC90), które wykorzystywano w kolejnych analizach. Obliczone wartości LC były niższe dla komórek nowotworowych linii T24 po wszystkich czas inkubacji oraz linii 5637 po 72 godzinach inkubacji. Obliczono również wskaźnik selektywności (ang. selectivity index – SI) na podstawie porównania stężeń LC50 komórek prawidłowych do stężenia LC50 komórek nowotworowych. O selektywnym działaniu świadczy wartość powyżej 2, którą uzyskano dla linii T24, dla linii 5637 uzyskano wartości poniżej 2. Stężenie LC10 nie wpływało na organizację cytoszkieletu aktynowego w badanych komórkach jedynie w przypadku linii 5637 zauważono znacząco mniejszą liczbę długich włókien stresowych. W stężeniu LC50 obserwowano degradację stresowych włókien aktynowych oraz akumulację okrągłych skupisk aktyny. W stężeniu LC90 całkowitą degradację włókien stresowych, największe zmiany morfologiczne, poprzez utratę charakterystycznego kształtu, obserwowano w linii 5637. Mumio nie wpływało na dystrybucję komórek prawidłowego nabłonka urotelialnego w poszczególnych fazach cyklu komórkowego. W przypadku komórek nowotworowych obserwowano wzrost liczby komórek w fazie G0/G1 (linia T24) lub S (linia 5637), co może wskazywać na zatrzymanie cyklu komórkowego w tych fazach. Analiza procesu śmierci komórkowej za pomocą cytometrii przepływowej wykazała wzrost liczby komórek dodatnich pod względem aneksyny V (AnV+) i jodku propidyny (PI+) we wszystkich badanych liniach w stężeniu LC90 oraz w stężeniu LC50 w przypadku linii T24. Obserwacje te wskazują prawdopodobnie na zaawansowany proces apoptozy.

Podsumowując, Mumio wykazało silniejszy efekt cytotoksyczny względem komórek raka pęcherza moczowego linii T24. Obliczony wskaźnik SI wskazał na selektywne działania Mumio wobec tej linii komórkowej. W przypadku linii 5637 wskaźnik SI wyniósł poniżej 2, co świadczy o ogólnej toksyczności wobec tych komórek, jednakże wraz ze wzrostem czasu

inkubacji z Mumio obserwowano wzrost wskaźnika SI oraz większą skuteczność wobec komórek nowotworowych (niższe wartości LC w porównaniu do komórek prawidłowych). Uzyskano obiecujące wyniki, które tworzą podstawę do dalszego badania Mumio jako potencjalnej substancji w leczeniu raka pęcherza moczowego.

4.3.3. PODSUMOWANIE

Przedstawione osiągnięcie naukowe dotyczy eksperymentalnych badań wspomagających leczenie nowotworów układu moczowo-płciowego i składa się z 4 wybranych publikacji naukowych o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 20.605 i 480.000 pkt. wg KBN/MEiN. Na tle aktualnego stanu wiedzy podjęte przeze mnie badania są innowacyjne, oryginalne i ważne dla opracowania nowych metod leczenia nowotworów układu moczowo-płciowego.

Za elementy nowości naukowej i najważniejsze osiągnięcia o charakterze praktycznym zawarte w monotematycznym cyklu prac pt. **„Eksperymentalne badania mające na celu wspomaganie leczenia nowotworów układu moczowego i płciowego”** należy uznać:

1. Po raz pierwszy przeanalizowano aktywność lewofloksacyny wobec komórek raka prostaty, jednocześnie porównano bezpośrednio wpływ ciprofloksacyny oraz lewofloksacyny na komórki raka pęcherza moczowego i raka prostaty *in vitro* (praca 2).
2. Po raz pierwszy przeanalizowano aktywność enrofloksacyny oraz moksifloksacyny wobec komórek raka pęcherza moczowego, jednocześnie porównano bezpośrednio wpływ norfloksacyny, ofloksacyny, moksifloksacyny oraz enrofloksacyny na komórki prawidłowe oraz nowotworowe nabłonka urotelialnego *in vitro* (praca 3).
3. Po raz pierwszy wykonano analizy wpływu ciprofloksacyny, lewofloksacyny, norfloksacyny, ofloksacyny, moksifloksacyny oraz enrofloksacyny na komórki raka pęcherza moczowego w hodowli 3D (praca 2 i 3).
4. Po raz pierwszy przeanalizowano właściwości Mumio na komórkach raka pęcherza moczowego (praca 4).

4.4. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO- BADAWCZYCH

Poza omówionym powyżej cyklem 4 publikacji wybranych jako podstawa do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w skład mojego dotychczasowego dorobku naukowego wchodzi 64 innych publikacji naukowych w tym 42 prac oryginalnych, 18 prac

poglądowych, 3 rozdziały w podręcznikach oraz jeden komentarz o łącznej wartości 141.623 IF oraz 2 391.000 pkt. wg KBN/MEiN, w tym 12 publikacji o łącznej wartości 20.981 IF i 319.000 pkt. wg KBN/MEiN jako pierwszy autor.

4.4.1. OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych byłem współautorem 24 publikacji naukowych o łącznej wartości 33.128 IF i 412.000 pkt. wg KBN/MEiN i 48 doniesień zjazdowych.

Pracę naukową rozpocząłem w roku 2007 jako praktykant w Zakładzie Inżynierii Tkankowej pod kierunkiem dr Tomasza Drewy. Moje pierwsze badania dotyczyły wpływu ciprofloksacyny na wzrost komórek raka pęcherza moczowego linii A549. Zagadnienie to było również przedmiotem mojej pracy magisterskiej, a ich efektem były dwie publikacje naukowe, w których przedstawiono potencjał ciprofloksacyny w leczeniu nowotworów (Pulm Pharmacol Ther 2010;23:373-5; Acta Pol Pharm 2011;68:859-65; Int J Oncol 2012;41:1943-9).

Kolejnym etapem mojej pracy było rozpoczęcie badań nad zastosowaniem technik inżynierii tkankowej w urologii. Prace te obejmowały zagadnienia związane z doбором optymalnego typu komórek i rodzaju biomateriału indukujących regenerację tkanek układu moczowego (Central Eur J Urol, 2011; 64: 87-9; Transplant Proc 2012;44:1439-41; Hum Cell 2014; 27:85-93; Expert Opin Biol Ther 2014; 14:831-9). Badania nad próbą rekonstrukcji moczowodów z wykorzystaniem technik inżynierii tkankowej stały się przedmiotem mojej rozprawy doktorskiej.

Pracę doktorską pt.: „Próba regeneracji moczowodów z wykorzystaniem technik inżynierii tkankowej”, wykonaną pod kierunkiem prof. Tomasza Drewy obroniłem dnia 18 czerwca 2014 r. Uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, dnia 25 czerwca 2014 r. uzyskałem stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Z wyników badań przedstawionych w pracy doktorskiej powstała publikacja naukowa wydana w czasopiśmie PLOS One (PLOS One 2014;9:e106023). Wyniki pracy doktorskiej zostały ogłoszone na 3 kongresach naukowych Europejskiego Towarzystwa Urologicznego oraz dwóch kongresach z zakresu medycyny regeneracyjnej (World Conference on Regenerative Medicine).

W trakcie studiów doktoranckich zostałem zatrudniony na stanowisku technika (lata 2013-2014), w Zakładzie Inżynierii Tkankowej, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. W okresie tym prowadziłem również badania nad analizą innych niż ciprofloksacyna związków, które mogłyby być potencjalnie wykorzystane w terapiach przeciwnowotworowych (Inorganica Chim Acta, 2012;387:455-9; Acta Pol Pharm; 2013;70:153-161).

W latach 2011-2013 brałem udział w realizacji projektu naukowego prof. Artura Terzyka pt. „Nowe nośniki leków w celowanej terapii przeciwnowotworowej” finansowanego z Narodowego Centrum Nauki (nr 2011/01/B/ST5/01192). Badania te miały na celu ocenę dwóch różnych metod przygotowania systemów cisplatyny z nanorurkami węglowymi. Uzyskane wyniki wykazały, że lepszą metodą uzyskania układu dostarczania leków w niskich stężeniach jest wykorzystanie adsorpcji cisplatyny z roztworu wodnego w porównaniu do dimetyloformamidu (DMF) (CARBON 2014;70:46-58). Celem prowadzonych badań była również ocena przydatności nanorurek węglowych z pro-lekiem na bazie platyny sfunkcjonalizowanych przeciwciałem anti-CD133 w leczeniu chorób nowotworowych (Oncotarget 2015; 6:22776-98). W okresie tym byłem również kierownikiem dwóch grantów Wydziału Lekarskiego CM UMK służących rozwojowi młodych naukowców pt. „Próba regeneracji układu moczowego z zastosowaniem biodegradowalnej matrycy na bazie polikaprolaktanu” (MN-5/WL-SD) oraz „Konstrukcja sztucznej wstawki do odprowadzenia moczu na modelu szczurzym” (MN-4/WL-SD).

4.4.2. OSIĄGNIĘCIA W PRACY BADAWCZEJ PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

Po nadaniu stopnia naukowego doktora nauk medycznych poza publikacjami stanowiącymi podstawę osiągnięcia habilitacyjnego byłem współautorem 39 publikacji naukowych o łącznej wartości 108.495 IF i 1979.000 pkt. wg KBN/MEiN i 53 doniesień zjazdowych.

W styczniu 2015 roku zostałem zatrudniony na stanowisku asystenta w Zakładzie Inżynierii Tkankowej, a od października 2015 roku na stanowisku adiunkta w Zakładzie Medycyny Regeneracyjnej, CM UMK w Bydgoszczy. W 2016 roku odbyłem staże podoktorskie w Center for Translational Bone, Joint and Soft Tissue Research i Center for Regenerative Therapies (Uniwersytet Techniczny w Dreźnie, Niemcy) oraz w Pracowni Biologii Molekularnej Błony Komórkowej, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Państwowej Akademii Nauk (Warszawa, Polska).

Po otrzymaniu stopnia doktora nauk medycznych moje główne zainteresowania i tematyka badawcza skupiły się na trzech głównych obszarach badawczych: Ocena cytotoksycznego wpływu leków oraz nowych związków chemicznych na proliferację, cykl komórkowy oraz apoptozę komórek prawidłowych i nowotworowych (I), zastosowanie technik inżynierii tkankowej w urologii (II) oraz zastosowanie technik inżynierii tkankowej w regeneracji narządów i tkanek (III). Efektem tych prac jest stanowiący podstawę osiągnięcia habilitacyjnego cykl prac oraz wyniki opisanych poniżej projektów badawczych. Za osiągnięcia w pracy naukowej zostałem laureatem X edycji Stypendium dla Wybitnych Młodych Naukowców realizowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (okres finansowanie 36 miesięcy, lata 2015-2018).

Obszar badań I: Ocena cytotoksycznego wpływu leków oraz nowych związków chemicznych na proliferację, cykl komórkowy oraz apoptozę komórek prawidłowych i nowotworowych.

Pierwszy kierunek badań dotyczy analizy cytotoksyczności leków, substancji naturalnych oraz nowych związków chemicznych. Prowadzone analizy mają na celu określenie, czy badane związki posiadają potencjał do wykorzystania w terapiach przeciwnowotworowych. Poza 4 publikacjami włączonymi do osiągnięcia naukowego powstała praca, w której badano wpływ medium kondycjonowanego z mezenchymalnych komórek zrębowych na wrażliwość komórek raka pęcherza moczowego na ciprofloksacynę (J Cell Biochem 2017; 118:1361-8). Brałem również udział w innych badaniach, które miały na celu opracowanie nowych opcji terapeutycznych w leczeniu nowotworów: ocena nano-nośników jako nowa strategia w chemioterapii dootrzewnowej w hipertermii (Oncotarget 2015; 6:22776-98; Oncotarget 2017; 8:78208-24); ocena struktur metaloorganicznych opartych na porfirynie jako nośniki sorafenibu w leczeniu nowotworu wątroby (Int J Mol Sci 2021;22(20):11161). Badania te były prowadzone we współpracy z Wydziałem Chemii UMK w Toruniu. Brałem również udział w badaniach mających na celu poszukiwanie nowych markerów w leczeniu czerniaka (Stem Cells Int 2020;8810476).

Obszar badań II: Zastosowanie technik inżynierii tkankowej w urologii.

Drugim kierunkiem prowadzonych przeze mnie badań są zagadnienia związane regeneracją elementów układu moczowego z wykorzystaniem technik inżynierii tkankowej. Przeprowadzone do tej pory badania dotyczyły próby regeneracji moczowodów, konstrukcji sztucznej wstawki do odprowadzenia moczu po cystektomii radykalnej oraz regeneracji ściany pęcherza moczowego. Prowadziłem również badania mające na celu poszukiwanie odpowiedniego biomateriału oraz komórek do regeneracji elementów układu moczowego.

Efektorem tych prac są liczne publikacje naukowe (PLOS One 2014;9:e106023; Cent European J Urol; 2015; 68:109-14; Med Hypotheses 2015; 84:344-9; PLoS One. 2016;11:e0146012; Biol Proced Online 2016; 18:17; Med Sci Monit 2017; 23:1540:51; Stem Cells Transl Med 2017; 6:2033-43; Cell Transplant 2017, 26:1780-91; 119:2307-19; Expert Rev Med Devices 2019; 16:135-144; Cell Biol Int. 2019; 43:456-465; Sci Rep. 2020;10:5824; Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021;119:111579; Sci Rep 2021;11:3775; Stem Cells Dev 2021;30:1037-1048; J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2022; 110(2):438-49). Wyniki pracy dotyczącej wrażliwości komórek urotelialnych, komórek mięśni gładkich i mezenchymalnych komórek zrębowych na mocz (J Cell Biochem. 2018) zostały nagrodzone na konferencji Europejskiego Towarzystwa Urologicznego w Wilnie (2017).

W latach 2014-2020 Uczestniczyłem w projekcie badawczym, pn. "Nowoczesne protezy odprowadzające mocz dla pacjentów z rakiem pęcherza moczowego poddanych bezkontaktowym minimalnie inwazyjnym operacjom onkologicznym wycięcia pęcherza moczowego" finansowanym ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach konkursu STRATEGMED I (dofinansowanie 33 000 000 PLN). Projekt realizowany był przez konsorcjum naukowe SmartAUCI (Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Wytwórnia Sprzętu Medycznego GALMED z Bydgoszczy, Klinika weterynaryjna VET-LAB Brudzew, Instytut Biopolimerów i Włókien Chemicznych z Łodzi, Specjalistyczny Szpital Miejski im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, Instytut Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie). W projekcie tym odpowiadałem za hodowlę mezenchymalnych komórek zrębowych tkanki tłuszczowej (ang. Adipose-derived Mesenchymal Stromal Cells – ADMSCs) na wytworzonej sztucznej wstawce do odprowadzenia moczu. Hodowlę prowadzono w bioreaktorze, w naczyniu hodowlanym zaprojektowanym bezpośrednio pod produkt. Brałem udział w projektowaniu naczynia hodowlanego, oraz uczestniczyłem w szkoleniu z obsługi bioreaktora w siedzibie producenta (Zellwerk, Oberkraemer, Niemcy). Wykonano analizę żywotności komórek na wstawce, oraz analizy za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej, skaningowej mikroskopii konfokalnej oraz cytometrii przepływowej. Komórki rosnące na wstawce charakteryzowały się wysoką żywotnością, posiadały odpowiedni fenotyp oraz morfologię fibroblasto-podobną. Wyniki tej części badania przedstawiono na międzynarodowej konferencji dotyczącej inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej. Brałem również udział w hodowli komórek ADMSCs w pomieszczeniach clean-room izolowanych z tkanki tłuszczowej pobranej od pacjentów onkologicznych. Badania te miały na celu przygotowanie sztucznej wstawki do odprowadzenia moczu do

badania klinicznego. Dotychczasowe publikacje, będące efektem pracy w projekcie dotyczą optymalizacji hodowli komórek urotelialnych świni (Cell Biol Int 2016; 40:812-20), porównania kosztów cystektomii radykalnej wykonywanej metodą laparoskopową do metody robotycznej (Health Policy Technol 2018; 7:420-426), molekularnych aspektów starzenia się komórek ADMSCs w hodowli *in vitro* (Cell Transplant. 2020;29:963689720917341), oraz wszczepienia bezkomórkowej sztucznej wstawki do odprowadzenia moczu z wykorzystaniem dużego modelu zwierzęcego (Sci Rep 2021;11:16754).

Drugim projektem w którym uczestniczyłem był UROGRAFT- biokonfigurowalny kompozytowy wszczep indukujący regenerację ściany pęcherza moczowego finansowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach konkursu LIDER IX (dofinansowanie 1 200 000 PLN). Celem projektu było wytworzenie, ocena właściwości i walidacja produkcji wszczepu UROGRAFT do regeneracji pęcherza moczowego. W projekcie tym odpowiadałem za hodowlę mezenchymalnych komórek zrębowych tkanki tłuszczowej (ADMSCs) na wytworzonej matrycy do rekonstrukcji ściany pęcherza moczowego. Hodowlę prowadzono w bioreaktorze, w naczyniu hodowlanym zaprojektowanym bezpośrednio pod produkt. Brałem również udział w badaniach prowadzonych na modelu zwierzęcym (świnia). Projekt został zakończony, jesteśmy w trakcie opracowywania wyników. Dotychczasowe wyniki zostały zaprezentowane na międzynarodowych konferencjach dotyczących inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej (TERMIS). Wynalazek został zgłoszony w polskim oraz europejskim urzędzie patentowym i otrzymał nagrody: złota nagroda na międzynarodowych targach E-NNOVATE 2023, platynowa nagroda na międzynarodowych targach INTARG 2023.

Od 2020 roku należę do Uniwersyteckiego Centrum Doskonałości „W kierunku medycyny spersonalizowanej”, utworzonego w ramach programu Uczelnia Badawcza – Inicjatywa Doskonałości (IDUB) finansowanego z budżetu państwa polskiego. W skład centrum wchodzi pięć grup badawczych wyłonionych w ramach wewnętrznego konkursu przeprowadzonego na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika. Należę do zespołu Regenerative Medicine Team (REGEN), którego działanie skupia się na dwóch głównych obszarach działania. Pierwszym obszarem jest program urologiczny skupiający się na próbach regeneracji elementów układu moczowego, ze szczególnym uwzględnieniem ściany pęcherza moczowego. W ramach tego obszaru zostało podpisane porozumienie o współpracy z Katedrą Urologii Radboud University Medical Center, Nijmegen, Holandia. Drugi obszar działania został opisany poniżej (Obszar badawczy III).

Obszar badawczy III: Zastosowanie technik inżynierii tkankowej w regeneracji narządów i tkanek.

Kolejnym kierunkiem moich badań są prace dotyczące wykorzystania technik inżynierii tkankowej w innych dziedzinach medycyny. Brałem udział w badaniach dotyczących zastosowania produktów inżynierii tkankowej w dermatologii estetycznej i chirurgii plastycznej. Przeprowadzone do tej pory badania dotyczyły możliwości zastosowania nowych biomateriałów w rekonstrukcji powłok brzusznych (Biomed Res Int. 2015;2015:890613), użycia komórek macierzystych do stymulacji procesu gojenia się ran (Biomed Res Int. 2016;2016:2505601), zastosowania nowej metody z wykorzystaniem płatów do rekonstrukcji dużych ubytków czoła (Surg Case Rep 2020;3:2-4) oraz oceny wpływu lasera na wzrost ludzkich mezenchymalnych komórek tkanki tłuszczowej (Postępy Dermatol Alergol 2020;37:771-80). W dziedzinie ortopedii prowadziłem badania dotyczące analizy stopów tytanowych pokrytych nano-srebrem, które mogłyby być wykorzystane jako implanty kości (J Biomater Tissue Eng 2016;6:463-72), oraz w ramach współpracy z Wydziałem Chemii UMK w Toruniu, badania dotyczące nowych kompozytów kolagenu, chitozanu i kwasu hialuronowego ze wskazaniem do zastosowania w regeneracji chrząstki (Int J Biol Macromol 2016;89:442-448;). Publikacja z dziedziny transplantologii dotyczyła wpływu mezenchymalnych komórek zrębowych szpiku kostnego na niedokrwienie wątroby wywołane reperfuzją (Ann Transplant 2015; 20:132-40).

Drugim obszarem badawczym zespołu Regenerative Medicine Team (REGEN) Uniwersyteckiego Centrum Doskonałości „W kierunku medycyny spersonalizowanej” jest program transplantacji wysp trzustkowych, którego celem jest uruchomienie procedur przeszczepiania wysp trzustkowych w celu leczenia cukrzycy typu I. W ramach tego obszaru zostało podpisane porozumienie o współpracy z Diabetes Research Institute and Cell Transplant Programm, Uniwersytetu Miami, USA. Od 2016 Zakład Medycyny Regeneracyjnej CM UMK jest Członkiem międzynarodowej Federacji Instytutu Badań nad Cukrzycą Szkoły Medycyny im. Leonarda M. Millera Uniwersytetu Miami (Diabetes Research Institute Federation- DRI Miami). Federacja DRI skupia aktualnie 12 ośrodków z całego świata, w tym Zakład Medycyny Regeneracyjnej (DRI POLAND).

4.4.3. PLANY BADAWCZE NA PRZYSZŁOŚĆ

Nasz Zespół naukowy po raz pierwszy wykonał badania wpływu fluorochinolonów na komórki nowotworowe w hodowli 3D. Moje przyszłe plany badawcze dotyczą wykonania po raz pierwszy analizy wpływu fluorochinolonów na komórkach raka pęcherza moczowego na

modelu zwierzęcym. Jednocześnie planuję kontynuowanie badań w kierunku wykorzystania produktów pochodzenia naturalnego w terapiach przeciwnowotworowych. Efektem tych prac jest praca włączona do osiągnięcia naukowego dotycząca Mumio, badania te są kontynuowane z wykorzystaniem modelu komórkowego 3D. Aktualnie prowadzone są również analizy dotyczące produktów pszczelich takich jak miód, pyłek pszczele, propolis czy jad pszczele, jako potencjalnych związków w leczeniu nowotworów. Oprócz studiów na kierunku biotechnologia ukończyłem również studia podyplomowe z analityki medycznej oraz studia podyplomowe dla Osoby Wykwalifikowanej, dlatego zamierzam zaangażować się w program badań klinicznych realizowanych w Katedrze Urologii i Andrologii CM UMK. Katedra posiada laboratoria czyste typu Clean Room do izolacji i hodowli komórek ludzkich do celów transplantacji. W laboratoriach tych przygotowywane będą produkty lecznicze terapii zaawansowanej (ang. Advance Therapy Medicinal – Products ATMP) do zastosowań klinicznych. W 2022 roku otrzymaliśmy dofinansowanie ze środków Agencji Badań Medycznych w ramach konkursu na niekomercyjne badanie kliniczne w obszarze chorób cywilizacyjnych na projekt “Ocena skuteczności i bezpieczeństwa somatycznej terapii komórkowej w leczeniu nietrzymania moczu u pacjentów poddanych prostatektomii radykalnej” (akronim SUICell). Mój udział w badaniu będzie polegał na kontroli jakości produkcji leku komórkowego, otrzymanego z komórek ADMSCs. Prace rozpoczną się w grudniu 2023.

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

5.1. Zagraniczne staże naukowe

- Staż w Pracowni Biologii Molekularnej Błony Komórkowej, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Państwowej Akademii Nauk – 15-28.04.2015.
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Państwowej Akademii Nauk jest jednym z wiodących jednostek naukowych w kraju. Posiada kategorię A+, przyznawaną w Polsce instytucjom o najwyższym potencjale naukowym. Główny nurt badań skupia się na nowych terapiach oraz metodach diagnostycznych w zakresie chorób neurodegeneracyjnych, zaburzeń metabolicznych, nowotworów i innych schorzeń, które dotyczą współczesnych ludzi. Badania prowadzone w Pracowni Biologii Molekularnej Błony Komórkowej skupiają się na molekularnych mechanizmach aktywacji receptorów zlokalizowanych w błonie komórkowej

komórek układu odpornościowego. W ramach stażu zapoznałem się z metodami z zakresu biologii molekularnej i biochemii, takimi jak transfekcja komórek eukariotycznych linii HEK293, frakcjonowanie komórek, immunoblotting, oznaczanie poziomu cytokin za pomocą testu ELISA oraz oznaczanie ekspresji białek metodą Western-blot. Metody biologii molekularnej zostały wykorzystane w pracach numer 2 i 3 osiągnięcia naukowego.

- Staż naukowy na Uniwersytecie Technicznym w Dreźnie, Niemcy 15-26.08.2016. Staż był podzielony na dwa etapy.

I etap: Center for Translational Bone, Joint and Soft Tissue Research, 15-19.08.2016. Centrum zostało założone pod koniec 2010 roku jako centralna jednostka naukowa Szpitala Uniwersyteckiego w Dreźnie i Wydziału Lekarskiego Carla Gustava Carusa Politechniki Drezdeńskiej (Technische Universität Dresden). Jego misją jest ujednolicenie i wzmocnienie badań eksperymentalnych trzech oddziałów: Ortopedii, Chirurgii Urazowej i Rekonstrukcyjnej (zintegrowanej z Uniwersyteckim Centrum Ortopedii i Chirurgii Urazowej) oraz Chirurgii Jamy Ustnej i Szczękowo-Twarzowej. Mój udział w stażu polegał na zapoznaniu się z pracą nad drukiem 3D oraz biodrukiem, produkcją oraz charakterystyką biomateriałów, izolacją oraz hodowlą pierwotnych komórek ludzkich (w tym mezenchymalnych komórek zrębowych) oraz prowadzenia eksperymentów na małym modelu zwierzęcym. Udział w stażu przyczynił się do wdrożenia metody hodowli komórek 3D. Metody te zostały wykorzystane w pracach numer 2 i 3 osiągnięcia naukowego.

II etap: Center for Regenerative Therapies TU Dresden, 22-26.08.2016. Badania w Centrum Terapii Regeneracyjnych (CRTD) na Uniwersytecie Technicznym w Dreźnie skupiają się na odkrywaniu zasad regeneracji komórek i tkanek oraz wykorzystywaniu ich do rozpoznawania i leczenia chorób. CRTD jest dobrze przygotowany do tego wyzwania dzięki różnorodności posiadanych organizmów modelowych, narządów i systemów chorobowych oraz zakresowi podejść metodologicznych, od badań podstawowych po projekty walidacyjne i badania kliniczne. CRTD łączy badania podstawowe z kliniką, a naukowców z klinicystami, aby wnieść wiedzę specjalistyczną w zakresie komórek macierzystych, edycji genów i regeneracji w kierunku innowacyjnych terapii chorób metabolicznych, osteo-hematologicznych i neurologicznych. Mój staż miał miejsce w jednostce GMP, która posiadała w pełni wyposażone laboratoria czyste do pracy aseptycznej. Laboratoria zostały zaprojektowane do izolacji, hodowli i namnażania ludzkich

komórek a także do produkcji biomateriałów i rusztowań. Mój udział w stażu polegał na obserwacji pracy w jednostce GMP oraz udział w aktywnościach związanych z korzystaniem z pomieszczeń czystych. Zostałem przeszkolony w zakresie ubierania się do poszczególnych klas czystości, brałem również udział w procesie czyszczenia, dezynfekcji oraz kontroli mikrobiologicznej pomieszczeń czystych. Uczestniczyłem również w produkcji osocza bogato-płytkowego oraz produkowanych na zamówienie kropli do oczu. Staż w jednostce GMP był bardzo pomocny w organizacji oraz rejestracji jednostki GMP w Bydgoszczy. Aktualnie jesteśmy na etapie odpowiedzi na zalecenia pokontrolne Głównego Inspektoratu Farmaceutycznego.

5.2. Współpraca naukowa z polskimi uczelniami:

- 2012 – obecnie. Współpraca z Instytutem Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk (IPPT PAN) w Warszawie. W ramach współpracy prowadzone były badania nad wykorzystaniem materiałów syntetycznych do konstrukcji moczowodów oraz sztucznej wstawki odprowadzającej mocz. Wytworzona przez IPPT PAN metodą elektroprzędzenia, tabularna matryca z polikaprolaktonu, została wykorzystana w badaniach prowadzonych w ramach mojego doktoratu. IPPT PAN był również zaangażowany w realizację projektu „Nowoczesne protezy odprowadzające mocz dla pacjentów z rakiem pęcherza moczowego poddanych bezkontaktowym minimalnie inwazyjnym operacjom onkologicznym wycięcia pęcherza moczowego” finansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu STRATEGMED, którego byłem wykonawcą. Efektem współpracy są wspólne publikacje (Polim Med 2012;42:35-43; Int J Artif Organs 2013; 36:392-405; PLOS One 2014;9:e106023; PLoS One. 2016;11:e0146012; Med Sci Monit 2017; 23:1540:51.) oraz międzynarodowe i krajowe doniesienia zjazdowe (10).

- 2017 – obecnie. Współpraca z Politechniką Bydgoską im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy. W ramach współpracy prowadzone są badania nad procesem decelularyzacji narządów i tkanek. Rezultatem współpracy jest artykuł dotyczący decelularyzacji płaszcza kalmara (Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021;119:111579), oraz przyznany patent (P.435503). W ramach współpracy prowadzono dwa granty studenckie: „Decelularyzacja płaszcza kalmara jako rusztowanie do celów medycyny regeneracyjnej”, którego byłem opiekunem oraz „Opracowanie metody oceny stopni decelularyzacji narządów i tkanek”. Politechnika Bydgoska była również zaangażowana w realizację projektu „URGOGRAFT biokonfigurowalny kompozytowy wszczep

indukujący regenerację ściany pęcherza moczowego” finansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu LIDER IX, którego byłem wykonawcą. Efektem tych prac są zgłoszenia w polskim oraz europejskim urzędzie patentowym.

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

6.1. Promotor 16 prac dyplomowych oraz promotor pomocniczy 1 pracy doktorskiej:

Autor: Krzysztof Cisewski, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Zastosowanie technik inżynierii tkankowej w regeneracji moczowodów

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 28.06.2016

Autor: Kamil Szeliski, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Przeciwnowotworowe właściwości ciprofloksacyny w raku pęcherza moczowego

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 28.06.2016

Autor: Paulina Marczak, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Regeneracja cewki moczowej z wykorzystaniem technik inżynierii tkankowej

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 21.07.2017

Autor: Zuzanna Fekner, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: ocena wpływu lewofloksacyny na wzrost komórek prawidłowych i nowotworowych prostaty, badanie *in vitro*

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 12.07.2018

Autor: Kamil Szeliski, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Ocena wpływu ciprofloksacyny na komórki nowotworowe układu moczowo-płciowego

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 12.07.2018

Autor: Sylwia Frąckowiak, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Chinolony i ich pochodne jako potencjalne związki w leczeniu nowotworów układu moczowo-płciowego

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 22.08.2018

Autor: Krzysztof Cisewski, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: opracowanie metod zakładania hodowli pierwotnej komórek raka pęcherza moczowego

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 27.09.2018

Autor: Michelle Paradowska, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Ocen wpływu fluorochinolonów na komórki nowotworowe pęcherza moczowego, badanie *in vitro*

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 09.08.2019

Autor: Zuzanna Fekner, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Ocen wpływu enrofloksacyny oraz norfloksacyny na komórki raka pęcherza moczowego, badanie *in vitro*

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 23.07.2020

Ocen wpływu fluorochinolonów na komórki nowotworowe pęcherza moczowego, badanie *in vitro*

Autor: Hanna Piszczek, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Błona owodniowa, jako materiał w regeneracji elementów układu moczowego.

Badanie *in vitro*

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 23.07.2020

Autor: Sylwia Frąckowiak, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Ocen wpływu wybranych leków stosowanych w chemioterapii dootrzewnowej na komórki raka jelita grubego, badanie *in vitro*

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 18.01.2021

Autor: Aleksander Ratajek, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Application of 3D cell cultures in drug cytotoxicity analyses

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 22.07.2021

Autor: Aleksandra Wolska, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Wpływ ciprofloksacyny na wzrost komórek raka pęcherza moczowego w hodowli 3D

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 15.12.2021

Autor: Karolina Kapela, kierunek inżynieria biomedyczna, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Projekt systemu do decelularyzacji narządów i tkanek

Praca: licencjat inżynierski

Data egzaminu dyplomowego: 31.01.2022

Autor: Hanna Piszczek, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: decelularyzowany płaszcz kalmara pospolitego (*Loligo vulgaris*) jako rusztowanie do celów medycyny regeneracyjnej. Badanie *in vitro*

Praca: magisterska

Data egzaminu dyplomowego: 26.07.2022

Autor: Marcelina Sztramkowska, kierunek biotechnologia, Wydział Lekarski, CM UMK

Temat: Ocena przeciwnowotworowego potencjału produktów pochodzenia pszczelego

Praca: licencjacka

Data egzaminu dyplomowego: 27.07.2023

Autor: Maciej Gniadek, dyscyplina inżynieria mechaniczna, dziedzina Nauk Inżynieryjno-Technicznych, Wydział Mechatroniki, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy

Temat: Charakterystyka biomechaniczna decelularyzowanej matrycy pozyskanej z płaszcz kalmara zwyczajnego w kontekście wykorzystania jako biomateriału w medycynie regeneracyjnej ze szczególnym uwzględnieniem rekonstrukcji ubytków w drogach moczowych, w opozycji do powszechnie stosowanych biomateriałów pochodzenia naturalnego.

Praca: doktorska

Data egzaminu dyplomowego: w trakcie

6.2. Recenzent 17 prac dyplomowych (8 licencjackich oraz 9 magisterskich).

6.3. Opiekun grantów studenckich realizowanych w ramach Studenckiego Towarzystwa naukowego Collegium Medicum w Bydgoszczy:

Wykonawca: Hanna Piszczek

Tytuł projektu: Decelularyzacja płaszcz kalmara jako rusztowanie do celów medycyny regeneracyjnej.

Realizacja: 2021-2022

Wykonawca: Karolina Ławkowska, Aleksander Ratajek

Tytuł projektu: Wpływ ciprofloksacyny na wzrost komórek linii HTB9 (ATCC 5636) w hodowli 2D i 3D

Realizacja: 2021-2022

Wykonawca: Karolina Ławkowska

Tytuł projektu: Próba odtworzenia ściany pęcherza moczowego oraz trójwymiarowego guza pęcherza moczowego

Realizacja: 2022-2023

Wykonawca: Aleksander Ratajek

Tytuł projektu: Ocena wpływu ciprofloksacyny na mechanizm apoptozy i nekrozy komórek HTB9 (ATCC 5637) w hodowli 3D

Realizacja: 2022-2023

6.4. Prowadzenie zajęć dydaktycznych

Od 2009 roku prowadzenie zajęć z zakresu biologii medycznej, genetyki, inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej w Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika:

Wykłady:

- Kierunek kosmetologia: Biologia i genetyka; Biologia skóry, inżynieria tkankowa
- Kierunek ratownictwo medyczne: Biologia medyczna
- Kierunek fizjoterapia: Biologia medyczna
- Kierunek dietetyka: Biologia z genetyką; Biologia
- Kierunek biotechnologia: Medycyna regeneracyjna w praktyce klinicznej
- Kierunek fizjoterapia: Biologia medyczna

Ćwiczenia:

- Kierunek biotechnologia: Kultury komórkowe i tkankowe zwierząt
- Kierunek kosmetologia: Biologia i genetyka; Biologia skóry, inżynieria tkankowa
- Kierunek ratownictwo medyczne: Biologia medyczna
- Kierunek fizjoterapia: Biologia medyczna
- Kierunek dietetyka: Biologia z genetyką; Biologia
- Kierunek lekarski: Medycyna Regeneracyjna

2021 – 2023 – prowadzenie zajęć z zakresu inżynierii tkankowej i medycyny regeneracyjnej dla kierunku inżynierii biomedycznej w Politechnice Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich.

6.5. Popularyzacja nauki poprzez udział w festiwalach nauki oraz szkoleniach:

- Udział w Europejskiej Nocy Naukowców z pokazem „Inżynieria tkankowa w medycynie XXI wieku”, 28 wrzesień 2012r.
- Organizacja i prowadzenie warsztatów podczas Bydgoskiego Festiwalu Nauki 2015 organizowanego przez bydgoskie uczelnie wyższe pt. „Od komórki do narządu, czyli cała prawda o medycynie regeneracyjnej”, 23 maj 2015r.
- Organizacja i prowadzenie warsztatów podczas Bydgoskiego Festiwalu Nauki 2016 organizowanego przez bydgoskie uczelnie wyższe pt. „Niebezpieczna pamiątka z wakacji, czyli o pasożytach zasiedlających organizm człowieka”, 19 maj 2016r.
- Organizacja i prowadzenie warsztatów podczas Bydgoskiego Festiwalu Nauki 2017 organizowanego przez bydgoskie uczelnie wyższe pt. „Produkty inżynierii tkankowej – części zamienne tkanek i narządów człowieka?”, 27 maj 2017r..
- Organizacja i prowadzenie warsztatów podczas Bydgoskiego Festiwalu Nauki 2018 organizowanego przez bydgoskie uczelnie wyższe pt. „Hodowla komórek i narządów w laboratorium – fikcja literacka czy nieodległa rzeczywistość?”, 26 maj 2018r.
- Organizacja Szkoły Inżynierii Tkankowej i Medycyny Regeneracyjnej w ramach Inicjatywy Doskonałości Uczelni Badawczej UMK; Bydgoszcz 15-16.09.2022. W ramach kursu prowadzenie warsztatu pt. „Sferoidy jako model hodowli komórek 3D. Hodowla dynamiczna komórek na rusztowaniach w bioreaktorze.”

6.6. Osiągnięcia organizacyjne:

- 2015 - Członek zespołu do opracowania regulaminu zwierzętarni Collegium Medicum UMK.
- Członek Komisji Wyborczej Uniwersytetu na kadencję 2016-2020.
- 2019 – Indywidualne wyróżnienie Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu za osiągnięcia w działalności organizacyjnej.
- 2021 - nadal - Członek zespołu doradczego ds. dobrostanu zwierząt utrzymywanych i wykorzystywanych do celów naukowych lub dydaktycznych w Collegium Medicum UMK.

6.7. Pozostałe osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjnie oraz popularyzujące naukę lub sztukę zostały wyszczególnione w „Wykazie osiągnięć naukowych”:

- Publikacje naukowe z listy JCR oraz monografie (66)
- Wykłady na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych (23)
- Członkostwo w stowarzyszeniach naukowych (2)
- Udział w finansowanych projektach naukowych (7)
- Organizacja konferencji naukowych (5)

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

Nagrody i wyróżnienia:

- 2010-2011: Stypendium projektu „Program rozwoju Collegium Medicum UMK – doktoranckie stypendia rozwojowe EFS”.
- 2010-2013: Stypendium doktoranckie.
- 2011-2013: Stypendium dla najlepszych doktorantów i stypendium jakościowe.
- 2013 - Zespołowa Nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu I stopnia za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowo-badawczej w 2012 roku.
- 2013 – Zespołowe Wyróżnienie Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu za osiągnięcia uzyskane w dziedzinie naukowo-badawczej w 2012 roku
- 2014 - Zespołowa Nagroda Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika I stopnia za osiągnięcia w działalności organizacyjnej: pracę w zespole prof. dr. hab. Tomasza Drewy, przy przygotowaniu projektu pn. "Nowoczesne protezy odprowadzające mocz dla pacjentów z rakiem pęcherza moczowego poddanych bezkontaktowym minimalnie inwazyjnym operacjom onkologicznym wycięcia pęcherza moczowego" (Smart AUCI), zakwalifikowanego do finansowania w I konkursie w ramach programu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju "Profilaktyka i leczenie chorób cywilizacyjnych" STRATEGMED.
- 2014 - Wyróżnienie Rektora Uniwersytetu Mikołaja Kopernika za osiągnięcia w pracy zawodowej (znaczny dorobek naukowy) dla pracowników niebędących nauczycielami akademickimi.
- 2015 - Laureat X edycji Stypendium dla Wybitnych Młodych Naukowców realizowanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Okres finansowanie 36 miesięcy. Warszawa 2015
- 2016 - Nagroda Marszałka Województwa Kujawsko-Pomorskiego za rok 2015 w kategorii „Nauka, badania naukowe i postęp techniczny” 22.06.2016 Toruń
- 2017 - Trzecia nagroda za najlepszy plakat podczas konferencji w Wilnie: Third Berlin Chemie Award for Best Poster Presentation na 4th Baltic Meeting in conjunction with the EAU. Wilno, Litwa, 26-27 V 2017 za prezentację Effect of urine on cell line in vitro: Implication for urinary tract regeneration

(T. Kloskowski, M. Pokrywczynska, D. Balcerczyk, M. Buhl, A. Jundzill, Nowacki M, T. Drewa).

- 2018 – nagroda Prorektora CM UMK dla najlepiej publikujących na Wydziale Lekarskim.
- 2021 – 2022 – Laureat Stypendium Prezydenta Miasta Bydgoszczy dla wybitnych młodych naukowców.

PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Publikacje	Ilość	IF	KBN/MEiN
Publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych	24	33.128	412.000
Publikacje po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych	44	129.100	2459.000
Łącznie	68	162.228	2871.000
W tym publikacje pierwszego autorstwa	16	41.586	799.000

	WoS	Scopus	Google Scholar
Całkowita liczba cytowań	821	911	1185
Indeks Hirscha	16	18	21

8. PIŚMIENNICTWO CYTOWANE WE WSTĘPIE

Agarwal, S. P., Khanna, R., Karmarkar, R., Anwer, M. K. & Khar, R. K. *Shilajit: A review. Phytother. Res.* 2007;21:401–405.

Bell, K.J., et al. *Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. Int J Cancer,* 2015. 137: 1749.

Carrasco-Gallardo, C., Guzman, L. & Maccioni, R. B. *Shilajit: A natural phytocomplex with potential procognitive activity. Int. J. Alzheimer's Dis.* 2012;2012:674142–674142.

Cornejo, A., Jimenez, J. M., Caballero, L., Melo, F. & Maccioni, R. B. *Fulvic Acid inhibits aggregation and promotes disassembly of tau fibrils associated with Alzheimer's disease. J. Alzheimers Dis.* 2011;27:143–153.

Culp, M.B., et al. *Recent Global Patterns in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates. Eur Urol,* 2020. 77: 38.

De Souza MVN. *New Fluoroquinolones: A Class of Potent Antibiotics. Mini Rev Med Chem* (2005) 5:1009–17.

Drewa T, Juszczak K. *Urologia ilustrowana. Podręcznik dla studentów i stażystów. PZWL Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa 2018.*

- Drlica K. *Mechanism of Fluoroquinolone Action*. *Curr Opin Microbiol* (1999) 2:504–8.
- Wang Y, Zhong J, Bai J, Tong R, An F, Jiao P, et al. *The application of natural products in cancer therapy by targeting apoptosis pathways*. *CDM*. 2018;19:739–749.
- Ghosal, S. et al. *Anti-ulcerogenic activity of fulvic acids and 4'-methoxy-6-carbomethoxybiphenyl isolated from shilajit*. *Phytother.Res.* 1998;2:187–191.
- Ghosal, S. et al. *The need for formulation of shilajit by its isolated active constituents*. *Phytother. Res.* 1991;5:211–216.
- Motted N, Cornford P, van den Berg RCN i wsp. *EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG guidelines on prostate cancer*. *European Association of Urology* 2023.
- Emmerson AM, Jones AM. *The Quinolones: Decades of Development and Use*. *J Antimicrob Chemother* (2003) 51 Suppl 1:13–20.
- Gontero P, Comperat T, Dominguez Escrig JL i wsp. *EAU guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and CIS)*. *European Association of Urology* 2023.
- Jourdan JP, Bureau R, Rochais C, Dallemagne P. *Drug repositioning: a brief overview*. *J Pharm Pharmacol*. 2020 Sep;72(9):1145-1151.
- Kabbani S, Hersh AL, Shapiro DJ, Fleming-Dutra KE, Pavia AT, Hicks LA. *Opportunities to Improve Fluoroquinolone Prescribing in the United States for Adult Ambulatory Care Visits*. *Clin Infect Dis* (2018) 67:134–6.
- Kloskowski T, Szeliski K, Krzeszowiak K, Fekner Z, Kazimierski Ł, Jundziłł A, Drewa T, Pokrywczyńska M. *Mumio (Shilajit) as a potential chemotherapeutic for the urinary bladder cancer treatment*. *Sci Rep* 2021;11(1):22614.
- Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD, Bailey JH, Brundage RP. *1,8-Naphthyridine Derivatives. A New Class of Chemotherapeutic Agents*. *J Med Pharm Chem* (1962) 91:1063–5.
- Mandell L, Tillotson G. *Safety of Fluoroquinolones: An Update*. *Can J InfecDis* (2002) 13:54–61.
- Pushpakom S et al. *Drug repurposing: progress, challenges and recommendations*. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18: 41–58.
- Rastegar-Mojarad M et al. *Opportunities for drug repositioning from phenome-wide association studies*. *Nat Biotechnol* 2015; 33: 342–345.
- Richters A, Aben KKH, Kiemeny LALM. *The global burden of urinary bladder cancer: an update*. *World J Urol* (2020) 38:1895–904. doi: 10.1007/s00345-019-02984-4.
- Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, Rawla P, Padala SA, Barsouk A. *Epidemiology of bladder cancer*. *Med Sci* (2020) 8:15.
- Sauter ER. *Cancer prevention and treatment using combination therapy with natural compounds*. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2020 Mar;13(3):265-285.

Schepetkin, I., Khlebnikov, A. & Kwon, B. S. Medical drugs from humus matter: Focus on mumie. Drug Dev. Res. 2002;57:140–159.

Sung H, Siegel RL, Torre LA, Pearson-Stuttard J, Islami F, Fedewa SA, et al. Global patterns in excess body weight and the associated cancer burden. CA Cancer J Clin (2019) 69:88–112.

Wang XJ, Chen JY, Fu LQ, Yan MJ. Recent advances in natural therapeutic approaches for the treatment of cancer. J Chemother. 2020 Apr;32(2):53-65.

Witjes JA, Bruins HM, Carrion A i wsp. EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer. European Association of Urology 2023.

Wojciechowska U, Barańska K, Michałek I, Olasek P, Miklewska M, Didkowska JA. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2020 roku. Krajowy rejestr Nowotworów.

Yadav, V., and Talwar, P. Repositioning of fluoroquinolones from antibiotic to anti-cancer agents: An underestimated truth. Biomed. Pharmacother. 2019;111, 934–946.

Bydgoszcz, dnia 30 sierpnia 2023 r.

Tomasz Klokowski

.....